

Г.Д. Даулет<sup>1\*</sup> , Л.К. Бактыбаева<sup>1</sup> , А.С. Соколенко<sup>1</sup> , В.К. Ю<sup>2,3</sup> ,  
А.Б. Малмакова<sup>2,3</sup> , А.Г. Зазыбин<sup>3,4</sup> , Н.Н. Беляев<sup>5</sup> 

<sup>1</sup> Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup> Институт химических наук имени А.Б. Бектурова, Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup> Казахстанско-Британский университет, Казахстан, г. Алматы

<sup>4</sup> Токийский университет, Япония, Чiba, Kashiwa, Kashivanoha, 5-1-5, 277-8561

<sup>5</sup> Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии

имени Пастера, Россия, г. Санкт-Петербург

\*e-mail: daulet.guldana@mail.ru

## БИОЛОГИЧЕСКИЙ СПЕКТР АКТИВНОСТИ АЗАГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Потребность в иммуностимуляторах и иммуномодуляторах на фармацевтическом рынке широкая. Они применяются при лечении врожденных, приобретенных иммунодефицитных состояниях, в лечении онкологических больных, в лечении больных, проживающих в экологически неблагоприятных регионах стран и т.д. И перед современной иммунофармакологией стоит глобальная задача в разработке иммуностимуляторов направленного действия. Таким образом, представленный спектр иммуностимулирующих препаратов показывает, что каждая группа иммуностимуляторов обладает определенным спектром побочных эффектов и более перспективной группой являются препараты синтетики. Поэтому, скрининг новых перспективных иммуностимуляторов синтетиков направленного действия обоснован. Для исследования гемограммы периферической крови использовали 48 взрослых лабораторных крыс-альбиносов женского пола, а также фенотипирование лимфоцитов проводили общепринятым методом непрямой флуоресценции с применением моноклональных антител. В результате лейкограмма крови изменилась в сторону развития лейкопенических процессов. В ряду исследованных соединений сравнительно низкую лимфопоэзстимулирующую активность показало соединение 2. Сравнительно высокую лимфопоэзстимулирующую активность в ряду соединений 1, 2 и 3 проявило соединение 3. Эритропоэзстимулирующая и тромбоцитопоэзстимулирующая активность у соединений 1 и 3 была на уровне препарата сравнения метилурацила.

**Ключевые слова:** иммуностимулятор, иммуномодулятор, эритропоэз, лимфоцитопения, гранулоцитопения.

G.D. Daulet<sup>1\*</sup>, L.K. Baktybaeva<sup>1</sup>, A.S. Sokolenko<sup>1</sup>, V.K. Yu<sup>2,3</sup>,  
A.B. Malmakova<sup>2,3</sup>, A.G. Zazybin<sup>3,4</sup>, N.N. Belyaev<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>2</sup>Institute of Chemical Sciences named after A.B. Bekturov, Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>Kazakh-British Technical University, School of Chemical Engineering, Kazakhstan, Almaty

<sup>4</sup>University of Tokyo Department of Advanced Sciences and Engineering, Japan,

Chiba, Kashiwa, Kashivanoha, 5-1-5, 277-8561

<sup>5</sup>Saint-Petersburg Pasteur Institute, Russia, St. Petersburg

\*e-mail: daulet.guldana@mail.ru

### Biological spectrum of the activity of azheterocyclic compounds

The demand for immunostimulants and immunomodulators in the pharmaceutical market is wide. They are used in the treatment of congenital, acquired immunodeficiency states, in the treatment of cancer patients, in the treatment of patients living in ecologically unfavorable regions of countries, etc. And modern immunopharmacology faces a global challenge in the development of targeted immunostimulants. Thus, the presented spectrum of immunostimulating drugs shows that each group of immunostimulants has a certain spectrum of side effects and synthetic drugs are a more promising group. Therefore, the screening of new promising immunostimulants of targeted synthetics is justified. To study the hemogram of peripheral blood, we used 48 adult female albino laboratory rats, and phenotyping of lymphocytes was carried out by the conventional method of indirect fluorescence using monoclonal antibodies. As a result, the blood leukogram changed towards the development of leukopenic processes. Compound 2 exhibited comparatively low lymphopoiesis-stimulating activity among the compounds

studied. Compound 3 showed comparatively high lymphopoiesis-stimulating activity in the series of compounds 1, 2, and 3. The erythropoiesis-stimulating and thrombocytopoiesis-stimulating activity of compounds 1 and 3 was at the level of the reference drug methyluracil.

**Key words:** immunostimulant, immunomodulator, erythropoiesis, lymphocytopenia, granulocytopenia.

Г.Д. Дәулет<sup>1\*</sup>, А.К. Бактыбаева<sup>1</sup>, А.С. Соколенко<sup>1</sup>, В.К. Ю<sup>2,3</sup>,  
А.Б. Малмакова<sup>2,3</sup>, А.Г. Зазыбин<sup>3,4</sup>, Н.Н. Беляев<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>2</sup>А.Б. Бектұров атындағы химия ғылымдарының институты, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>Қазақ-Британ техникалық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>4</sup>Токиялық университет, Жапония, Чиба, Кашива, Кашиваноха, 5-1-5, 277-8561

<sup>5</sup>Пастер атындағы Санкт-Петербургтік эпидемиология және микробиология ҒЗИ,  
Ресей, Санкт-Петербург қ.

\*e-mail: daulet.guldana@mail.ru

### Азагетероциклді қосылыстардың белсенді биологиялық спектрі

Фармацевтикалық нарықта иммуностимуляторлар мен иммуномодуляторларға сұраныс өте кең. Олар туа біткен және де жүре пайда болған иммунитет тапшылығы жағдайларын емдеуде, онкологиялық науқастарды емдеуде, елдердің экологиялық қолайсыз аймақтарында тұратын науқастарды емдеуде және т.б. жағдайларда қолданылады. Ал, заманауи иммунофармакологияның алдындағы жаһандық деңгейдегі мақсат – иммуностимуляторларды өңдеу, бұл өзекті мәселе болып отыр. Осылайша, иммуностимуляциялаушы препараттардың ұсынылып отырған спектрі иммуностимуляторлардың әр тобында белгілі-бір жанамә әсерлер спектрі бар екенін және де синтетикалық препараттардың болашағы зор топ екенін көрсетеді. Сондықтан да жаңа синтетикалық иммуностимуляторларды скринингтен өткізу негізделген. Зерттеу жұмысы барысында перифериялық қанның гемограммасын зерттеу үшін 48 ересек альбиностық зертханалық егеуқұйрықтарды қолдандық, ал лимфоциттерді фенотиптеу моноклоналды антиденелерді қолдана отырып, жанамә флуоресценцияның әдеттегі әдісімен жүргізілді. Нәтижесінде, қан лейкограммасы лейкопениялық процестердің дамуына қарай өзгерді. 2-қосылыс зерттелген бірқатар қосылыстармен салыстырмалы түрде жоғары лимфопоз-ынталандырушы белсенділікті көрсетті, 1, 2 және 3 қосылыстарда 3-қосылыс салыстырмалы түрде жоғары лимфопоз-ынталандырушы белсенділік көрсетті. 1 және 3 қосылыстарының эритропозді ынталандырушы және тромбоцитопозді ынталандырушы белсенділігі метилурацил препараты деңгейінде болды.

**Түйін сөздер:** иммуностимулятор, иммуномодулятор, эритропоз, лимфоцитопения, гранулоцитопения.

### Введение

Современные алгоритмы лечения многих заболеваний включают в себя применение иммуномодулирующих средств [1, 2]. К иммуномодуляторам относят лекарственные средства различного происхождения, оказывающие разнонаправленное действие на иммунную систему, в зависимости от ее исходного состояния. Иммуномодуляторы используют в комплексной терапии заболеваний, сопровождающихся признаками вторичной иммунной недостаточности, которая характеризуется часто рецидивирующими бактериальными, вирусными и грибковыми инфекциями, плохо поддающимися традиционным методам лечения [3]. Вместе с тем, требует уточнения несколько обстоятельств. Во-первых, следует понимать, что природа иммунодефицитов двояка: они подраз-

деляются на первичные и вторичные. В основе первичных иммунодефицитов нарушения локализуется на генетическом уровне, что и приводит к неэффективному функционированию иммунной системы. В этом случае говорить об иммуномодулирующей терапии бессмысленно, поскольку воздействия на иммунную систему осуществляются с заместительной целью. Например, при агаммаглобулинемии вводят насыщающие дозы внутривенных иммуноглобулинов [4, 5]. В процессе развития иммунной реакции происходит взаимодействие клеток 3 видов: макрофагов, Т-лимфоцитов хелперов и эффекторных клеток клеточного или гуморального звена иммунитета [6-11].

С практической точки зрения удобна следующая классификация иммуномодулирующих средств [12].

I. Средства бактериального происхождения:

1. Лизаты бактерий: бронхо-мунал, имудон, рибомунил, ИРС-19; 2. Микробные макромолекулярные соединения: мурамилдипептид, пирогенал, продигиозан, нуклеинат натрия [13].

II. Средства растительного происхождения: эхинацея пурпурная [14].

III. Цитокины и медиаторы: 1. Тимические гормоны: тактивин, тималин, тимоген; 2. Пептиды костного мозга: миелопид; 3. Индукторы интерферона: криданимод, тилорон, меглумин акридонат, арбидол, амизол; 4. Интерфероны: интерферон  $\alpha$ , интерферон  $\beta$ ; 5. Интерлейкины: интерлейкин-1 $\beta$ , интерлейкин-2; 6. Колонистимулирующие факторы: филграстим, молграмостим, сарграмостим; 7. Моноклональные антитела: инфликсимаб, адалимумаб, омализумаб [15].

IV. Синтетические иммуномодуляторы: левamisол, галавит, полиоксидоний, имунорикс [16].

Растительные лекарственные средства весьма популярны у населения, однако доказательная база эхинацеи ограничена разрозненными нерандомизированными испытаниями, часто выполненными с огрехами в методологии исследования и наличием конфликта интересов [17]. Синтетические иммуномодуляторы – пидотимод (торговое название – Имунорикс) относится к группе химически чистых синтезированных препаратов и представляет собой препарат пептидной природы, опыт применения которого в странах Западной Европы превышает 15 лет. Одной из точек приложения действия пидотимода является усиление экспрессии гена интерлейкина-2, что, по-видимому, и приводит к повышению количества Т- и В-лимфоцитов и их функциональной активности [18]. Кроме того, в эксперименте показано, что при приеме внутрь препарат повышает функциональную активность гранулоцитов и нейтрофилов [19]. *In vitro* показано, что Пидотимод снижает экспрессию CD30-антигена на лимфоцитах (суперсемейство рецепторов для провоспалительного цитокина – фактора некроза опухолей) [20, 21]. Полиоксидоний – это физиологически активное соединение с молекулярной массой 100 кДа. По своей химической структуре он является сополимером N-оксида 1,4-этиленпиперазина и (N-карбокситил)-1,4-этиленпиперазиния бромидом с молекулярной массой 80 кДа. Полиоксидоний обладает иммуномодулирующим действием, увеличивает резистентность организма в отношении локальных и генерализованных инфекций. Основой механизма иммуномодулирующего действия полиок-

сидония является прямое воздействие на фагоцитирующие клетки и естественные киллеры, а также стимуляция антителообразования [22].

В современной фармакологии выделяют следующие группы иммуностимуляторов: препараты микробного происхождения (нуклеинат натрия, рибомунил, имудон и др.); пептидные препараты (Т-активин, миелопид, тимоген и др.); цитокины и препараты на их основе (интерфероны, интерлейкины); препараты на основе природных компонентов (экстракты растений и т.д.); синтетические препараты (полиоксидоний, ликопид и др.). Характерной чертой препаратов микробного происхождения является активация факторов естественной резистентности – системы мононуклеарных фагоцитов, нейтрофильных гранулоцитов и натуральных киллеров [23]. В силу высокой пирогенности некоторые препараты микробного происхождения первого и второго поколения не находят применения в клинике. Сейчас получены синтетические производные, разработанные на основе нулеината натрия: Poludan, Inosine pranobex (Isoprinosine), Methy-luracil and Riboxin [24, 25]. Препараты на основе нуклеината натрия способны стимулировать пролиферацию и рост иммунных клеток, клеток крови и т.д., но также способствуют интенсивному делению бактериальной микрофлоры, метастазированных очагов раковых клеток.

Иммуномодуляторы эндогенного происхождения можно условно разделить на иммунорегуляторные пептиды и цитокины [26]. Как известно, центральными органами иммунитета служат тимус и костный мозг, регулирующие развитие клеточного и гуморального иммунного ответа соответственно. Группа российских ученых под руководством академика Р.В. Петрова использовала эти органы для выделения иммунорегуляторных пептидов с целью создания лекарственных препаратов, восстанавливающих клеточный и гуморальный иммунитет [27-30]. Толчком к созданию подобных препаратов стало открытие нового класса биологически активных соединений пептидных гормонов тимуса, к которым относится семейство тимозинов, тимопоэтинов и сывороточный тимический фактор тимулин. Эти пептиды при поступлении в кровь оказывают влияние на всю периферическую иммунную систему, стимулируя рост и пролиферацию лимфоидных клеток [31].

Для активации деятельности клеток костного мозга и стимуляции лейкопоэза был разрешен к медицинскому применению нуклеинат натрия [32]. Этот препарат представляет собой

натриевую соль нуклеиновой кислоты, полученную гидролизом и дальнейшей очисткой из дрожжей. Препарат содержит большое количество предшественников нуклеиновых кислот и способствует росту и размножению практически всех делящихся клеток [33]. В дальнейшем было выявлено, что нуклеинат натрия обладает способностью стимулировать факторы как врожденного, так и приобретенного иммунитета. Это вполне естественно, так как развитие иммунного ответа связано с активной пролиферацией Т- и В-лимфоцитов [34]. Нуклеинат натрия — первый препарат в своей группе, получивший разрешение на медицинское применение не только как стимулятор лейкопоэза, но и как стимулятор иммунитета. К препаратам этого ряда относятся Деринат (натриевая соль нативной ДНК, выделенной из молок осетровых рыб), Полудан (высокоочищенная смесь натриевых солей ДНК и РНК, также получаемых из молок осетровых рыб), рибонуклеат натрия (Ридостин) — препарат РНК, выделенной из пекарских дрожжей [35-37].

В настоящее время за рубежом для стимуляции иммунитета достаточно широко используются препараты растительного происхождения, в частности различные производные эхинацеи пурпурной [38].

Особой разновидностью вторичного иммунодефицита являются онкологические заболевания. Злокачественные опухоли, с одной стороны, используют иммунную систему для поддержания собственного роста, а с другой — блокируют те компоненты иммунной защиты, которые могли бы привести к отторжению опухоли [39]. При онкологических заболеваниях значительно увеличиваются численность и активность клеток с иммуносупрессивной активностью: миелоидных супрессорных клеток и регуляторных Т-клеток. Эти популяции клеток иммунной системы препятствуют развитию эффективного иммунного ответа против опухоли. Поэтому основной задачей иммунотерапии при онкологических заболеваниях является перевод иммунной системы из состояния, способствующего росту злокачественной опухоли, в состояние, способствующее ее отторжению [40].

Наиболее перспективной группой в разработке новых иммуностимулирующих препаратов являются синтетические препараты (ликопид, имунофан, полиоксидоний, левамизол, галавит, циклоферон и др.) [41, 42]. Препараты первой подгруппы — левамизол и диуцифон обладают корректирующим воздействием на Т-систему

иммунитета. Левамизол также является индуктором ИЛ-2 и обладает способностью стимулировать систему НК-клеток [43]. Но левамизол является очень токсичным препаратом. Относящийся ко второй подгруппе ликопид является синтетическим аналогом мурамилтрипептида, минимального компонента клеточной стенки всех бактерий. Этот препарат в низких дозах усиливает поглощение и разрушение микробов и опухолевых клеток фагоцитами *in vitro*, стимулирует синтез ИЛ -1 и ФНО. В свою очередь ИЛ -1 и ФНО активируют В- и Т- лимфоциты, следствием чего является усиление антителообразования и реакций клеточного иммунитета. В последние годы в иммунологической практике достаточно эффективно используется пептидный препарат четвертого поколения – имунофан. В отличие от гормонов тимуса, имунофан оказывает иммунорегулирующее действие на клетки иммунной системы вне зависимости от продукции простагландинов. Препаратом нового поколения синтетических иммуномодуляторов, полученного в результате направленного химического синтеза, является полиоксидоний. Это высокомолекулярное соединение, обладающее выраженной иммуностропной активностью. К перспективным иммуномодуляторам относится также синтетическое лекарственное средство галавит, представляющее собой производное аминоксидогидрозида [44].

## Материалы и методы

### *Исследуемые соединения.*

Азагетероциклические соединения N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-2-оксоэтанаминия йодид (1), N,N,N-триэтил-2-(мезитиламино)-2-оксоэтанаминия йодид (2), N,N-диэтил-N-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1-аминия йодид (3) впервые были синтезированы в лаборатории «Лекарственных соединений» ДГП на ПХВ Института химических наук имени А.Бектурова.

### *Метод исследования гемограммы периферической крови*

Для исследования гемограммы периферической крови использовали 48 взрослых лабораторных крыс-альбиносов женского пола, 10-15 недельного возраста, массой 210-280 г. Животные были получены одновременно из одного питомника – биологической клиники факультета биологии и биотехнологии КазНУ имени аль-Фараби. Исследования проводились в соответствии с «Правилами проведения докли-

нических (неклинических) исследований биологически активных веществ» и «Этическими принципами и рекомендациями по проведению научных экспериментов на животных» [29]. Все животные содержались в однородных условиях (древесная подстилка из опилок, температура в помещении 22-24°C, режим естественного освещения), получали стандартные кормовые рационы. Животные были разделены на 6 групп по 8 особей. 6-я группа животных была интактной. С 24-х часовым интервалом проводили введение всем экспериментальным группам животных доксорубина гидрохлорид в дозе 10 мг/кг в физиологическом растворе в объеме 0, 2 – 0,21 мл 1% раствора. Через 72 часа животным вводили: 1, 2, 3-й экспериментальной группе по 0, 1- 0, 12 мл 1% раствора соединения 1, 2, 3 (доза введения 5 мг/кг на физиологическом растворе); 4 – й группе плацебо – по 0, 1- 0, 12 мл физиологического раствора; 5 – ой контрольной группе – по 0,1- 0,12 мл 1 % раствора метилурацила (доза введения 5 мг/кг на физиологическом растворе). Забор крови проводили в 09.00 утра из орбитальной вены крыс в гематологические пробирки VF-052SDK с ЭДТА ( $K_2$ ) через 7 суток после инъекции исследуемых соединений под мягким эфирным наркозом. Анализы крови проводили на гематологическом анализаторе «Abacus junior VET» (Diatron, Дания). Двойной цитологический контроль проводили на мазках крови. Мазки крови подвергали окрашиванию методом Giemsa и подсчитывали под микроскопом SA3300S под иммерсией (увеличение 7·100) по 100 клеток на каждый образец мазка, затем относительное количество клеток каждого типа переводили в абсолютное значение.

*Фенотипирование лимфоцитов методом непрямой иммунофлуоресценции.*

Разделение фракций крови проводили раствором фиколл-уротраста. Фенотипирование лимфоцитов проводили общепринятым методом непрямой флуоресценции с применением моноклональных антител: ИКО 111(СД3), ИКО 101(СД4), ИКО 31(СД8), ИКО 180(СД20) (НПЦ «МедБиоСпектр», Москва) [30]. Клеточные комплексы с антителами суспендировали в 20 мкл рабочего раствора FITC-конъюгатов вторичных антител (FITC-анти-мышь, пр-во: НПЦ «МедБиоСпектр», Москва) и инкубировали в течение 30 мин при 4°C во влажном термостате. Фиксацию клеток проводили раствором для фиксации клеток (8%-й раствор формалина и 4%-й раствор параформальдегида). Клеточную суспензию помещали в лунки на предметном стекле. Так как

учет результатов реакции проводился на люминесцентных микроскопах предметные стекла не покрывали покровными стеклышками, а осторожно помещали объектив в лунку на стекле, используя 50% раствор глицерина в качестве иммерсионной среды. Использовали объектив микроскопа 100x и окуляр 10x. Подсчитывали светящиеся клетки в течение 24 часов после постановки реакции, сохраняя препараты в темной комнате. Микроскопирование проводилось в темной комнате. Статистическая обработка результатов проводилась с приведением среднего значения, средней ошибки и доверительного интервала Стьюдента.

## Результаты и их обсуждение

*Биологическая часть исследований.*

В результате трехкратной интоксикации цитостатическим препаратом доксорубина гидрохлоридом произошло снижение лейкоцитарного, эритроцитарного и тромбоцитарного показателя. Регистрировались следующие показатели крови: общий лейкоцитарный показатель со значения  $(12,1 \pm 0,8) \cdot 10^9$ /л крови снизился на 6-ой день наблюдения до  $(5,6 \pm 0,5) \cdot 10^9$ /л крови и далее на 9-ый день наблюдения до  $(2,37 \pm 0,16) \cdot 10^9$ /л крови, т.е. в 5,11 раза ( $p \leq 0,01$ ). Лейкограмма крови изменилась в сторону развития лейкопенических процессов. Относительный лимфоцитарный показатель снизился с  $63,72 \pm 1,1\%$  до  $47,2 \pm 1,7\%$ . Произошло снижение относительного гранулоцитарного показателя с  $30,00 \pm 0,8\%$  до  $26,18 \pm 4,5\%$ . Уровень моноцитов, эозинофилов и базофилов увеличился с  $6,28 \pm 0,1\%$  до  $26,7 \pm 0,3\%$ , т.е. в 4,25 раза ( $p \leq 0,05$ ). Более значимые изменения произошли в абсолютных показателях лейкограммы крови. Значительно снизился абсолютный лимфоцитарный показатель с  $(7,71 \pm 0,1) \cdot 10^9$ /л крови до  $(1,12 \pm 0,2) \cdot 10^9$ /л крови, т.е. в 6,88 раза ( $p \leq 0,01$ ). Абсолютный гранулоцитарный показатель снизился  $(3,63 \pm 0,01) \cdot 10^9$ /л крови до  $(0,62 \pm 0,3) \cdot 10^9$ /л крови, т.е. в 5,85 раза ( $p \leq 0,01$ ). Также, несмотря на относительное увеличение относительных показателей моноцитов, эозинофилов и базофилов, абсолютный показатель эозинофилов, базофилов и моноцитов значительно снизился. Таким образом, после введения цитостатика доксорубина гидрохлорида в лейкограмме крови регистрировалась лейкопения на фоне абсолютной лимфоцитопении и гранулоцитопении.

Изменения также регистрировались в эритроцитарных показателях крови. Общий эритро-

цитарный показатель снизился с  $(7,5 \pm 0,9) \cdot 10^{12}/\text{л}$  крови до  $(4,93 \pm 0,5) \cdot 10^{12}/\text{л}$  крови. Очень быстро снизился гемоглобиновый показатель с  $(140,7 \pm 8,9)$  г/л крови до  $(90,75 \pm 6,2)$  г/л крови в 1,5 раза ( $p \leq 0,05$ ). Естественно, что среднее содержание гемоглобина в эритроцитах и цветной показатель также снизились.

Общий тромбоцитарный показатель снизился в 7,94 раза ( $p \leq 0,01$ ) с  $(560,0 \pm 12,2) \cdot 10^9/\text{л}$  крови до  $(70,5 \pm 2,33) \cdot 10^9/\text{л}$  крови. Уровень тромбокрита также снизился.

Таким образом, интоксикация организма цитостатиком доксорубина гидрохлоридом привела к панцитопении на фоне выраженной лейкопении, эритропении и тромбоцитопении. Лейкопения проявилась в виде гранулоцитопении и лимфоцитопении.

На фоне искусственно вызванной панцитопении лабораторным крысам вводили исследуемые соединения N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-2-оксоэтанаминия йодид (1), N,N,N-триэтил-2-(мезитиламино)-2-оксоэтанаминия йодид (2), N,N-диэтил-N-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1-аминия йодид (3) трехкратно с забором крови на 7-ой день после последнего введения соединений.

Соединение N,N,N-триэтил-2-(мезитиламино)-2-оксоэтанаминия йодид (2) не превышал по лейкопозстимулирующей активности препарат сравнения метилурацил. Общий лейкоцитарный показатель в группах с введением данного соединения был в пределах  $(4,8 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$  крови при значении в контрольной группе  $(5,2 \pm 0,8) \cdot 10^9/\text{л}$  крови. Все относительные и абсолютные показатели лейкограммы крови в исследуемых группах незначительно уступали аналогичным показателям контрольной группы. Абсолютный лимфоцитарный показатель в группе с введением исследуемого соединения N,N,N-триэтил-2-(мезитиламино)-2-оксоэтанаминия йодид (2) был в пределах  $(2,6 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$  крови при аналогичном показателе в контрольной группе  $(3,22 \pm 0,03) \cdot 10^9/\text{л}$  крови. Абсолютный гранулоцитарный показатель в исследуемой группе составил  $(1,52 \pm 0,2) \cdot 10^9/\text{л}$  крови против значения в контрольной группе  $(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^9/\text{л}$  крови (Рисунок 1(I)).

Следует отметить высокую эритропоз- и тромбоцитопозстимулирующую активность соединения N,N,N-триэтил-2-(мезитиламино)-2-оксоэтанаминия йодид (2). Общий эритроцитарный показатель в группе с введением соединения 2 составил  $(7,2 \pm 0,9) \cdot 10^{12}/\text{л}$  крови против аналогичного показателя в контрольной группе

$(5,69 \pm 0,36) \cdot 10^{12}/\text{л}$  крови и значением интактных животных  $(7,5 \pm 0,9) \cdot 10^{12}/\text{л}$  крови. То есть соединение БИВ-118 в довольно короткий срок стимулировало пролиферативную активность эритропозного пула и восстановило эритроцитарный показатель до уровня интактных животных. Гемоглобиновый показатель в группе введения соединения 2 не достиг уровня интактных животных, но был выше значения контрольной группы. Значение гемоглобина  $(137,0 \pm 12,2)$  г/л было выше показателя в контрольной группе  $(106,0 \pm 12,1)$  г/л в 1,29 раза и коррелировало с показателем в интактной группе  $(140,7 \pm 8,9)$  г/л (Рисунок 1(II)).

Соединение N,N,N-триэтил-2-(мезитиламино)-2-оксоэтанаминия йодид (2) также эффективно стимулировало тромбоцитопоз в организме крыс и показатель составил  $(639,0 \pm 13,8) \cdot 10^9/\text{л}$ . Показатель экспериментальной группы превышал показатель контрольной группы  $(518,25 \pm 13,8) \cdot 10^9/\text{л}$  крови и был на уровне интактных животных  $(660,0 \pm 12,2) \cdot 10^9/\text{л}$  крови (Рисунок 1(III)). Тромбоцитный показатель также коррелировал с общетромбоцитарным показателем и был высоким. В фармакологических исследованиях давно замечена закономерность – если соединение успешно стимулирует пролиферацию эритроцитарного пула, то значит оно также эффективно будет стимулировать пооз тромбоцитарного пула. Такая закономерность подтвердилась в исследованиях с соединением 2. Соединение одинаково эффективно стимулировало эритро- и тромбоцитопоз.

Соединения N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-2-оксоэтанаминия йодид (1) и N,N-диэтил-N-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1-аминия йодид (3) очень эффективно стимулировали лейкопоз и восстановление лейкоцитарных популяций шло более выражено в лимфоцитарных субпопуляциях. Общий лейкоцитарный показатель в группе введения соединения 3 составил  $(10,9 \pm 0,7) \cdot 10^9/\text{л}$  крови, что было выше показателя контрольной группы  $(5,2 \pm 0,8) \cdot 10^9/\text{л}$  крови в 2,09 раза ( $p \leq 0,05$ ) и приблизилось к показателю интактных животных  $(12,1 \pm 0,8) \cdot 10^9/\text{л}$  крови животных. Абсолютный лимфоцитарный показатель составил  $(8,6 \pm 0,2) \cdot 10^9/\text{л}$  крови против показателя контрольной группы  $(3,22 \pm 0,03) \cdot 10^9/\text{л}$  крови, превышая в 2,67 раза ( $p \leq 0,05$ ) и коррелировал с показателем интактной группы  $(7,71 \pm 0,1) \cdot 10^9/\text{л}$  крови. Относительный лимфоцитарный показатель лейкограммы крови животных также подтверждал высокий абсолютный лимфоцитарный по-

казатель. Относительный лимфоцитарный показатель составил  $(78,55 \pm 2,1)\%$  при показателе в контрольной группе  $(62,04 \pm 3,93)\%$  и значении в интактной группе  $(63,72 \pm 1,1)\%$ . Согласно литературным источникам показатели лейкограммы крови у белых лабораторных не линейных крыс колеблются в пределах: общий лейкоцитарный показатель в пределах  $(5,00 \div 23,00) \cdot 10^9$  /л крови, относительный лимфоцитарный показатель в пределах  $(50 \div 70)\%$  и гранулоцитарный показатель  $(10 \div 50)\%$ . Следовательно, несмотря на то, что относительный лимфоцитарный показатель был выражено высокий, но он находился в пределах нормы. Относительный гранулоцитарный показатель был  $(11,7 \pm 0,9)\%$  против значения контрольной группы  $(32,68 \pm 1,6)\%$  и интактной группы  $(30,0 \pm 0,8)\%$  и превышал в 2,79 и 2,56 раза соответственно. Далее абсолютное значение лимфоцитов в группе с введением соединения 3 составило  $(8,6 \pm 0,2) \cdot 10^9$  /л крови против значения контрольной группы  $(3,22 \pm 0,03) \cdot 10^9$  /л крови и показателя интактной группы  $(7,71 \pm 0,1) \cdot 10^9$  /л крови, превышая в 2,67 и 1,11 раза соответственно. Абсолютный гранулоцитарный показатель в группе с введением соединения 3  $(1,25 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови коррелировал с показателем контрольной группы  $(1,7 \pm 0,04) \cdot 10^9$  /л крови и был ниже показателя интактной группы  $(3,63 \pm 0,31) \cdot 10^9$  /л крови в 2,90 раза ( $p \leq 0,05$ ) (Рисунок 1(I)).

Соединение N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-2-оксоэтанаминия йодид (1) также эффективно стимулировало лейкопоз, но уступало соединению N,N-диэтил-N-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1-аминия йодид (3). Общий лейкоцитарный показатель в группе введения соединения 1 составил  $(8,97 \pm 0,8) \cdot 10^9$  /л крови, что было выше показателя контрольной группы  $(5,2 \pm 0,8) \cdot 10^9$  /л крови в 1,72 раза и ниже показателя интактных животных  $(12,1 \pm 0,8) \cdot 10^9$  /л крови животных в 1,34 раза. Абсолютный лимфоцитарный показатель в данной группе введения также был высокий  $(7,1 \pm 0,4) \cdot 10^9$  /л крови, что было выше показателя контрольной группы  $(3,22 \pm 0,03) \cdot 10^9$  /л крови в 2,20 раза и коррелировало с показателем интактной группы  $(7,71 \pm 0,1) \cdot 10^9$  /л крови. Относительный лимфоцитарный показатель составил  $(79,3 \pm 0,8)\%$ , превышая показатель контрольной группы  $(62,04 \pm 3,93)\%$  и значения в интактной группе  $(63,72 \pm 1,1)\%$  в 1,27 и 1,24 раза соответственно. Относительный гранулоцитарный показатель составил  $(8,5 \pm 0,6)\%$  и был ниже значения контрольной группы  $(32,68 \pm 1,6)\%$  и интактной группы  $(30,0 \pm 0,8)\%$  в 3,84 и 3,52 раза соответ-

ственно ( $p \leq 0,05$ ). Абсолютный гранулоцитарный показатель в группе с введением соединения 1 составлял  $(0,8 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови коррелировал с показателем контрольной группы  $(1,7 \pm 0,04) \cdot 10^9$  /л крови и был ниже показателя интактной группы  $(3,63 \pm 0,31) \cdot 10^9$  /л крови в 4,53 раза ( $p \leq 0,05$ ) (Рисунок 1(I)).

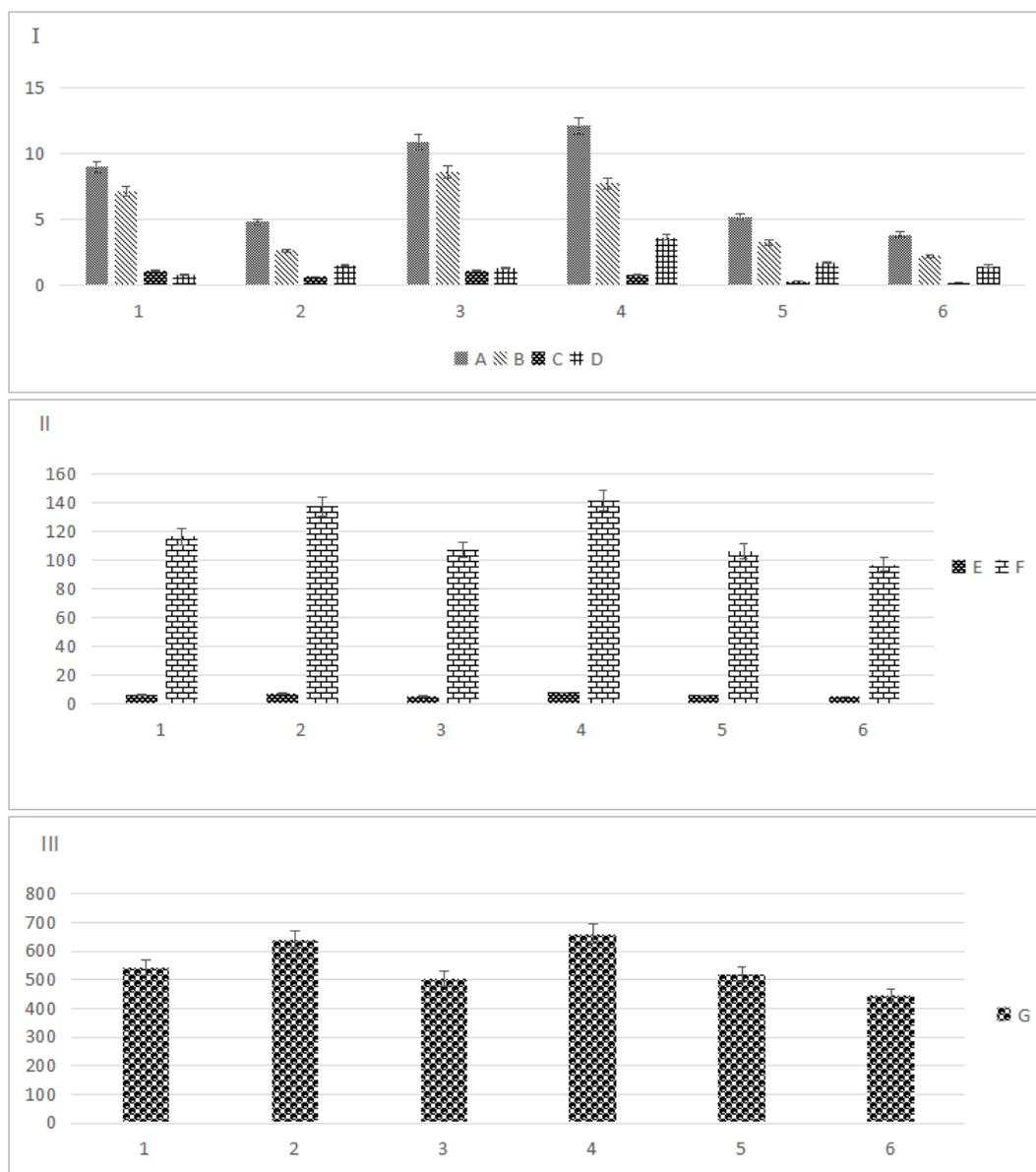
Эритропозстимулирующая и тромбоцитопозстимулирующая активность у соединений 1 и 3 была на уровне препарата сравнения метилурацила. Общий эритроцитарный показатель в группах с введением соединений 1 и 3 был в пределах  $(5,02 \div 5,82) \cdot 10^{12}$  /л крови при значении в контрольной группе  $(5,69 \pm 0,36) \cdot 10^{12}$  /л крови, но ниже показателя интактных животных  $(7,5 \pm 0,9) \cdot 10^{12}$  /л крови. Уровень гемоглобина также эффективно восстанавливался и составлял  $(107 \div 116)$  г/л при значении в контрольной группе  $(106,0 \pm 12,2)$  г/л, но ниже значения интактных животных  $(140,7 \pm 8,9)$  г/л в 1,30 и 1,20 раза соответственно (Рисунок 1(II)). Тромбоцитопозстимулирующая активность у исследуемых соединений была на уровне препарата сравнения метилурацила. Общий тромбоцитарный показатель в группах с введением соединений 1 и 3 составлял  $(503,5 \div 543,0) \cdot 10^9$  /л крови, что было на уровне контрольной группы  $(518,25 \pm 19,9) \cdot 10^9$  /л крови, но ниже чем в интактной группе  $(660,0 \pm 12,3) \cdot 10^9$  /л крови (Рисунок 1(III)).

Так как соединения проявили лимфопозстимулирующую активность. На втором этапе фармакологического скрининга была проведена оценка влияния азаетероциклических соединений на пролиферацию отдельных субпопуляций  $CD3^+$  - Т-лимфоцитов,  $CD20^+$  - В-лимфоцитов,  $CD4^+$  - Т-хелперов,  $CD8^+$  - Т -цитотоксических клеток.

Сравнительно высокую лимфопозстимулирующую активность в ряду соединений 1, 2 и 3 проявило соединение 3. Активное соединение 3 увеличивало абсолютный  $CD3^+$  - Т-лимфоцитарный показатель до  $(4,37 \pm 0,9) \cdot 10^9$  /л крови, коррелируя со значением интактных животных  $(4,29 \pm 0,6) \cdot 10^9$  /л крови, достоверно превышая показатель животных группы плацебо  $(0,6 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови в 7,28 раз ( $p \leq 0,01$ ) и показатель контрольной группы  $(1,59 \pm 0,7) \cdot 10^9$  /л крови в 2,69 раза ( $p \leq 0,05$ ). Показатель  $CD20^+$  - В-лимфоцитов  $(2,02 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови был приближен к значению интактных животных  $(2,34 \pm 0,03) \cdot 10^9$  /л крови, превышая показатели контрольной группы  $(0,52 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 3,88 раза ( $p \leq 0,01$ ) и показатели группы плацебо  $(0,43 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 4,69 раза ( $p \leq 0,01$ ). Уро-

вень  $CD4^+$  – Т-хелперов  $(1,07 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови приближался к значению интактных животных  $(1,26 \pm 0,02) \cdot 10^9$  /л крови и значительно было выше значения группы плацебо  $(0,12 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 8,91 раза ( $p \leq 0,01$ ) и значения контрольной группы  $(0,57 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 1,87 раза. Уровень  $CD8^+$  – Т –цитотоксических клеток составлял  $(0,99 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови и приблизился

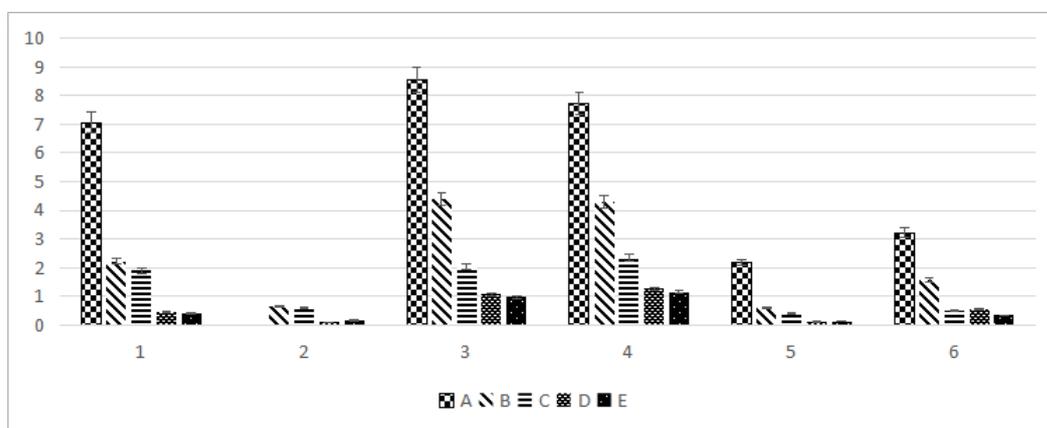
к значению интактных животных  $(1,16 \pm 0,04) \cdot 10^9$  /л крови, но превышая показатели группы плацебо  $(0,13 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 7,61 раза ( $p \leq 0,01$ ) и контрольной группы  $(0,34 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 2,91 раза (Рисунок 2). Иммунорегуляторные индексы в группе введения соединения 3 и в интактной группе были идентичны друг другу и составляли 1,08 усл.ед.



**Рисунок 1** – Гемограмма крови: общий лейкоцитарный показатель, ·10<sup>9</sup>/л (A), абсолютный лимфоцитарный показатель, ·10<sup>9</sup>/л (B), абсолютный моноцитарно-эозинофильный показатель, ·10<sup>9</sup>/л (C) и абсолютный гранулоцитарный показатель, ·10<sup>12</sup>/л (D) (Рисунок 1(I)); общий эритроцитарный показатель, ·10<sup>12</sup>/л (E) и гемоглобин, г/л (F) (Рисунок 1(II)), общий тромбоцитарный показатель, ·10<sup>9</sup>/л (Рисунок 1(III)). 1 – введение соединения 1; 2-введение соединения 2; 3 – введение соединения 3; 4 – интактные животные; 5 – контрольная группа, 6 – группа плацебо. Группы животных (ось абсцисс) vs показатели клеток (ось ординат).

Уступавшие по лимфопоэзстимулирующей активности соединению 3 соединение 1 стимулировало лимфопоэз, но показатели Т- и В-лимфоцитов умеренно достигали средних показателей лимфоцитарных субпопуляций. В группе введения соединения 1 уровень  $CD3^{+}$ -Т-лимфоцитов достиг значения  $(2,22 \pm 0,3) \cdot 10^9$  /л крови, уступая значению интактных животных  $(4,29 \pm 0,6) \cdot 10^9$  /л крови, превышая показатели группы плацебо  $(0,6 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови в 3,7 раза ( $p \leq 0,05$ ) и контрольной группы  $(1,59 \pm 0,7) \cdot 10^9$  /л крови в 1,39 раза. Показатель  $CD3^{+}$ -Т-лимфоцитов был ниже значения группы введения соединения 3  $(4,37 \pm 0,9) \cdot 10^9$  /л крови в 1,96 раза ( $p \leq 0,05$ ). Также умеренно шло восстановление  $CD20^{+}$  – В-лимфоцитарного показателя. Он достиг значения  $(1,9 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови, что было ниже значений интактной группы  $(2,34 \pm 0,03) \cdot 10^9$  /л крови и группы с введением соединения 3 со значением  $(2,02 \pm 0,9) \cdot 10^9$  /л крови в 1,23 раза и 1,06 раза соответственно. Но  $CD20^{+}$  – В-лимфоцитарное значение в группе введения соединения 1 было значительно ниже показателей контрольной группы  $(0,52 \pm 0,0) \cdot 10^9$  /л крови в 3,65 раза ( $p \leq 0,05$ ) и группы плацебо  $(0,43 \pm 0,0) \cdot 10^9$  /л крови в 4,41 раза ( $p \leq 0,01$ ) (Рисунок 2). Соотношение показателей  $CD4^{+}$ -

Т-хелперов,  $CD8^{+}$ -Т –цитотоксических клеток, т.е. иммунорегуляторный индекс в группе введения соединения 1 был лучше, чем в группе введения соединения 3 и составлял 1,12 усл. ед. Уровень  $CD4^{+}$ -Т-хелперов в группе введения соединения 1 составлял  $(0,46 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови, что было ниже значения группы введения соединения 3  $(1,07 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови и интактной группы  $(1,26 \pm 0,02) \cdot 10^9$  /л крови в 2,32 и 2,73 раза соответственно. Но показатель  $CD4^{+}$ -Т-хелперов в группе введения 1 был близок к значению контрольной группы  $(0,57 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови и превышал значение группы плацебо  $(0,12 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 3,83 раза ( $p \leq 0,05$ ). Аналогичный уровень показателя был в субпопуляциях  $CD8^{+}$ -Т –цитотоксических клеток. Показатель  $CD8^{+}$ -Т –лимфоцитов в группе введения соединения 1 составлял  $(0,41 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови, что было ниже значения группы введения соединения 3  $(0,99 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови в 2,41 раза и показателя интактной группы  $(1,16 \pm 0,04) \cdot 10^9$  /л крови в 2,82 раза. Но показатель  $CD8^{+}$ -Т –цитотоксических клеток в группе с введением соединения 1 был выше значений контрольной группы  $(0,34 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 1,20 раза и был значительно выше показателя группы плацебо  $(0,13 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 3,15 раза ( $p \leq 0,05$ ) (Рисунок 2).



**Рисунок 2** – Лимфограмма крови: абсолютный лимфоцитарный показатель,  $\cdot 10^9$ /л (A),  $CD3^{+}$  лимфоциты,  $\cdot 10^9$ /л (B),  $CD20^{+}$  лимфоциты,  $\cdot 10^9$ /л (C)  $CD4^{+}$ ,  $\cdot 10^9$ /л и  $CD8^{+}$  лимфоциты,  $\cdot 10^9$ /л (D). 1 – введение соединения 1; 2-введение соединения 2; 3 – введение соединения 3; 4 – интактные животные; 5 – контрольная группа, 6 – группа плацебо. Группы животных (ось абсцисс) vs показатели клеток (ось ординат).

В ряду исследованных соединений сравнительно низкую лимфопоэзстимулирующую активность показало соединение 2. Оно уступало по активности соединениям 3 и 1, препарату сравнения метилурацилу. Лимфоцитарные

значения в группе введения соединения 2 были приближены к показателям группы плацебо. В группе введения соединения 2 уровень  $CD3^{+}$ -Т –лимфоцитов составлял  $(0,65 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови и был ниже значения интактной группы

$(4,29 \pm 0,6) \cdot 10^9$  /л крови в 6,6 раза, ниже показателей контрольной группы  $(1,59 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови в 2,44 раза. Также  $CD3^+ T$  –лимфоцитарный показатель  $(0,65 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови уступал значению группы введения соединения 1  $(2,22 \pm 0,3) \cdot 10^9$  /л крови и особенно значению группы введения соединения 3  $(4,37 \pm 0,9) \cdot 10^9$  /л крови в 3,41 и 6,72 раза соответственно. Низкий показатель был сопоставим со значением группы плацебо  $(0,6 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови. Значение  $CD20^+ B$  –лимфоцитов в группе введения соединения 2  $(0,6 \pm 0,00) \cdot 10^9$  /л крови было ниже показателей интактной группы  $(2,34 \pm 0,03) \cdot 10^9$  /л крови и групп с введением соединений 3  $(2,02 \pm 0,04) \cdot 10^9$  /л крови и 1  $(1,9 \pm 0,01) \cdot 10^9$  /л крови в 3,9 и 3,36 раза соответственно (Figure 2). Значение  $CD20^+ B$  –лимфоцитов в группе введения соединения 2 коррелировало с показателем группы введения препарата метилурацила. Показатели  $CD4^+ T$  –хелперов и  $CD8^+ T$  –цитотоксических лимфоцитов были на одном уровне и соответственно иммунорегуляторный индекс составил 1,00 усл.ед. Низкие значения обоих субпопуляций T-лимфоцитов группы введения соединений 2 были ниже значений всех групп сравнения: контрольной, плацебо и интактной.

### Заключение

Таким образом, соединения N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-2-оксоэтанаминия

йодид и N,N-диэтил-N-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1-аминия йодид обладали лейкопоэзстимулирующей активностью, превышающей активность препарата сравнения метилурацила. Выраженной лейкопоэзстимулирующей активностью обладало соединение N,N-диэтил-N-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1-аминия йодид, умеренной – N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-2-оксоэтанаминия йодид. Восстановление лейкоцитов шло с превалированием активизации лимфоцитопоэза. Восстановление абсолютных показателей в СД-лимфоцитарных субпопуляциях шло без нарушения иммунорегуляторного индекса. Также соединения N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-2-оксоэтанаминия йодид и N,N-диэтил-N-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1-аминия йодид обладали эритропоэз- и тромбоцитопоэз стимулирующей активностью на уровне препарата сравнения метилурацила. Соединение N,N,N-триэтил-2-(мезитиламино)-2-оксоэтанаминия йодид по лейкопоэзстимулирующей активности уступало соединениям N,N-диэтил-2-(мезитиламино)-N-метил-2-оксоэтанаминия йодид и N,N-диэтил-N-(2-(мезитиламино)-2-оксоэтил)пропан-1-аминия йодид, препарату сравнения метилурацилу, но по эритропоэз- и тромбоцитопоэзстимулирующей активности превышало по активности препарат сравнения метилурацил.

### Литература

- 1 Cantani, A. Pediatric Allergy, Asthma and Immunology / Arnaldo Cantani. – Berling : Springer, 2008. – P. 1619 .
- 2 Masihi, K. N. Immunomodulatory agents for prophylaxis and therapy of infections / K. N. Masihi // Antimicrobial Agent. – 2010 Apr. – Vol. 14, N 3. – P. 181-191.
- 3 Новиков, Д. К. Клиническая иммунология : учеб. пособие для студ. учреждений, обеспечивающих получение высш. мед. образования / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков. – Витебск : ВГМУ, . – 392. – С. 2006.
- 4 Основы клинической иммунологии / Э. Чепель [и др.]. – М. : Гэотар-Медиа, -2018. – С. 416.
- 5 Spickett, G. Oxford handbook of clinical immunology and allergy / Gavin Spickett. – Oxford : University Press, – 2016. – P. 627.
- 6 Доценко, Э. А. Место иммуномодулирующего препарата «Имунорикс» (пидотимод) в когорте иммуностимулирующих препаратов / Э. А. Доценко // Медицинская панорама. – 2019. – № 2. – С. 69-71.
- 7 von Andrian, U. H. T-cell function and migration. Two sides of the same coin / U. H. von Andrian, C. R. Mackay // N Engl J Med. – 2000 Oct. – Vol. 343, N 14. – P. 1020-1034.
- 8 Clark, E. A. How B and T cells talk to each other / E. A. Clark, J. A. Ledbetter // Nature. – 1994 Feb. – Vol. 367, N 6462. – P. 425-428.
- 9 Elson, C. O. Genes, microbes, and T cells – new therapeutic targets in Crohn’s disease / C. O. Elson // N Engl J Med. – 2012 Feb. – Vol. 346, N 8. – P. 614-616.
- 10 Hennecke, J. T cell receptor-MHC interactions up close / J. Hennecke, D. C. Wiley // Cell. – 2001 Jan. – Vol. 104, N 1. – P. 1-4.
- 11 Lenschow, D. J. CD28/B7 system of T cell costimulation / D. J. Lenschow, T. L. Walunas, J. A. Bluestone // Annu Rev Immunol. – 1996. – Vol. 14. – P. 233-258.

- 12 Weiss, A. Structure and function of the T cell antigen receptor / A. Weiss / *J Clin Invest.* – 2011 Oct. – Vol. 86, N 4. – P. 1015-1022.
- 13 Федеральное руководство по использованию лекарственных средств : (формулярная система) / под ред. А. Г. Чу-чалина, Ю. Б. Белоусова, В. В. Ясенцева. – Вып. XII. – М., – 2011. – С 938.
- 14 Mycek, M. J. Lippincott's Illustrated Reviews: pharmacology / M. J. Mycek, R. A. Harvey, P. C. Champe. – 2nd ed. – Philadelphia : Williams & Wilkins, –2000. – P. 528.
- 15 Drug Facts and Comparisons 2006. – 60th ed. – Wolters Kluwer Health, – 2006. – P. 2836.
- 16 Hardman, J. G. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics / J. G. Hardman, L. E. Limbird, A. G. Gilman. – 10th ed. – New York : McGraw-Hill, –2017. – 2045 p.
- 17 Brody, T. M. Human Pharmacology: molecular to clinical / T. M. Brody, J. Larner, K. P. Minneman. – 3rd ed. – St. Louis : Mosby, –1998. – P. 1001.
- 18 Coppi, G. Protective effects of pidotimod against bacterial infections in mice / G. Coppi, A. Falcone, S. Manzardo // *Arzneimittelforschung.* – 1995. – Vol. 44, N 12A. – P. 1417-1421.
- 19 Katzung, B. G. Basic & Clinical Pharmacology / B. G. Katzung. – 8th ed. – New York : McGrawHill, – 2016. – P. 1228.
- 20 Dinarello, C. Proinflammatory cytokines / C. Dinarello // *Chest.* – 2000. – Vol. 118, N 2. – P. 503-508.
- 21 Immune modulator pidotimod decreases the in vitro expression of CD30 in peripheral blood mononuclear cells of atopic asthmatic and normal children / D. Gourgiotis [et al.] // *J. Asthma.* – 2014. – Vol. 41, N 3. – P. 285-287.
- 22 Федеральное руководство по использованию лекарственных средств : (формулярная система) / под ред. А. Г. Чу-чалина, Ю. Б. Белоусова, В. В. Ясенцева. – Вып. XII. – М., –2011. – С. 938.
- 23 Diwanay S., Gautam M., Patwardhan B. Cytoprotection and immunomodulation in cancer therapy // *Curr. Med. Chem. Anticancer.* – 2004. – Vol. 4, № 6. – P. 479–490.
- 24 Ballas Z.K., Rasmussen W.L., Krieg A.M. (1996) Induction of NK activity in murine and human cells by CpG motifs in oligodeoxynucleotides and bacterial DNA. *J Immunol.* 1996 Sep 1; 157(5):1840-5
- 25 Klinman D.M., Yi A.K., Beaucage S.L., Conover J., Krieg A.M. (1996) CpG motifs present in bacteria DNA rapidly induce lymphocytes to secrete interleukin 6, interleukin 12, and interferon gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Apr 2; 93(7):2879-83
- 26 Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология. Учебник. – 3-е изд., М., Медицина, 2010. – 752 с
- 27 Хаитов Р.М., Игнатъева Г.Л., Сидорович И.Г. Иммунология. Учебник // Москва. Медицина. – 2000. – 432 с.: илл.
- 28 Хаитов Р.М. **Иммунология: учебник 2-е изд 10-11г. +CD** // М., ГЭОТАР-Медиа. 2011 – 528с.
- 29 Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Иммунология. Атлас. М. 2011 г. – 624с.
- 30 Хаитов, Р.М. Иммунология. Учебник / Р.М.Хаитов. – М., 2009.
- 31 М.Хаитов, А.А.Ярилин, Б.В.Пинегин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.
- 32 Ярилин, А.А. Иммунология. Руководство / А.А.Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 748 с.
- 33 Мартынов А.И., Пинегин Б.В., Ярилин А.А., / Хаитов Р.М. – Оценка иммунного статуса человека в условиях воздействия химического и биологического фактора. 2011-502с.
- 34 Р. Койко, Д. Саншайн, Э. Бенджамини Иммунология. – Издательство: Академия, 2008 г. – 368 стр.
- 35 Rizzetto, L.; Ifrim, D.C.; Moretti, S.; Tocci, N.; Cheng, S.-C.; Quintin, J.; Renga, G.; Oikonomou, V.; De Filippo, C.; Weil, T.; et al. Fungal Chitin Induces Trained Immunity in Human Monocytes during Cross-talk of the Host with *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 2016, 291, 7961–7972
- 36 Ifrim, D.C.; Quintin, J.; Meerstein-Kessel, L.; Plantinga, T.S.; Joosten, L.A.B.; Van Der Meer, J.W.M.; Van De Veerdonk, F.L.; Netea, M. Defective trained immunity in patients with STAT-1-dependent chronic mucocutaneous candidiasis. *Clin. Exp. Immunol.* 2015, 181, 434–440.
- 37 Rodríguez-Prados, J.-C.; Través, P.G.; Cuenca, J.; Rico, D.; Aragonés, J.; Martín-Sanz, P.; Cascante, M.; Boscá, L. Substrate Fate in Activated Macrophages: A Comparison between Innate, Classic, and Alternative Activation. *J. Immunol.* 2010, 185, 605–614.
- 38 Ziller, M.J.; Gu, H.; Müller, F.; Donaghey, J.; Tsai, L.T.-Y.; Kohlbacher, O.; De Jager, P.L.; Rosen, E.D.; Bennett, D.A.; Bernstein, B.E.; et al. Charting a dynamic DNA methylation landscape of the human genome. *Nature* 2013, 500, 477–481.
- 39 Pacis, A.; Tailleux, L.; Morin, A.M.; Lambourne, J.; MacIsaac, J.L.; Yotova, V.; Dumaine, A.; Danckaert, A.; Luca, F.; Grenier, J.-C.; et al. Bacterial infection remodels the DNA methylation landscape of human dendritic cells. *Genome Res.* 2015, 25, 1801–1811.
- 40 Xu X., Yang J., Liu Y., Shan C., Wang Q., Chen Z., Cheng Y. (2015) The induction of prolonged myelopoietic effects in monkeys by GW003, a recombinant human granulocyte colony-stimulating factor genetically fused to recombinant human albumin. *J Pharm Sci.* 2015 Feb; 104(2):760-7. doi: 10.1002/jps.24121. Epub –2014 Aug 29
- 41 Zhang J., Kaupke C.J., Yousefi S., Cesario T.C., Vaziri N.D. (1995) Flow cytometric investigation of neutrophil activation pathways by n-formyl-Met-Leu-Phe and phorbol myristate acetate. *Biol Cell.* –1995; 84(3):147-53
- 42 Holcombe R.F., McLaren C.E., Milovanovic T. Immunomodulation with low dose levamisole in patient with colonic polyps // *Cancer Detect. Prev.* – 2006. – Vol. 30, № 1. – P. 94–98.

- 43 Order of the Minister of Health of the Republic of Kazakhstan, November 19, –2009 № 745 “On approval of preclinical (non-clinical) studies of biologically active substances”
- 44 Tietz Clinical guide to laboratory tests. 4-th ed. Ed. Wu A.N.B. – USA: W.B Saunders Company, –2006.

### References

- 1 Cantani, A. Pediatric Allergy, Asthma and Immunology / Arnaldo Cantani. – Berling : Springer, 2008. – P. 1619 .
- 2 Masihi, K. N. Immunomodulatory agents for prophylaxis and therapy of infections / K. N. Masihi // Antimicrobial Agent. – 2010 Apr. – Vol. 14, N 3. – P. 181-191.
- 3 Novikov, D. K. Klinicheskaya immunologiya : ucheb. posobie dlya stud. uchrezhdenij, obespechivayushchih poluchenie vyssh. med. obrazovaniya / D. K. Novikov, P. D. Novikov. – Vitebsk : VGMU, . – 392. – S. 2006.
- 4 Osnovy klinicheskoy immunologii / E. Chepel' [i dr.]. – M. : Geotar-Media, -2018. – S. 416.
- 5 Spickett, G. Oxford handbook of clinical immunology and allergy / Gavin Spickett. – Oxford : University Press, – 2016. – R. 627.
- 6 Docenko, E. A. Mesto immunomoduliruyushchego preparata «Imunoriks» (pidotimod) v kogorte immunostimuliruyushchih preparatov / E. A. Docenko // Medicinskaya panorama. – 2019. – № 2. – S. 69-71.
- 7 von Andrian, U. H. T-cell function and migration. Two sides of the same coin / U. H. von Andrian, C. R. Mackay // N Engl J Med. – 2000 Oct. – Vol. 343, N 14. – P. 1020-1034.
- 8 Clark, E. A. How B and T cells talk to each other / E. A. Clark, J. A. Ledbetter // Nature. – 1994 Feb. – Vol. 367, N 6462. – P. 425-428.
- 9 Elson, C. O. Genes, microbes, and T cells – new therapeutic targets in Crohn's disease / C. O. Elson // N Engl J Med. – 2012 Feb. – Vol. 346, N 8. – P. 614-616.
- 10 Hennecke, J. T cell receptor-MHC interactions up close / J. Hennecke, D. C. Wiley // Cell. – 2001 Jan. – Vol. 104, N 1. – P. 1-4.
- 11 Lenschow, D. J. CD28/B7 system of T cell costimulation / D. J. Lenschow, T. L. Walunas, J. A. Bluestone // Annu Rev Immunol. – 1996. – Vol. 14. – P. 233-258.
- 12 Weiss, A. Structure and function of the T cell antigen receptor / A. Weiss / J Clin Invest. – 2011 Oct. – Vol. 86, N 4. – P. 1015-1022.
- 13 Federal'noe rukovodstvo po ispol'zovaniyu lekarstvennyh sredstv : (formulyarnaya sistema) / pod red. A. G. Chuchalina, YU. B. Belousova, V. V. YAsenceva. – Vyp. XII. – M., – 2011. – S 938.
- 14 Mycek, M. J. Lippincott's Illustrated Reviews: pharmacology / M. J. Mycek, R. A. Harvey, P. C. Champe. – 2nd ed. – Philadelphia : Williams & Wilkins, –2000. – R. 528.
- 15 Drug Facts and Comparisons 2006. – 60th ed. – Wolters Kluwer Health, – 2006. – R. 2836.
- 16 Hardman, J. G. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics / J. G. Hardman, L. E. Limbird, A. G. Gilman. – 10th ed. – New York : McGraw-Hill, –2017. – 2045 r.
- 17 Brody, T. M. Human Pharmacology: molecular to clinical / T. M. Brody, J. Larner, K. P. Minneman. – 3rd ed. – St. Louis : Mosby, –1998. – R. 1001.
- 18 Coppi, G. Protective effects of pidotimod against bacterial infections in mice / G. Coppi, A. Falcone, S. Manzardo // Arzneimittelforschung. – 1995. – Vol. 44, N 12A. – P. 1417-1421.
- 19 Katzung, B. G. Basic & Clinical Pharmacology / B. G. Katzung. – 8th ed. – New York : McGrawHill, – 2016. – R. 1228.
- 20 Dinarello, C. Proinflammatory cytokines / C. Dinarello // Chest. – 2000. – Vol. 118, N 2. – P. 503-508.
- 21 Immune modulator pidotimod decreases the in vitro expression of CD30 in peripheral blood mononuclear cells of atopic asthmatic and normal children / D. Gourgiotis [et al.] // J. Asthma. – 2014. – Vol. 41, N 3. – P. 285-287.
- 22 Federal'noe rukovodstvo po ispol'zovaniyu lekarstvennyh sredstv : (formulyarnaya sistema) / pod red. A. G. Chuchalina, YU. B. Belousova, V. V. YAsenceva. – Vyp. XII. – M., –2011. – S. 938.
- 23 Diwanay S., Gautam M., Patwardhan B. Cytoprotection and immynomodulation in cancer therapy // Curr. Med. Chem. Anticancer. – 2004. – Vol. 4, № 6. – P. 479–490.
- 24 Ballas Z.K., Rasmussen W.L., Krieg A.M. (1996) Induction of NK activity in murine and human cells by CpG motifs in oligodeoxynucleotides and bacterial DNA. J Immunol. 1996 Sep 1; 157(5):1840-5
- 25 Klinman D.M., Yi A.K., Beaucage S.L., Conover J., Krieg A.M. (1996) CpG motifs present in bacteria DNA rapidly induce lymphocytes to secrete interleukin 6, interleukin 12, and interferon gamma. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 Apr 2; 93(7):2879-83
- 26 Haitov R.M., Ignat'eva G.A., Sidorovich I.G. Immunologiya. Norma i patologiya. Uchebnik. – 3-e izd., M., Medicina, 2010. – 752 s
- 27 Haitov P.M., Ignat'eva G.L., Sidorovich I.G. Immunologiya. Uchebnik // Moskva. Medicina. – 2000. 432 s.: ill.
- 28 Haitov R.M Immunologiya: uchebnik 2-e izd 10-11g. +CD // M., GEOTAR-Media. 2011 – 528s.
- 29 Haitov R.M., YArilin A.A., Pinegin B.V. Immunologiya. Atlas. M. 2011 g. – 624s.
- 30 Haitov, P.M. Immunologiya. Uchebnik / R.M.Haitov. – M., 2009.
- 31 M.Haitov, A.A.YArilin, B.V.Pinegin. – M.: GEOTAR-Media, 2011. – 624 s.
- 32 YArilin, A.A. Immunologiya. Rukovodstvo / A.A.YArilin. – M.: GEOTAR-Media, 2010. – 748 s.

- 33 Martynov A.I., Pinegin B.V., YArilin A.A., / Haitov R.M. – Ocenka immunnogo statusa cheloveka v usloviyah vozdejstviya himicheskogo i biologicheskogo faktora. 2011-502s.
- 34 R. Kojko, D. Sanshaj, E. Bendzhamini Immunologiya. – Izdatel'stvo: Akademiya, 2008 g. – 368 str.
- 35 Rizzetto, L.; Ifrim, D.C.; Moretti, S.; Tocci, N.; Cheng, S.-C.; Quintin, J.; Renga, G.; Oikonomou, V.; De Filippo, C.; Weil, T.; et al. Fungal Chitin Induces Trained Immunity in Human Monocytes during Cross-talk of the Host with *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 2016, 291, 7961–7972
- 36 Ifrim, D.C.; Quintin, J.; Meerstein-Kessel, L.; Plantinga, T.S.; Joosten, L.A.B.; Van Der Meer, J.W.M.; Van De Veerdonk, F.L.; Netea, M. Defective trained immunity in patients with STAT-1-dependent chronic mucocutaneous candidiasis. *Clin. Exp. Immunol.* 2015, 181, 434–440.
- 37 Rodríguez-Prados, J.-C.; Través, P.G.; Cuenca, J.; Rico, D.; Aragonés, J.; Martín-Sanz, P.; Cascante, M.; Boscá, L. Substrate Fate in Activated Macrophages: A Comparison between Innate, Classic, and Alternative Activation. *J. Immunol.* 2010, 185, 605–614.
- 38 Ziller, M.J.; Gu, H.; Müller, F.; Donaghey, J.; Tsai, L.T.-Y.; Kohlbacher, O.; De Jager, P.L.; Rosen, E.D.; Bennett, D.A.; Bernstein, B.E.; et al. Charting a dynamic DNA methylation landscape of the human genome. *Nature* 2013, 500, 477–481.
- 39 Pacis, A.; Tailleux, L.; Morin, A.M.; Lambourne, J.; MacIsaac, J.L.; Yotova, V.; Dumaine, A.; Danckaert, A.; Luca, F.; Grenier, J.-C.; et al. Bacterial infection remodels the DNA methylation landscape of human dendritic cells. *Genome Res.* 2015, 25, 1801–1811.
- 40 Xu X., Yang J., Liu Y., Shan C., Wang Q., Chen Z., Cheng Y. (2015) The induction of prolonged myelopoietic effects in monkeys by GW003, a recombinant human granulocyte colony-stimulating factor genetically fused to recombinant human albumin. *J Pharm Sci.* 2015 Feb; 104(2):760-7. doi: 10.1002/jps.24121. Epub –2014 Aug 29
- 41 Zhang J., Kaupke C.J., Yousefi S., Cesario T.C., Vaziri N.D. (1995) Flow cytometric investigation of neutrophil activation pathways by n-formyl-Met-Leu-Phe and phorbol myristate acetate. *Biol Cell.* –1995; 84(3):147-53
- 42 Holcombe R.F., McLaren C.E., Milovanovic T. Immunomodulation with low dose levamisole in patient with colonic polyps // *Cancer Detect. Prev.* – 2006. – Vol. 30, № 1. – P. 94–98.
- 43 Order of the Minister of Health of the Republic of Kazakhstan, November 19, –2009 № 745 «On approval of preclinical (non-clinical) studies of biologically active substances»
- 44 44.Tietz Clinical guide to laboratory tests. 4-th ed. Ed. Wu A.N.B. – USA: W.B Saunders Company, –2006.