

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **12504**

(13) **С1**

(46) **2009.10.30**

(51) МПК (2006)

A 61K 35/56

(54) **СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ**

(21) Номер заявки: а 20070709

(22) 2007.06.11

(43) 2009.02.28

(71) Заявитель: Учреждение образования
"Гродненский государственный ме-
дицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Горецкая Марианна Викто-
ровна; Шейбак Владимир Михайло-
вич; Чиркин Александр Александр-
ович (ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение обра-
зования "Гродненский государствен-
ный медицинский университет" (ВУ)

(56) RU 2200023 C1, 2003.
RU 2038089 C1, 1995.
RU 2182488 C1, 2002.
RU 2177784 C2, 2002.
RU 2138271 C1, 1999.
RU 2102 988 C1, 1998.

(57)

Применение водного экстракта куколок шелкопряда в качестве средства, обладающе-
го иммуномодулирующей активностью.

Изобретение относится к области медицины, а именно к лекарственным средствам.

Близким к предлагаемому препарату является препарат α_1 -тимозин, который интенсифицирует фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов, активизирует неспецифическую резистентность и процессы регенерации тканей. Способствует повышению количества Т-лимфоцитов и их функциональной активности [Дранник Г.Н., Гриневич Ю.А./, Дизик Г.М. Иммуно-
тропные препараты. - Киев, 1994. - С. 287].

Недостатком известного препарата является то, что масштабное расширение его про-
изводства и медицинского применения оказалось затруднительным из-за сложности хи-
мического синтеза пептидов, недостаточной стабильности этих соединений и наличия в
его структуре полифункциональных участков [Лебедев В.В. Имунофан - синтетический
пептидный препарат нового поколения: иммунологические и патологические аспекты
клинического применения // Иммунология. - 1999. - № 1. - С. 25-30]. Кроме того, после
введения α_1 -тимозина наблюдаются кратковременные гипертермические реакции, по-
краснение места инъекции; в нативных препаратах могут обнаруживаться неучтенные
ростовые факторы, что служит противопоказанием для его использования беременными
женщинами [Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. А.В.Караулова. - М.:
Медицинское информационное агенство, 2002. - С. 651].

Близким к предлагаемому препарату является препарат бестатим-дипептид из мемб-
раны Streptococcus olivoreticuli, который активирует НК-клетки, фагоциты, синтез интер-
лейкина-2 [Новиков Д.К., Новикова В.И., Деркач Ю.Н., Новиков П.Д. Основы иммуно-
коррекции. - М. Витебский мединститут, 1998. - С. 106].

Недостатком известного препарата является то, что в качестве побочных эффектов
может вызывать тошноту, рвоту, понос, кожные высыпания, зуд, умеренную алопецию,
головную боль, онемение и неприятный вкус во рту, отек лица. Основным противопоказа-
нием для его применения является беременность.

Наиболее близким к предлагаемому препарату является препарат аминокровин, представляющий раствор аминокислот и низкомолекулярных пептидов, полученный в результате гидролиза белков плацентарной крови человека. Он относится к иммунотерапевтическим препаратам неспецифического действия. Оказывает питательное и стимулирующее действие. Имеет слабые антигенные и пирогенные свойства, нетоксичен [Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. А.В.Караулова. - М.: Медицинское информационное агентство, 2002. - С. 651].

Недостатком известного препарата является то, что в качестве побочных эффектов может вызывать озноб, повышение температуры, тошноту, рвоту.

Задачей изобретения является расширение арсенала иммуномодулирующих средств с высоким терапевтическим индексом.

Указанная задача достигается тем, что применяется водный экстракт куколок шелкопряда в качестве средства, обладающего иммуномодулирующей активностью.

Приводим доказательства возможности осуществления изобретения.

Водный экстракт куколок шелкопряда содержит свободные и незаменимые аминокислоты в концентрации 15 г/л. В табл. 1 представлены данные об изменении фагоцитарной активности нейтрофилов крови при культивировании *in vitro* с экстрактом куколок дозами 0,1 мкг/мл и 0,01 мкг/мл. В круглодонных пластиковых планшетах инкубировали в течение часа в равных объемах цельную кровь, экстракт куколок и взвесь стафилококка. В контрольные пробы вместо экстракта куколок вносили физиологический раствор. Готовили мазки. Окрашивали по Романовскому-Гимзе. Производили подсчет количества нейтрофилов в процентах, захвативших в процессе фагоцитоза более трех стафилококков (фагоцитарное число - ФЧ), а также количество поглощенных стафилококков каждым нейтрофилом (фагоцитарный индекс - ФИ).

Таблица 1

Фагоцитарная активность нейтрофилов крови при культивировании *in vitro* с различными дозировками водного экстракта куколок

Группы	ФЧ %			ФИ		
	M±m	min	max	M±m	min	max
Контроль	68,2±1,77	63	74	7,92±0,74	6,3	10,2
Экстракт куколок 0,1 мкг/мл	83,2±2,96*	75	90	13±1,24*	8,8	15,7
Экстракт куколок 0,01 мкг/мл	73±2,72	66	81	8,46±0,42	7,3	9,9

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

Из табл. 1 видно, что экстракт куколок в дозе 0,1 мкг/мл оказывал стимулирующий эффект на фагоцитарную активность нейтрофилов. Так, фагоцитарное число увеличилось на 22 %, а фагоцитарный индекс - на 64 % по сравнению с контрольными значениями. Десятикратное снижение дозы экстракта куколок (0,01 мкг/мл) не выявило существенных изменений, хотя следует отметить его небольшой стимулирующий эффект в пределах 10 %. Это касается как фагоцитарного числа, так и фагоцитарного индекса.

В табл. 2 представлены данные по функциональной активности нейтрофилов крови крыс-самок массой 180-190 г. В данном эксперименте за трое суток до резки крысам однократно внутрибрюшинно вводили экстракт куколок в дозе 100 мг/кг. На 4-е сутки при оценке фагоцитарной активности отмечено увеличение фагоцитарного числа на 20 % по сравнению с контрольными значениями. Одновременно наблюдали повышение фагоцитарного индекса на 70 % (табл. 2).

В табл. 3 представлены данные функциональной активности нейтрофилов перитонеальной жидкости крыс-самок массой 180-190 г. За трое суток до резки крысам однократно внутрибрюшинно вводили экстракт куколок в дозе 100 мг/кг. Перед резкой крысам внутрибрюшинно вводили 10 мл раствора Хенкса с гепарином. Отбирали перитонеальную жидкость с резидентными и мигрировавшими клетками. Ставили реакцию фагоцитоза со стафилококками. Через час определяли фагоцитарное число и фагоцитарный индекс. В

фагоцитах отмечали выраженную тенденцию к снижению фагоцитарного индекса на 21 % и фагоцитарного числа на 10 %.

Таблица 2

**Фагоцитарная активность нейтрофилов крови после однократного
внутрибрюшинного введения водного экстракта куколок в дозе 100 мг/кг**

Параметры	Контроль			Опыт		
	M±m	min	max	M±m	min	max
ФЧ %	69,6±1,43	65	73	83±1,92*	76	87
ФИ	8,24±0,37	7	9,3	13,98±0,87*	11,4	16,3

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

Таблица 3

**Фагоцитарная активность нейтрофилов перитонеальной жидкости после
однократного внутрибрюшинного введения экстракта куколок в дозе 100 мг/кг**

	Контроль			Опыт		
	M±m	min	max	M±m	min	max
ФЧ %	65,8±2,10	62	73	59,0±2,08	55	62
ФИ	6,18±0,52	4,6	7,2	4,9±0,47	4,2	5,8

Таким образом, однократное внутрибрюшинное введение водного экстракта куколок вызвало разнонаправленный эффект в отношении функциональной активности нейтрофилов, а именно: в крови фагоцитоз нейтрофилов усиливался, в то время как в перитонеальной полости - снижался.

В табл. 4 представлены данные об изменении фагоцитарной активности нейтрофилов крови после десятикратного введения водного экстракта куколок в дозе 100 мг/кг. Водный экстракт куколок вводили внутривентрикулярно, один раз в день крысам массой 45-80 г. Контрольным животным осуществляли введение физиологического раствора в аналогичном режиме. Крысы были декапитированы под легким эфирным наркозом, через 24 ч после последнего введения экстракта. В результате эксперимента отмечали увеличение как фагоцитарного числа (на 23 %), так и фагоцитарного индекса (на 34 %) по сравнению с контрольными значениями.

Таблица 4

**Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов после курсового
внутрибрюшинного введения экстракта куколок в дозе 100 мг/кг**

Показатель	Контроль			Опыт		
	M±m	min	max	M + m	min	max
ФЧ %	69,67±1,45	65	75	82,17±12,74*	71	90
ФИ	8,50±0,38	7,7	10,3	11,42±0,91*	8,5	14,5

Таким образом, водный экстракт куколок оказывает иммуномодулирующее действие на клетки иммунной системы. Эффект отмечается как в тестах in vitro, так и в тестах in vivo. Положительный результат наблюдали и при различных способах введения - внутривентрикулярном и внутрибрюшинном. Очевидно, что водный экстракт куколок стимулирует функциональную активность нейтрофилов крови и одновременно подавляет активность нейтрофилов перитонеальной полости. В этом проявляется модулирующий эффект экстракта. Следовательно, водный экстракт куколок обладает иммуномодулирующей активностью и разнонаправленно влияет на функциональную активность иммунокомпетентных клеток.