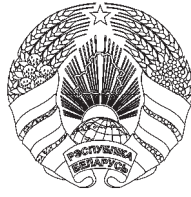


**ОПИСАНИЕ  
ИЗОБРЕТЕНИЯ  
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **19658**

(13) **С1**

(46) **2015.12.30**

(51) МПК

**A 61K 31/7028** (2006.01)

**A 61P 37/02** (2006.01)

(54) **СРЕДСТВО, ИЗМЕНЯЮЩЕЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ  
ТИМУСА И СЕЛЕЗЕНКИ И СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ОБМЕН  
СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ЛИМФОЦИТАХ**

(21) Номер заявки: а 20121404

(22) 2012.10.08

(43) 2014.06.30

(71) Заявители: Шейбак Владимир Михайлович; Павлюковец Анастасия Юрьевна; Мацюк Ярослав Романович (ВУ)

(72) Авторы: Шейбак Владимир Михайлович; Павлюковец Анастасия Юрьевна; Мацюк Ярослав Романович (ВУ)

(73) Патентообладатели: Шейбак Владимир Михайлович; Павлюковец Анастасия Юрьевна; Мацюк Ярослав Романович (ВУ)

(56) JOO S.-S. et al. Archives of Pharmacal Research. - 2002. - V. 25. - No. 4. - P. 457-459.

US 2010/0190729 A1.

HU W. et al. Journal of Wood Science. - 2011. - V. 57. - No. 4. - P. 323-324.

HU W. et al. Biotechnology and Bioprocess Engineering. - 2011. - V. 16. - No. 1. - P. 120-121.

ROZE L. et al. Environment. Technology. Resources Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Scientific and Practical Conference. - 2011. - V. 1. - P. 329-332.

DE 10247476 A1, 2004.

(57)

Применение 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозида в качестве средства, изменяющего гистологическую структуру тимуса и селезенки и стимулирующего обмен свободных аминокислот в лимфоцитах.

Изобретение относится к области медицины, а именно к иммунофармакологии, и может быть использовано для модуляции иммунной функции.

Известны иммуностропные лекарственные препараты, обладающие аналогичным действием, к таким относятся препараты биогенного происхождения: зимозан (полисахариды, получаемые из культуры дрожжей); рибомунил (бактериальные рибосомы); бронхомунал (лиофилизат бактерий); тималин, тактивин, тимоптин, тимоген - растворы и лиофилизаты для подкожного и внутримышечного введения [3].

Недостатком данных препаратов является наличие ряда противопоказаний, одним из которых является индивидуальная повышенная чувствительность и противопоказания применения в детском возрасте. Некоторые иммуностропные препараты биогенного происхождения могут привести к развитию аутоиммунных расстройств, аллергий или лейкопролиферативных реакций [5].

Обладают аналогичным действием и иммуномодуляторы, полученные методом химического синтеза - метилурацил, лейкоген (стимуляторы лейкопоеза); арбидол (противовирусное средство); леакадин (таблетки и раствор для инъекций); диуцифон (раствор для инъекций); левомизол (таблетки) [4].

Недостатком является то, что использование иммуностимулирующих свойств лева-мизола тормозится его весьма высокой токсичностью (ЛД<sub>50</sub> для мышей при подкожном

введении 12 мг/кг, при введении внутрь 285 мг/кг), отсутствием оптимальных схем назначения и частыми побочными реакциями, которые ставят под сомнение возможность широкого использования препарата, особенно в педиатрии [4].

Наиболее близкими к предлагаемому изобретению являются иммуномодуляторы растительного происхождения: экстракт элеутерококка, алоэ, настойка женьшеня; иммунал (сок эхинацеи пурпурной); тонзилгон (комбинированный препарат из растений) [1]. Из известных препаратов растительного происхождения иммуномодулирующие свойства наиболее изучены у препаратов элеутерококка и женьшеня.

Недостатком является то, что данные об иммуностропном действии этих препаратов отличаются большой противоречивостью. Немаловажным является также и то, что ареалами распространения элеутерококка колючего и женьшеня являются Дальний Восток, Приморский край и Южный Сахалин, а женьшень и его препараты преимущественно импортируются [2].

Задача изобретения - расширение арсенала средств, обладающих иммуномодулирующим действием (изменяющих гистологическую структуру тимуса и селезенки и стимулирующих обмен свободных аминокислот в лимфоцитах).

Поставленная задача решается применением 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид (диарилгептаноид) в качестве препарата, изменяющего гистологическую структуру тимуса и селезенки и стимулирующего обмен свободных аминокислот в лимфоцитах.

Диарилгептаноид 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид (диарилгептаноиды - класс природных продуктов на основе 1,7-дифенилгептана), полученный из экологически чистого сырья - коры серой ольхи (*Alnus incana*), имеющей химическую формулу 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-3-one-hydroxyheptane-5-O-β-D-xylopyranoside. Ранее доказано, что 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид оказывает благоприятное действие на человеческий организм, нормализует обмен веществ на клеточном уровне и способствует детоксикации организма, а также показан его антибактериальный эффект в отношении патогенной микрофлоры [6].

Однако из известных сведений не вытекает с очевидностью, что 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид изменяет гистологическую структуру тимуса и селезенки и стимулирует обмен свободных аминокислот в лимфоцитах.

Приводим доказательства возможности использования изобретения. Экспериментальные исследования выполнены на белых беспородных крысах-самцах с массой 120-140 г. Животным в течение 10 дней внутрижелудочно вводили 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид в дозе 5 мг/кг массы тела в сутки. Декапитацию животных проводили через 3 ч, 24 ч или на 11 сутки. После декапитации для исследования использовались ткани и лимфоциты селезенки и тимуса. С целью изучения биосинтетической активности проводили определение свободных аминокислот в хлорнокислых экстрактах диализатов лимфоцитов производили методом обращеннофазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Для выявления ответной реакции со стороны основных органов иммунной системы выполняли морфологические исследования тимуса и селезенки проводили в парафиновых срезах окрашенных гематоксилин-эозином.

В результате внутрижелудочного введения водного раствора 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид визуально отмечено увеличение размеров долек тимуса. Последнее происходило за счет увеличения ширины коркового вещества, что отразилось в увеличении соотношения коркового и мозгового вещества у крыс получавших 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид до  $7 \pm 0,5$  с  $5 \pm 0,85$  в контрольной группе. В корковом слое локализованы развивающиеся Т- лимфоциты. Между ними чаще, чем в контрольной группе, встречаются макрофаги. В середине

коркового вещества, встречаются лимфобласты, выделяющиеся более крупными размерами и слабо базофильной, в виде ободка, цитоплазмой. Увеличивается кровенаполнение тимуса. Вследствие увеличения коркового слоя, размеры мозгового вещества в дольке уменьшены. В последнем чаще встречаются клетки эпителиальной стромы и макрофаги, увеличено количество телец Гассала. Исходя из результатов, можно утверждать, что увеличение размеров коркового вещества долек, клеточной плотности (Т-лимфоциты) и повышенного количества в мозговом веществе специфических тимусных телец, свидетельствует об активации функционального состояния органа, регулирующего созревание и развитие клеток иммунной системы под влиянием 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозида.

Структура капсулы и соединительнотканых септ селезенки после введения 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозида существенно не отличается от контроля. Красная пульпа животных, получавших 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозид увеличивается в объеме, что отражается уменьшением индекса объемной плотности белой пульпы к красной (с  $35 \pm 0,06$  в контрольной группе до  $0,15 \pm 0,02$  в опытной). Пульпарные тяжи более широкие и в большей степени перегружены лимфоцитами. Венозные синусы в опытной группе в меньшей степени перегружены эритроцитами. Одновременно, мегакарициты встречаются реже, чем в контроле. Белая пульпа крыс получавших 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозид составляет  $17 \pm 0,8$  % от общей площади среза, тогда как в контрольной группе -  $25 \pm 3,1$  %. Размер белой пульпы определяет количество незрелых клеток, развитие которых происходит в селезенке. Уменьшение размеров мальпигиевых телец, более отчетливая выраженность зон, особенно герминативного центра, уменьшение численной плотности лимфоцитов в мантийной и красных зонах и увеличение ее в пульпарных тяжах, позволяет предположить, что белая пульпа под воздействием 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозида более активно включается в иммунную реакцию.

Об иммунотропном действии 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозида свидетельствует и обнаруженное изменение структуры пула аминокислот в лимфоцитах тимуса и селезенки. Однократное введение 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозида через 3 ч приводит к увеличиваются уровней аминокислот определяющих скорость биосинтеза белка (метионин, лизин) в лимфоцитах тимуса. Через 10 дней после введения 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозида происходит достоверное увеличение соотношения заменимые/незаменимые аминокислоты (табл. 1), что свидетельствует об активном использовании последних на биосинтетические нужды клетки.

Таблица 1

**Содержание протеиногенных аминокислот в лимфоцитах тимуса крыс после внутрижелудочного введения 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозида (5 мг/кг) нмоль/10<sup>6</sup>клеток (M ± m)**

Показатель	Контроль	1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозид 3 ч	1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиринозид 24 ч	1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-гептан-5-О-β-D-ксилопиринозид 10 д
Метионин	$0,08 \pm 0,023$	$0,14 \pm 0,013^*$	$0,13 \pm 0,054$	$0,03 \pm 0,01$
Изолейцин	$0,78 \pm 0,134$	$0,62 \pm 0,134$	$0,46 \pm 0,019^*$	$0,76 \pm 0,277$
Лизин	$0,91 \pm 0,091$	$1,53 \pm 0,159^*$	$2,13 \pm 0,526^*$	$1,39 \pm 0,474$
ЗА/НА	$3,3 \pm 0,15$	$3,3 \pm 0,13$	$3,3 \pm 0,3$	$4,7 \pm 0,31^*$

\* - достоверно относительно контрольных значений (p < 0,05).

В лимфоцитах, выделенных из селезенки после введения 1,7-бис-(3,4-дигидроксибензил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид в целом наблюдается подобная реакция (табл. 2).

Таблица 2

**Содержание протеиногенных аминокислот в лимфоцитах селезенки крыс после внутрижелудочного введения 1,7-бис-(3,4-дигидроксибензил)-гептан-3-он-5-О-β-D ксилопиранозид (5 мг/кг) нмоль/10<sup>6</sup>клеток (M ± m)**

Показатель	Контроль	1,7-бис-(3,4-дигидроксибензил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид 3 ч	1,7-бис-(3,4-дигидроксибензил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид 24 ч	1,7-бис-(3,4-дигидроксибензил)-гептан-3-он-5-О-β-D-ксилопиранозид 10 суток
Серии	1,6 ± 0,25	1,4 ± 0,26	0,8 ± 0,18*	4,3 ± 0,96*
Треонин	0,8 ± 0,12	0,9 ± 0,12	1,2 ± 0,40	1,7 ± 0,36*
Гирозин	0,6 ± 0,11	0,5 ± 0,09	0,3 ± 0,06*	0,6 ± 0,20
Фенилаланин	0,8 ± 0,14	0,6 ± 0,07	0,4 ± 0,05*	0,8 ± 0,19
Изолейцин	1,2 ± 0,27	0,7 ± 0,07	0,5 ± 0,11*	1,0 ± 0,31
Орнитин	0,4 ± 0,07	0,40 ± 0,07	0,23 ± 0,04*	1,17 ± 0,28*
ЗА/НА	3,6 ± 0,27	3,8 ± 0,29	4,7 ± 0,27*	4,7 ± 0,19*
АРУЦ % от ∑ НА	59,3 ± 1,65	55,5 ± 0,97	52,4 ± 1,84*	53,3 ± 1,4*
Аргинин/цитруллин	2,6 ± 0,19	3,6 ± 0,45	4,3 ± 0,52*	3,4 ± 0,13
Аргинин/орнитин	2,0 ± 0,08	1,9 ± 0,21	2,2 ± 0,24	0,8 ± 0,22*

\* - достоверно относительно контрольных значений (p < 0,05).

Таким образом, проведенные исследования доказывают, что заявляемое средство действительно влияет на клеточные реакции и биохимические процессы в центральных органах иммунитета - тимусе и селезенке.

Источники информации:

1. Бакуридзе А.Д., Курцикидзе М.Ш., Писарев В.М. и др. Иммуномодуляторы растительного происхождения (обзор) // Хим.-фармацевт. журнал. - М. - 1993. - № 8. - С. 43-47.
2. Наумова Э. Элеутерококк за границей и дома. // Химия и Жизнь. - 1981. - № 3. - С. 44-47.
3. Новиков Д.К., Деркач Ю.Н., Новиков П.Д. Иммунотропные лекарства // В мире лекарств. - М. - 1999. - 2(4). - С. 48-58.
4. Сибиряк С.В. Иммуностимуляторы и аутоиммунитет // Фармакология и токсикология. - 1990. - № 3. - С. 67-72.
5. Ширинский В.С., Жук Е.А. Проблемы иммуностимулирующей терапии // Иммунология. - 1991. - № 3. - С. 7-10.
6. Dizhbite T., Telysheva G., Krasilnikova J., Bikovens O. Oregonin-rich fractions of *Alnus incana* bark - potential health effects // In: 4th International Conference on Polyphenols and Health, Harrogate, UK, 7th to 11th December Harrogate, UK. - 2009. - P. 282.