

УДК 547.853 + 547.854 : 57.083.3

## ІМУНОМОДУЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ ФЕНІЛСУЛЬФОНІЛЬНИХ ПОХІДНИХ ПІРИМІДИНОВИХ ТА ПІРАЗОЛО[1,5-а]ПІРИМІДИНОВИХ ОСНОВ

Л.О.Метелиця, Л.Л.Чарочкіна, С.Є.Могилевич, С.Р.Сливчук,  
В.С.Броварець, Б.С.Драч

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України,  
02660, м. Київ, вул. Мурманська, 1. E-mail: brovarets@bpci.kiev.ua

*Ключові слова: фенілсульфонілзаміщені піримідини та піразоло[1,5-а]піримідини; імуномодулятори; спленоцити; тимоцити; лейкоцити; фагоцити*

**Вивчено імуномодулюючий вплив нових фенілсульфонільних похідних піримідинових та піразоло[1,5-а]піримідинових основ на клітинні і гуморальні реакції та неспецифічну резистентність організму мишей.**

**IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF NEW PHENYLSULFONYL DERIVATIVES OF PYRIMIDINE AND PYRAZOLO[1,5-a]PYRIMIDINE BASES**

**L.A.Metelitsa, L.L.Charochkina, S.Ye.Mogilevich, S.R.Slivchuk, V.S.Brovarets, B.S.Drach**  
**Influence of new phenylsulfonyl derivatives of pyrimidines and pyrazolo[1,5-a]pyrimidines bases on the cellular and humoral reactions and non-specific resistance of the mouse's organism has been studied.**

**ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ФЕНИЛСУЛЬФОНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНОВЫХ И ПИРАЗОЛО[1,5-а]ПИРИМИДИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ**

**Л.А.Метелица, Л.Л.Чарочкина, С.Е.Могилевич, С.Р.Сливчук, В.С.Броварець, Б.С.Драч**  
**Исучено имуномодулирующее влияние новых фенілсульфонільных производных пири-  
мидинових и пиразоло[1,5-а]пириимидинових оснований на клеточные и гуморальные  
реакции, а также неспецифическую резистентность организма мышей.**

Відомо, що імунна система призначена для захисту організму від ендогенних та екзогенних чинників. Складний механізм дії цієї системи направлений, головним чином, на зберігання та підтримку антигенного гомеостазу організму. Генетичні фактори, гормональний статус, вплив зовнішніх, у тому числі терапевтичних агентів, хірургічні втручання, патологічні стани різної етіології та т.п. нерідко супроводжуються розвитком імунодефіцитних станів різного ступеня виразності. Тому актуальною залишається проблема пошуку ефективних специфічних імуномодуляторів. До них можна віднести препарати хімічної чи біологічної природи, здатні ефективно модулювати (стимулювати чи пригнічувати) реакції імунітету в результаті впливу на імунокомпетентні клітини: на процеси міграції, взаємодію клітин, лімфокінів, монокінів та інтерферонів з відповідними мішенями.

Метою цієї роботи було дослідження імуномодулюючих властивостей недавно синтезованих [1, 2] фенілсульфонільних похідних піримідинових основ (1-7) та їх конденсованих аналогів (8-14), які містять піразоло[1,5-а]піримідинову систему. До першої групи субстратів віднесені похідні урацилу (1-4), 2-тіоурацилу (5), цитозину (6), 2-тіоци-

тозину (7), що містять фенілсульфонільну групу в положенні 5 піримідинового ядра. Разом з цим друга група субстратів об'єднує заміщені піразоло[1,5-а]піримідини (8-12), а також їх три- і чотириядерні аналоги (13, 14), які містять фенілсульфонільну групу в піразольному фрагменті.

Для всіх 14 споріднених похідних азотистих гетероциклів, представлених на схемі, одержані експериментальні дані про їх вплив не тільки на клітинні та гуморальні реакції імунітету, але й на неспецифічну резистентність організму.

В експерименті використовували нелінійних мишей-самок масою 15-20 г. Еквімолярні кількості досліджуваних сполук розчиняли в 0,1 мл ДМСО, аліквоту цього розчину емульгували в 2,5 мл фізіологічного розчину [3]. Тваринам внутрішньоорально вводили емульсію з розрахунку  $2 \cdot 10^{-4}$  моль відповідної сполуки на 100 г маси тіла (0,1 мл/10 г). Для контролю використовували мишей, яким замість досліджуваних сполук вводили ДМСО у фізіологічному розчині. Крім цього, для з'ясування впливу ДМСО на всі показники використовували інтактних тварин.

Через 24 год мишей декапітували і проводили кількісне дослідження ефекторних тимоцитів та спленоцитів у камері Горяєва [4]. Фагоцитарну

Таблиця

Вплив сполук на проліферативну активність імунокомпетентних клітин лімфоїдних органів та фагоцитарну активність поліморфноядерних лейкоцитів крові мишей ( $M\pm m$ ,  $n = 6$ )

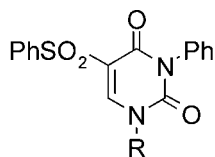
Номер сполуки	Кількість тимоцитів на 1 г тимусу $\times 10^{-8}$ (% до контролю)	Кількість спленоцитів на 1 г селезінки $\times 10^{-8}$ (% до контролю)	Кількість фагоцитів на 100 ПМЯЛ (% до контролю)
Контроль	17,8 $\pm$ 1,2	21,6 $\pm$ 0,9	61,0 $\pm$ 2,8
Інтактна група	19,0 $\pm$ 1,3	20,3 $\pm$ 1,0	62,5 $\pm$ 3,5
1	14,6 $\pm$ 0,6 (82)	23,6 $\pm$ 1,8 (109)	35,0 $\pm$ 2,8 (57)*
2	16,1 $\pm$ 0,9 (90)	24,0 $\pm$ 2,0 (111)	26,7 $\pm$ 1,7 (44)*
3	15,8 $\pm$ 1,2 (89)	22,3 $\pm$ 1,2 (103)	38,7 $\pm$ 1,9 (63)*
4	17,0 $\pm$ 1,6 (96)	24,5 $\pm$ 2,1 (113)	56,0 $\pm$ 3,1 (92)
5	28,3 $\pm$ 1,1 (159)*	18,6 $\pm$ 1,4 (86)	20,7 $\pm$ 1,6 (34)*
6	19,3 $\pm$ 1,4 (108)	21,8 $\pm$ 2,0 (101)	53,3 $\pm$ 2,6 (87)
7	18,7 $\pm$ 1,6 (105)	23,5 $\pm$ 1,5 (109)	54,3 $\pm$ 2,5 (89)
8	11,8 $\pm$ 0,8 (66)*	15,7 $\pm$ 0,2 (73)*	29,3 $\pm$ 2,0 (48)*
9	14,9 $\pm$ 1,0 (84)	11,9 $\pm$ 1,1 (55)*	33,7 $\pm$ 2,2 (55)*
10	15,7 $\pm$ 0,9 (88)	14,0 $\pm$ 1,0 (65)*	35,0 $\pm$ 2,3 (57)*
11	15,2 $\pm$ 0,9 (85)	13,1 $\pm$ 1,2 (61)*	31,7 $\pm$ 2,4 (52)*
12	19,9 $\pm$ 1,4 (112)	15,0 $\pm$ 0,6 (69)*	29,7 $\pm$ 2,0 (49)*
13	13,8 $\pm$ 0,8 (78)*	17,0 $\pm$ 1,0 (79)*	64,7 $\pm$ 2,5 (106)
14	12,0 $\pm$ 0,5 (67)*	10,5 $\pm$ 0,9 (49)*	69,3 $\pm$ 1,2 (114)*

\* Значення достовірно відрізняється від контрольного ( $p < 0,05$ ).

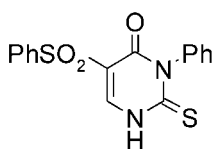
активність поліморфноядерних лейкоцитів (ПМЯЛ) крові вивчали *in vitro* [5], використовуючи культуру *Staphylococcus aureus* (штам №209). Отримані результати після статистичної обробки [6] представлені у таблиці. В інтактній і контрольній гру-

пах отримані експериментальні дані, які практично не відрізнялися ( $< 10\%$ ).

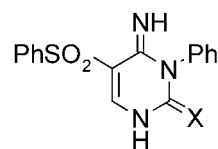
Для первинної оцінки впливу біоактивних сполук на гуморальну ланку імунної системи важливим критерієм є кількісний аналіз клітинного



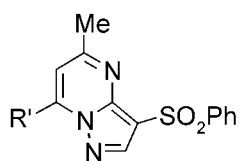
1-4



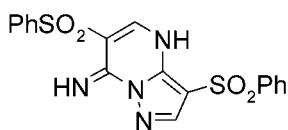
5



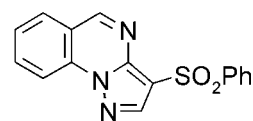
6, 7



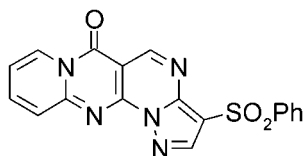
8-11



12



13



14

Схема.

R = H (1),  $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$  (2),  $\text{BrCH}_2\text{CHBrCH}_2$  (3),  $n\text{-C}_3\text{H}_7$  (4); X = O (6), S (7); R' = Me (8), HO (9),  $\text{PhCH}_2\text{NH}$  (10),  $\text{PhCH}_2\text{S}$  (11).

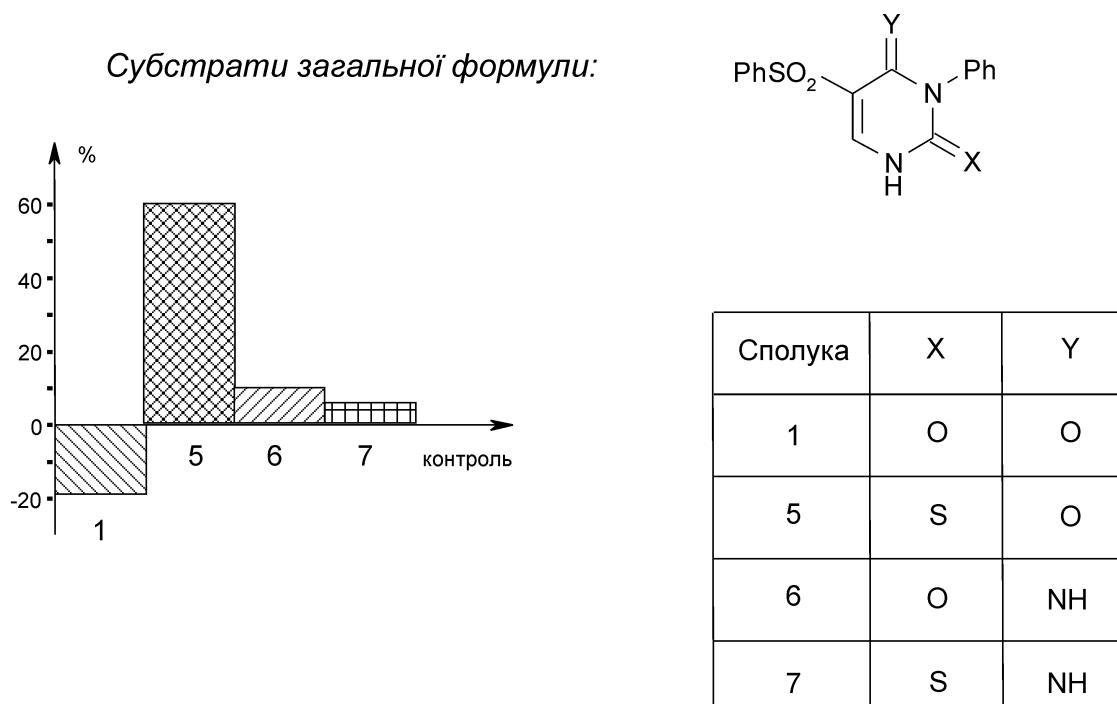


Рис. Вплив на проліферацію тимоцитів похідних урацилу та цитозину.

складу селезінки [7]. При дії ксенобіотиків на організм у селезінці відбувається проліферація стовбурових імунокомпетентних клітин, а потім у кровотоці вони диференціюються в ефекторні плазматичні клітини, здатні синтезувати специфічні антитіла. Збільшення кількості цих клітин має важливе значення для процесу формування гуморального імунітету (схема).

Жодна з досліджених сполук помітно не активувала проліферацію клітин селезінки. Моноядерні сполуки (1-7) майже не впливали на мітогенну активність спленоцитів, а інгібіторами проліферації виявились конденсовані гетероциклічні сполуки (8-14). Майже у 2 рази пригнічували процеси проліферації спленоцитів сполуки (9, 14) (на 45% і 51% відповідно).

Для оцінки стану первинного клітинного стану організму важливим є вивчення кількості тимоцитів — клітин тимусу, що є одним із головних органів імуногенезу.

Імунокомпетентні Т-клітини (тимоцити) з надзвичайно високою мітотичною активністю здатні диференціюватись у потенціальні ефектори клітинного імунітету і складають 90-95% загальної кількості клітин тимусу [8]. Зміна їх кількості може свідчити про рівень імунологічної реактивності організму.

Моно- та біядерні сполуки (1-4, 6, 7, 9-12) не впливали помітно на мітотичну активність тимоцитів, а сполуки (8, 14) пригнічували проліферацію тимоцитів, причому сполука (8) — на 34%. Тільки заміщений 2-тіоурацил (5) проявив значну стимулюючу мітогенну дію, оскільки індукція проліферації тимоцитів зросла на 59% порівняно з

відповідним похідним урацилу (див. рис.). Цікаво, що подібний ефект для споріднених похідних цитозину (6, 7) не спостерігається.

Фагоцитоз — головна захисна реакція організму є ще однією важливою складовою в системі імунітету. Фагоцитарна активність лімфоїдних клітин крові забезпечує оптимальний рівень неспецифічної резистентності організму і є обов'язковим початковим етапом індукції формування специфічної відповіді [9]. Фагоцитарну функцію здійснюють ПМЯЛ периферичної крові, які формуються та диференціюються в кістковому мозку. Потенційні імуномодулюючі властивості різних біорегуляторів оцінюють найчастіше за їх впливом на фагоцитарну активність, тобто на здатність ПМЯЛ до розпізнавання та поглинання патогенних агентів (вірусів, бактерій і т.п.). Активація або пригнічення фагоцитарної функції ПМЯЛ є одним з суттєвих показників стану антибактеріального та противірусного імунітету організму [10].

Слід відзначити, що більшість досліджених субстратів значно пригнічувала фагоцитарну активність ПМЯЛ крові (сполуки 1-3, 5, 8-12). Найбільше пригнічувала здатність ПМЯЛ до фагоцитозу сполука (5) — на 66%. Сполука (14) достовірно (на 14%) стимулювала фагоцитарну активність лейкоцитів. Не впливали на процеси фагоцитозу сполуки (4, 6, 7, 13).

Результати проведених досліджень свідчать про різнонаправлений вплив сполук на проліферативну активність клітин лімфоїдних органів та фагоцитарну активність ПМЯЛ крові.

Важливо відзначити сполуку (5), що критично пригнічує фагоцитоз (на 66%) і водночас значно

посилює проліферацію тимоцитів (на 59%). Така виражена стимуляція клітинної ланки імунітету, вочевидь, є специфічною захисною реакцією організму від токсичної дії цієї сполуки.

Проведені дослідження свідчать, що вплив на процеси проліферації імунокомпетентних клітин центральних лімфоїдних органів залежить від структури досліджених сполук. Моноциклічні сполуки, за винятком сполуки (5), як правило, не впливають на проліферацію спленоцитів і тимоцитів, а введення у структуру додаткових циклів приводить до набуття сполуками нових властивостей — здатності пригнічувати проліферативні процеси.

У той же час ці сполуки різнонаправлено впливали на фагоцитоз, що свідчить про складний характер залежності між їх структурою та здатністю модулювати стан неспецифічної резистентності організму.

Робота виконана завдяки фінансовій підтримці Українського науково-технологічного центру [проект 3017(R)].

#### Висновки

1. Первинний скринінг 14 арилсульфонільних похідних піримідинових та піразоло[1,5-а]піримідинових основ показав складну залежність реактивності всіх ланок імунної системи мишей від будови цих сполук.

2. Моноядерні 5-фенілсульфонільні похідні піримідинових основ та їх конденсовані аналоги по-різному відносяться до проліферації спленоцитів. Перші з них майже не впливають на неї, а другі — значно її пригнічують.

3. 3-Фенілсульфоніл-2-тіоурацил суттєво індукує проліферацію тимоцитів, а відповідний урацильний аналог проявляє лише слабку мітогенну активність.

#### Література

1. Сливчук С.Р., Русанов Э.Б., Броварец В.С. // *ЖОФХ* — 2006. — Т. 4, №3. — С. 62-68.
2. Сливчук С.Р., Броварец В.С., Драч Б.С. // *Доп. НАН України*. — 2006. — №3. — С. 146-152.
3. *Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ* / Сост. С.М.Дрогозов, Н.А.Мохорт, Б.М.Клебанов, И.А.Зупанец. — К.: Фармкомитет МЗ Украины, 1993. — 27 с.
4. *Справочник по клиническим лабораторным методам исследования* / Под ред. Е.А.Коста. — М.: Медицина, 1968. — С. 38-40.
5. *Справочник по клиническим лабораторным методам исследования* / Под ред. Е.А.Коста. — М.: Медицина, 1968. — С. 78-80.
6. Сепетлиев Д. *Статистические методы в научных медицинских исследованиях* / Под ред. А.М.Меркова. — М.: Медицина, 1968. — 420 с.
7. Петров Р.В. *Иммунология*. — М.: Медицина, 1987. — С. 98-99.
8. Бернет Ф. *Клеточная иммунология* / Пер. с англ. — М.: Мир, 1971. — 537 с.
9. Дуглас С.Д., Кук П.Г. *Исследование фагоцитоза в клинической практике*. — М.: Медицина, 1983. — 112 с.
10. Семенов Б.Ф., Каулен Д.П., Баландин И.Г. *Клеточные и молекулярные основы противовирусного иммунитета*. — М.: Медицина, 1981. — 138 с.

Надійшла до редакції 30.07.2007 р.