

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ
НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР»**

На правах рукописи

УДК: 577.1:669.5+669.58



Раджабов Файзали Файзуллоевич

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ
ЭФФЕКТИВНОСТИ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ
ИММУНОАКТИВНЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ С
ИОНАМИ СЕРЕБРА, МЕДИ (II) И ЦИНКА (II)**

ДИ С С Е Р Т А Ц И Я

на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4. – Химия (1.4.12. – Биоорганическая химия)

Научный руководитель:
доктор биологических и
фармацевтических наук, академик
Бобизода Гуломкодир Мукамал

Душанбе-2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАНИЯ	8
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Современное состояние данных о строении и роли тимуса в организме.....	13
1.1.1. Строение и функции тимуса.....	13
1.1.2. Связь тимуса и нервной системы.....	30
1.1.3. Взаимодействие иммунной и нервной систем.....	31
1.1.4. Применение тимусных пептидов в лечении различных заболеваний.....	37
1.1.5. Препараты на основе координационных соединений металлов с тимусными пептидами.....	43
Выводы по первой главе.....	47
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.	
2.1. Используемые препараты.....	54
2.2 Синтез и характеристика комплексов Zn(II) (1-6).....	54
2.2.1.Получение Zn(OH) ₂	54
2.2.2. Синтез комплексов Zn(II) (1-4).....	55
2.2.3. Синтез комплексов Zn(II) (5-6).....	56
2.2.4. Исследование антибактериальной активности.....	56
2.3. Изучение эффективности применения тимоцина при псориазе.....	58
2.4. Изучение влияния тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите.....	62
2.5. Методика изучения токсических и фармакологических свойств и получение комплексов на основе аминокислоты аргинина и изолейцил-триптофана с ионами меди и серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота.....	62
2.6. Методика проведения изучения влияния комплексов изолейцил триптофана с ионами серебра и цинка на показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите.....	65
2.7. Терапевтические свойства комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота.....	66
2.8. Методика изучения влияния координационных соединений изолейцил триптофана с ионами меди и серебра на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита	

телят.....	67
2.9. Методика изучения влияния биокоординационных соединений изолейцил триптофана с ионами меди и серебра на эффективность лечения телят при диарее.....	69
Выводы по второй главе.....	70
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	
3.1. Получение и изучение комплексов цинка с аминокислотами.....	72
3.1.1. Предпосылки для создания комплексов металлов с аминокислотами и пептидами.....	72
3.1.2. Получение Zn(II) 1-6.....	89
3.2. Изучение токсичности и антиоксидантной активности комплексов пептидов с серебром.....	96
3.3. Эффективность применения тимоцина при псориазе.....	100
3.4. Влияние тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите.....	104
3.5. Изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота.....	107
3.6. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите.....	116
3.7. Терапевтические свойства координационных соединений серебра и дипептида H-Pe-Trp-OH при лечении герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота.....	121
3.8. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят.....	128
3.9. Сравнительное изучение влияния тимоцина и тимоарга на эффективность лечения телят при диарее.....	137
Выводы по третьей главе.....	143
Выводы.....	155
Рекомендации по практическому применению результатов.....	156
ЛИТЕРАТУРА.....	157
Список публикаций по теме диссертации.....	171
Приложение.....	176

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБТС – 2,2'-азинобис 3-этилбензо-тиазолин-6-сульфонат

АЛТАТ – аланинаминотрансфераза

АСАТ – аспартатаминотрансфераза

АМП – антимикробные пептиды

БАСК – бактериальная активность сыворотки крови

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДДП – Цисплатин.

ДФПГ – 2, 2-дифенил-1-пикрилгидразил

ИРТ – инфекционный ринотрахеит

КРС – крупный рогатый скот

КСИАА – координационные соединения иммуноактивных аминокислот

МБцК – минимальная бактерицидная концентрация

МЛУ – множественная лекарственная устойчивость

ЦИК – Циркулирующие иммунные комплексы.

ТР – Пептиды тимуса.

ФАН – фагоцитарная активность нейтрофилов

ADR – Adverse drug reactions (Побочные реакции на лекарства).

AST – Anticipated survival time (Ожидаемое время выживания).

BRMs – Biological response modifiers (Модификаторы биологической реакции).

CBMD – China Biological Medicine Database (Китайская база данных биологической медицины).

СВР – Carboplatin (Карбоплатин).

CI – Condence intervals (Доверительные интервалы).

CNKID – China National Knowledge Infrastructure Database (Национальная база данных инфраструктуры знаний Китая).

CR – Complete response (Полный ответ).

CTCAE – Common Terminology Criteria for Adverse Events (Критерии общей терминологии для нежелательных явлений).

GRADE approach – Grades of Recommendation Assessment, Development and Evaluation approach (Подход к оценке, разработке и оценке степеней рекомендаций).

DPPH – 2, 2-дифенил-1-пикрилгидразил

HR – Hazard ratio (Коэффициент опасности).

L-OHP – Oxaliplatin (Оксалиплатин).

MHC – Главный комплекс гистосовместимости.

MPE – Malignant pleural effusion (Злокачественный плевральный выпот).

MRSA - метициллин-резистентный золотистый стафилококк

NEL – Nonexpendable lung (Одноразовое легкое).

NR – Noreponse Без отклика.

PD – Progressive disease (Прогрессирующее заболевание).

PR – Partial response (Частичный ответ).

pTE – Puried thymus extracts (Очищенные экстракты тимуса).

QOL – Quality of life (Качество жизни).

SD – Stable disease (Стабильное заболевание).

SMD – Standardized mean difference (Стандартизованная разница средних значений).

SM – Statistical method (Статистический метод).

sTP – Synthetic thymic peptides (Синтетические пептиды тимуса).

T α 1 – Thymosin alpha 1 (Тимозин альфа 1).

TCM – Traditional Chinese medicine (Традиционная китайская медицина).

TCR – Т-клеточные рецепторы

TRAEs – Thoracentesis-related adverse events (Нежелательные явления, связанные с торакоцентезом).

VATS – Video-assisted thoracoscopic surgery (Видеоассистированная торакоскопическая хирургия).

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. На основе природных биологически активных веществ, за последнее время разработано заметное количество синтетических лекарственных средств. Большую часть среди них занимают иммуномодулирующие препараты, в том числе на подобие пептидов тимусного происхождения. Наиболее эффективны препараты, содержащие в качестве действующих веществ пептиды, аналогичные или обладающие активностью тимусных гормонов. В экстрактах тимуса содержатся триптофан и лизинсодержащие дипептиды, обладающие иммуотропной активностью. Эти пептиды оказывали самое сильное активирующее действие на выработку Т-хелперов, но не влияли на выработку Т-супрессоров, кроме дипептида Н-Ile-Trp-OH. Некоторые пептиды явились основой для производства новых препаратов, оказывающих модулирующее влияние при лечении различных заболеваний, сопровождающихся их нарушениями вследствие того, что они оказывают влияние на различные звенья иммунитета. Примерами таких препаратов являются тимоген (Н-Glu-Trp-OH), вилон (Н-Lys-Glu-OH), тимогар (Н-Ile-Trp-OH). Сравнительно новым направлением в разработке иммуномодулирующих препаратов является получение координационных соединений иммуноактивных аминокислот и пептидов с металлами, играющими важную роль в функционировании иммунной системы, одними из которых являются железо и цинк. У таких комплексов отмечается более высокая специфическая активность и появляются новые виды биологической активности, обусловленные суммарной активностью пептидов и металлов, по сравнению с начальными дипептидами и аминокислотами.

Изучение свойств координационных соединений цинка и железа с иммунологически активным дипептидом Н-Ile-Trp-OH привело к созданию препаратов и тимофер, на основе их координационных соединений, которые обладали в 2-8 раз большей активностью относительно исходного дипептида.

К настоящему времени установлено, что такие аминокислоты, как лизин, аргинин, триптофан, глутаминовая кислота, глицин и их смеси обладают иммунологической активностью. Данные о биологической активности координационных соединений этих аминокислот с серебром, цинком и медью в научной литературе или отсутствуют или противоречивы.

В связи с этим, изучение комплексообразования лизина, триптофана и глутаминовой кислоты с ионами серебра, как новые активные соединения и исследование иммунологической активности указанных координационных соединений является актуальным и имеет большое практическое значение.

Степень изученности научной темы. В научной литературе широко представлены исследования, посвящённые иммунноактивным низкомолекулярным пептидам и их роли в регуляции врождённого и адаптивного иммунитета, противовоспалительных процессах и антимикробной защите. Основные механизмы биологической активности и иммуномодулирующих свойств пептидов отражены в работах В.М. Петренко, [3], Г.М. Бобиев [1], F. Hadjer [9], C.F. Macrae [8] и других исследователей.

Одновременно активно развивается направление, связанное с изучением координационных соединений биологически активных молекул с ионами терапевтически значимых металлов. В трудах Н.Д. Бунятян, [2], Б.М. Холназаров [4], E. Aryal [5], S. Premlata, [6], В.А. Trzaskowski [7] и др. показано, что комплексообразование с ионами металлов способно существенно изменять фармакологические свойства пептидов, включая их стабильность, биодоступность и биологическую активность.

Отдельные исследования посвящены комплексам пептидов с ионами серебра, меди (II) и цинка (II), обладающими антимикробными и иммуномодулирующими свойствами. Однако большинство работ носит фрагментарный характер и не содержит системного сравнительного анализа терапевтической эффективности таких соединений. Недостаточно изучены

вопросы сопоставления их иммуномодулирующего действия, стабильности и безопасности в единых экспериментальных условиях.

В связи с этим проблема сравнительной оценки терапевтической эффективности координационных соединений иммуноактивных низкомолекулярных пептидов с ионами серебра, меди (II) и цинка (II) остаётся недостаточно разработанной, что определяет актуальность, цели и задачи настоящего исследования.

Связь исследований с программами (проектами) или научными темами. Диссертационная работа была выполнена в Государственном учреждении «Научно-исследовательский фармацевтический центр» (ГУ «НИФЦ») МЗ и СЗН РТ в рамках плана реализации Государственной программы развития фармацевтической промышленности в Республики Таджикистан на 2021-2025 годы (Постановление Правительства Республики Таджикистан от 28 октября 2020 №569) – «Пункт 31. Производство (синтез) фармацевтических активных веществ и получение субстанции из отечественных лекарственных растений», и была направлена на анализ и обработку фармацевтических веществ и процессов. Диссертационная тема посвящена исследованию и совершенствованию методов разработки лекарственных средств и иммуномодуляторов, а также эффективному использованию ресурсов фармацевтических материалов. Проведенная работа направлена на создание новых высокоэффективных лекарственных средств, что имеет важное значение для улучшения системы здравоохранения и развития импортозамещения в фармацевтической отрасли.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель исследования – изучение сравнительной эффективности координационных соединений иммуноактивной аминокислоты аргинина и дипептида изолейцил-триптофан с ионами цинка, меди и серебра при различных заболеваниях, сопровождающихся иммунодефицитными состояниями.

Задачи исследования:

- оценка влияния координационных соединений иммуноактивных аминокислот (КСИАА) на биохимические показатели при лечении псориаза;
- изучение эффективности применения КСИАА при кожных заболеваниях;
- определение биологической активности полученных новых КСИАА с ионами серебра и меди (II) при различных заболеваниях животных;
- сравнение активности различных препаратов на основе КСИАА с ионами серебра, меди (II) и цинка.

Объектом исследования являются лабораторные (белые мыши, кролики) и сельскохозяйственные животные (телята), а также больные, псориазом, люди.

Предметом исследования являются препарат и КСИАА аргинина и дипептида изолейцил-триптофан с цинком, серебром и медью.

Научная новизна исследования заключается в том, что:

- получены КСИАА аргинин с цинком, серебром и медью;
- показано, что они обладают иммунологической активностью и могут применяться при лечении различных заболеваний человека и животных;
- впервые проведено сравнительное исследование биологической активности синтезированных КСИАА, что позволило выявить зависимость между структурой комплекса, типом центрального иона и выраженностью биологического эффекта.

Теоретическая и практическая значимость исследования состоит в том, что доказано наличие иммунологической активности у комплексов некоторых иммунологически активных аминокислот с ионами серебра и меди (II) и возможность их применения при лечении и вакцинопрофилактике различных заболеваний животных.

Основные положения выносимые на защиту:

- Разработка и экспериментальное обоснование методов получения координационных соединений цинка (II) с аминокислотами и низкомолекулярными пептидами, а также комплексов аргинина и дипептида Н-Ile-Trp-OH с ионами серебра и меди (II), обладающих устойчивостью и воспроизводимыми физико-химическими характеристиками, что подтверждает возможность целенаправленного синтеза биокоординационных соединений иммуноактивной направленности.
- Экспериментальное доказательство приемлимого уровня токсичности, выраженную антиоксидантную, антибактериальную и фармакологическую активности КСИАА с ионами Ag, Cu(II) и Zn(II), что характеризуются, сопровождающуюся нормализацией биохимических показателей крови при экспериментальном токсическом гепатите, конъюнктивите и других моделях патологических состояний у животных.
- Установление высокой терапевтической (биологической) эффективности тимоцина, тимоарга и координационных соединений дипептида Н-Ile-Trp-OH с ионами серебра и цинка с целью сравнительной оценки при лечении воспалительных, инфекционных и вирусных заболеваний (псориаз, герпесвирусная инфекция, инфекционный ринотрахеит, диарея телят), а также при вакцинопрофилактике, что обосновывает перспективность их применения в ветеринарной и экспериментальной медицине.

Степень достоверности результатов обеспечивается применением современных методов биохимических исследований и применением статистической обработки результатов исследований.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Содержание диссертации соответствует следующим областям исследования паспорта специальности 1.4. – Химия (1.4.12. – Биоорганическая химия):

- *пункт 4.* Проблемы нейро- и иммунохимии, связанные с особенностями строения компонентов соответствующих биологических систем.
- *пункт 5.* Выделение и синтез молекулярных ансамблей, моделирующих функции природных живых систем (например, фотосинтез, передача нервного импульса, лиганд-рецепторные взаимодействия и др.).
- *пункт 6.* Низкомолекулярные биорегуляторы; пептиды, нуклеотиды, пептидные и стероидные гормоны, витамины, липиды, простагландины, лейкотриены и другие метаболиты арахидоновой кислоты, алкалоиды и другие химические соединения из микроорганизмов, грибов, водорослей, растений и животных, их синтетические аналоги, а также синтетические биологически активные вещества (лекарства, пестициды).

Личный вклад соискателя учёной степени в исследование состоит в формулировке цели и задач исследований, получении комплексов триптофансодержащих дипептидов с ионом цинка, выборе объектов, методике изучения биологических свойств полученных соединений, участии в их исследовании, составлении заключения и выводов диссертации. Подготовка к публикации статей и тезисов конференций, содержащих результаты диссертационной работы, проведена автором самостоятельно или совместно с соавторами.

Апробация и применение результатов диссертации. Процесс апробирования и применения результатов исследования по теме происходил практически на всех этапах исследования (2015-2021 годы). Основные результаты исследования были рассмотрены и обсуждены в виде научных докладов на семинарах «Научно-исследовательского фармацевтического центра» и апробированы на международных, региональных, республиканских и внутривузовских научно-практических конференциях, в частности: «Научное пространство России: генезис и трансформация в условиях реализации целей устойчивого развития» (Санкт-Петербург, 2020), «VIII – глобальная наука и инновации 2020: Центральная Азия» (Нур-Султан. Казахстан, 2020), «Современные проблемы химии, применение и их

перспективы», посвященная 60-летию кафедры органической химии и памяти д.х.н., профессора Халикова Ширинбека Халиковича» (Душанбе, 2021).

Публикации по теме диссертации. Результаты исследований отражены в 19 публикациях автора, 4 из которых относятся к учебно-методическим разработкам, рекомендованные к печати научно-методическим советом ГОУ «БГУ им. Носира Хусрава», 9 к научным статьям, опубликованных в журналах, рецензируемых ВАК при Президенте Республики Таджикистан и 6 к научным статьям и тезисам докладов, опубликованных в других изданиях и материалах научных конференций и 1 малый патент Республики Таджикистан.

Структура и объем диссертации. Диссертация содержит разделы «Введение», «Общая характеристика работы», три основные главы, раздел «Заключение» с подразделами «Выводы» и «Рекомендации по практическому использованию результатов», раздел «Список литературы» с подразделами «Список использованных источников» и «Список публикаций соискателя ученой степени».

Общий объем диссертации составляет 180 страниц компьютерного текста, содержит 50 таблиц и 18 диаграмм и рисунков. Нумерация таблиц является единой для всех разделов диссертации. Список литературы содержит 125 наименований.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современное состояние данных о строении и роли тимуса в организме

1.1.1. Строение и функции тимуса

Тимус – это орган, содержащий у взрослых большое количество жира; однако у младенцев и до подросткового возраста он богат различными клетками, после которого происходит его деградация. У взрослых его самый большой вес составляет около 37 г, а у 75-летних - всего 6 г [69, с.139].

Роль тимуса в организме для медиков долгое время оставалась неизвестной, пока в 1961 году Жак Миллер обнаружил, что после удаления тимуса у новорожденных крыс исчезла часть популяции лимфоцитов, что привело животных к смертельному истощению. Исчезнувшие лимфоциты назвали Т-лимфоцитами [41, с.10]. Таким образом была обнаружена центральная роль тимуса в развитии иммунной системы. После этого тимус стали считать важнейшим (центральным) лимфоидным органом. Затем были изучены производимые тимусом гормоны и его стали считать эндокринной железой.

Это означает, что сейчас тимус считается одновременно лимфатическим органом и эндокринной железой. Так, тимус выполняет две функции – лимфатического органа и эндокринного органа.

Как у лимфоидного органа основной функцией тимуса является производство зрелых Т-лимфоцитов. Клетки костного мозга, попадая в тимус делятся на две группы: распознающих и уничтожающих аутоантигены(самореактивные Т-клетки) и Т-регуляторные клетки [6, с.28].

Другая часть клеток уничтожает чужеродные антигены, остается живой и участвует вместе с В-клетками в адаптивном иммунитете.

Таким образом, тимус осуществляет взаимосвязь иммунной и нейроэндокринной систем [7, с.4].

Тимус находится в центре грудной клетки за грудиной, на равном расстоянии между легкими, чуть выше сердца и состоит из двух долей.

Каждая доля состоит из меньших частей, называемых дольками, из-за чего тимус имеет неровный вид. Тимус обеспечивает микросреду для развития *T*-клеток, играющих важную роль в формировании иммунного ответа.

В эпителиальной части тимуса синтезируются тимусные гормоны и вырабатываются также атопические гормоны. Лимфоидная и эндокринная функции тимуса связываются друг с другом с помощью медиаторов [50, с.46]. Считают, что основными регуляторами являются ось гипоталамо-гипофиз-гонад и, прежде всего, шишковидная железа [51, с.15].

Гормоны тимуса и их влияние на иммунные клетки.

«Обнаружению тимусных гормонов способствовало открытие основной роли тимуса в формировании иммунного ответа. Среди множества веществ, обладающих различными активностями, реальными и эффективно действующими оказались четыре из них. Это производимые эпителиальными клетками тимуса тимусные гормоны. К ним относятся тимулин, тимозин, тимопоэтин (тимопентин) и гуморальный фактор тимуса (ТГФ)» [61, с.10]. Кроме того, каждый из указанных факторов тимуса производит цитокины, к которым можно отнести *IL-1* и *6*, *G-CSF* (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), *GM-CSF* (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), обеспечивающие дифференцировку *T*-лимфоцитов и играющие в этих процессах важную роль.

Только в эпителиальных клетках тимуса образуется тимулин. Для его функционирования необходимо присутствие цинка, который связывается с нонапептидом (Glu, Ala, Lys, Ser, Gln, Gly, Gly, Ser, Asn) и этот комплекс пептида с цинком участвует в дифференцировке *T*-клеток [117, с.84]. В нонапептиде остатки 5-7 отвечают за связь с рецептором а остатки 8 и 9 необходимы для биологической активности. Тимулин отвечает за соотношение между *T*-хелперами и *T*-супрессорами. Существует обратный контроль секреции тимулина эпителиальными клетками тимуса.

Тимозины были выделены из тимуса теленка. Частично очищенный экстракт получил название фракция 5 и содержал около 40 полипептидов [117, с.84]. Он иммунологически восстанавливал патологический тимус. Из этой фракции были выделены тимозин альфа один и тимозин бета, влияющие на лимфоидные элементы тимуса.

Тимозин альфа 1 является синтетическим препаратом с ацетилированными N-концами и обладающий плеiotропным действием, усиливает ответы T-клеток, дендритных клеток и антител и ингибирует индуцированный стероидами апоптоз в тимусе, участвует в регуляции развития супрессорных T-клеток.

Из тимозиновой фракции пять были получены другие пептиды, но не было найдено доказательств, что они настоящие гормоны тимуса [117, с.84]. Они синтезировались другими органами и клетками и не влияли на специфические функции тимуса.

Тимопоэтин это полипептид, состоящий из 49 аминокислот. Однако его активный центр – TP5, является пентапептидом с последовательностью аргинин, лизин, аспарагин, валин и тирозин (32-36 тимопоэтина) [117, с.84]. Этот фрагмент называется тимопентином и его активность еще не изучена. Он образуется в эпителиальных клетках тимуса и играет роль в иммунном ответе и дифференцировке T-клеток и влияет на нервно-мышечную передачу. Его эффект, по-видимому, зависит от дозы. *«В условиях in vitro он усиливает пролиферацию и дифференцировку клонов T-клеток, имитируя среду пептидов тимуса in vivo. В условиях in vivo он вызывает пролиферацию предшественников лимфоцитов и их дифференцировку в T-лимфоциты»* [117, с.84].

Тимический гуморальный фактор (ТГФ). ТГФ гамма 2 представляет собой октапептид, а его аминокислотная последовательность – *Leu-Glu-Asp-Gly-Pro-Lys-Phe-Leu*. Он обладает всеми биологическими активностями ТГФ. Это специфическая последовательность, не имеющая гомологии с другими гормонами тимуса или каких либо эндокринных желез. Несколько нанограмм

его увеличивают частоту *T*-клеток, реагирующих на митоген, в тимусе или селезенке и положительно влияют на функции *T*-хелперных клеток, воздействуя, прежде всего, на более молодую клеточную популяцию. После неонатальной тимэктомии стимулирует пролиферацию лимфоидных клеток. В случае человека он восстанавливает недостаточную функцию *T*-лимфоцитов. Сравнивая синтетический ТГФ гамма 2 с тимозином альфа 1, эффект ТГФ в 400 раз больше» [117, с.84].

«Влияние собственных гормонов тимуса на неиммунные клетки и функции. Гормоны тимуса в целом подавляют изменения, вызванные старением» [118, с.257], и помогают поддерживать способность к обучению и памяти в стареющем организме. Гормоны тимуса могут регулировать высвобождение гормонов из гипофиза, а пептиды тимуса влияют на выработку гормонов гипофиза и гонад, например, тимулин усиливает секрецию ЛГ и терапия геном тимулина у новорожденных предотвращает снижение уровня циркулирующего гонадотропина у бестимусных мышей. *«Правильное функционирование гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси зависит от эндокринных влияний тимуса»* [25, с.31]. *«Тимозин F5 повышает уровень кортикотропина, бета-эндорфина и кортизола, а тимэктомия снижает уровень этих гормонов»* [59, с.53]. *«Повышение уровня тимулина увеличивает уровень гонадотропина гипофиза, действуя непосредственно на нейроны гонадолиберина»* [113, с.3767]. *«В условиях in vitro наблюдалось стимулирующее действие тимозина бета 4 на продукцию LHRH и LH тканями гипоталамуса и гипофиза. Тимулин обладает активностью по высвобождению гонадотропина (ГнРГ). Тимулин играет двойную роль в высвобождении гонадотропинов, которая зависит от гормонального статуса гипофиза донора. В сочетании со стимуляцией гонадотропинами тимулин увеличивает стероидогенез в яичках. Упражнения с тимозином влияют на секрецию бета-эндорфина, АКТГ, ЛГРГ, ЛГ и глюкокортикоидов. У молодых крыс TF5 подавляет действие ТТГ. Лечение тимулином у мышей приводило к более раннему наступлению половой зрелости».*

Несамостоятельные (атопические) гормоны вилочковой железы.

«Биологически активные глюкокортикоиды синтезируются в тимусе эпителиальными клетками» [61, с.10], «а тимоциты имеют рецепторы глюкокортикоидов. Клетки не только производят, но и включают глюкокортикоиды».

«В тимусе происходит экспрессия некоторых нейропептидов, одними из которых являются соматостатин, вещество P, вазоинтестинальный пептид, пептид, связанный с геном кальцитонина, и нейропептид Y». «Гормон роста (GH) и пролактин также продуцируются эпителиальными клетками тимуса и присутствуют в тимоцитах, и клетки также имеют рецепторы GH. Гормоны гипофиза-пролактин, лютеинизирующие и фолликулостимулирующие гормоны, рилизинг-фактор кортикотропина, окситоцин и вазопрессин – также синтезируются клетками тимуса» [13, с.170], «и клетки имеют рецепторы гормонов гипофиза» [13, с.170].

«В клетках тимуса может быть обнаружен (синтезирован) экстрапинеальный мелатонин, а также ферменты, синтезирующие мелатонин» (рисунок 1) [95, с.89]. «Как эпителиальные клетки тимуса, так и тимоциты имеют рецепторы мелатонина MT1 и MT2. Инсулин также синтезируется в тимусе. Двухдневное голодание (стресс) снижает количество тимоцитов до 13% у мышей, которое восстанавливается лечением лептином» [102, с.133].

«Окситоцин и вазопрессин, а также инсулиноподобный фактор роста синтезируются эпителиальными клетками тимуса» [91, с.264].

«Кальцитонин синтезируется тимусом, а также могут быть обнаружены рецепторы кальцитонина. Ядерные рецепторы кальцитриола присутствуют в мозговых клетках и телах Хассала» [92, с.1665].

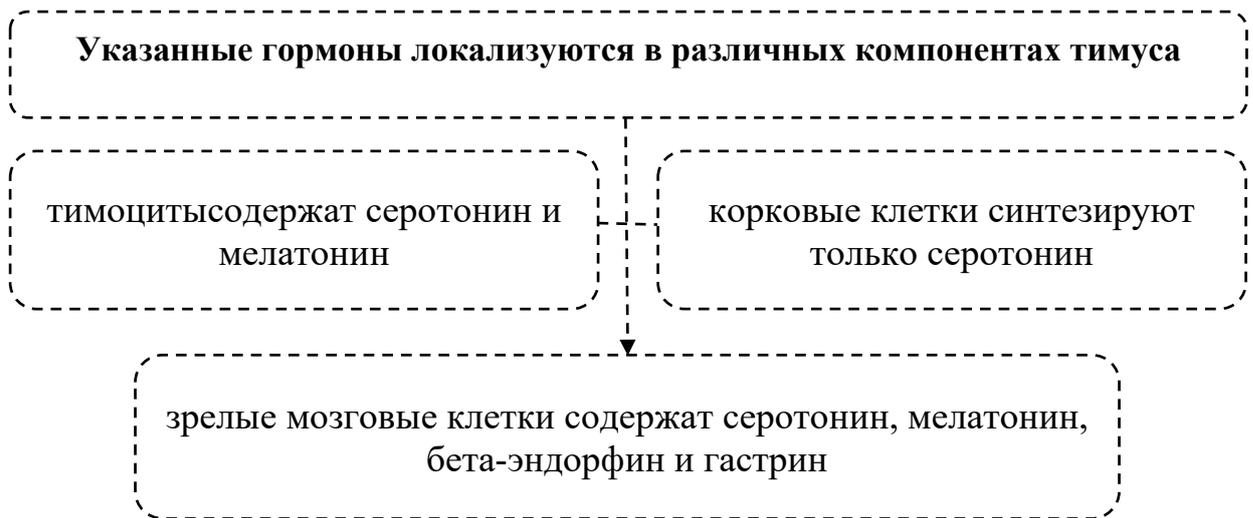


Рисунок 1. –Алгоритм экспрессия серотонина, соматостатина и гастрина локализована в эпителиальных клетках тимуса, формирующих тельца Хассала [81, с.2526]

«Изучая гормональный состав тимоцитов, были обнаружены трийодтиронин (ТЗ, регулируется ТТГ), адренокортикотропный гормон (АКТГ), бета-эндорфин, гистамин и серотонин. Уровень ТЗ меняется и зависит от цикла свет-темнота» [91, с.264].

Влияние других (не связанных с тимусом) гормонов на тимус.
«Неонатальная пинеалэктомия вызывает типичное истощение с разрушением тимуса» [88, с.71]. Пинеалэктомия, выполненная у взрослых крыс, снижает вес тимуса, который восстанавливается обработкой мелатонином. Длительный анализ также продемонстрировал взаимосвязь пинеальной железы и тимуса. Эпителиальные клетки тимуса и тимоциты имеют рецепторы мелатонина [88, с.71]. При старении пептиды эпифиза оказывают геропротекторное действие на инволюцию тимуса [87, с.1327]. Мелатонин повышает уровень тимозина альфа 1 и тимулина в ночном тимусе и сыворотке крови, а также их суточный ритм. В стрессовых условиях мелатонин предотвращает инволюцию тимуса.

«GH регулирует пролиферацию эпителиальных клеток тимуса и тимоцитов, а также стимулирует секрецию гормонов тимуса. Он также увеличивает высвобождение тимоцитов из клеток-питателей и увеличивает экспорт тимоцитов, а также продукцию гормона тимуса. Пролактин, GH и гормоны щитовидной железы усиливают выработку

тимулина» [85, с.71]. «АКТГ контролирует рост тимуса». «GH, GH-рилизинг-гормон и рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона усиливают пролиферацию тимоцитов» [85, с.71]. «Нейропептиды – в целом – влияют на набор Т-клеток».

«Глюкокортикоиды участвуют в ухудшении иммунной системы и, главным образом, тимуса» [86, с.469], «и в то же время положительно влияют на внеклеточный матрикс» [86, с.469]. «В культуре тимуса прогестерон увеличивает уровень тимулина. Производство тимулина и тимозина альфа-1 подавляется лечением половыми гормонами. Овариэктомия увеличивает массу тимуса у мышей» [85, с.71].

Гормоны щитовидной железы повышают выработку тимулина. «Гипотиреоз (вызванный лекарствами) провоцирует инволюцию тимуса, что проявляется в усилении развития тимоцитов и продукции им Т3. Инсулин, окситоцин, гонадотропин и EGF сильно влияли на продукцию АКТГ, эндорфина и Т3 тимоцитами, тогда как синтез АКТГ был снижен в экспериментах *in vitro*. Лечение гистамином и серотонином *in vitro* радикально снижает содержание Т3 в тимоцитах. Инсулин *in vitro* радикально снижал синтез гистамина и Т3 в тимоцитах, а *in vivo* вдвое уменьшал количество гормонов» [85, с.71].

«Перинатальный гормональный импринтинг» «с Т3 значительно увеличивал плотность тимических рецепторов глюкокортикоидов во взрослом возрасте» [82, с.466]. «Поздний импринтинг стероидов (дексаметазоном) снижает рецепцию тимусом глюкокортикоидов».

В дольках тимуса имеются наружная субкапсулярная, глубокая корковая, кортикотомедулярная, медулярная и периваскулярная зоны. Субкапсулярная и глубокая корковая зоны выделяются в корковом веществе. 25% толщины коркового слоя составляет субкапсулярная зона. В субкапсулярной зоне долек тимуса находятся предшественники Т-лимфоцитов в начале их созревания.

Каркас субкапсулярной зоны образуют тимусные эпителиальные клетки. Последние в своих ячейках содержат преТ-лимфоциты, лимфобласты, пришедшие из красного костного мозга. Эти клетки вырабатывают нейропептид, называемый субстанция Р. Из тимусных эпителиальных клеток выделяют секреторные клетки и так называемые клетки - «няньки». В субкапсулярной зоне около 50% тимоцитов находятся в состоянии митоза. «Секреторные клетки, содержащие тимусные гормоны (тимулин, тимозины, тимопоэтин, тимический сывороточный фактор), вырабатывают молекулы адгезии, рецепторы для цитокинов и факторов роста» [82, с.466].

«В субкапсулярной зоне тимусных долек содержится от 0,5 до 5% крупных лимфобластов, соответствующих пре-Т-лимфоцитам, относящимся к ранним тимоцитам, которые имеют фенотип Т-хелперов. Последние не могут вырабатывать интерлейкин 2 и взаимодействуют с клетками -«няньками». В этой же зоне находятся макрофаги, участвующие в фагоцитозе и вырабатывающие интерлейкин - 1, простагландины» [80, с.101].

Внутренняя кортикальная зона содержит сеть эпителиальных клеток, соединенных десмосомами. Здесь находятся два типа участков. Одни содержат эпителиальные клетки, в других последние отсутствуют. Участки, в которых эпителиальные клетки отсутствуют, служат резервуарами для тимоцитов.

В глубокой корковой зоне содержатся «тимоциты, макрофаги, дендритные клетки, относящиеся к эпителиальным. У них в цитоплазме отсутствуют десмосомы и тонофиламенты. Секреторные клетки, которые происходят из нервного гребня, способны вырабатывать нейропептиды под контролем интерлейкина - 1 и γ - интерферона. Эти клетки также продуцируют антигены классов I и II классов системы главного комплекса гистосовместимости. При развитии в тимусе на созревающих Т-лимфоцитах образуются антиген-распознающие рецепторы

(TCR), узнающие чужеродные молекулы в составе молекул МНС I и II классов» [80, с.101.

В корковом веществе «долек тимуса находятся опорные клетки эпителиального происхождения, формирующие «каркас» ткани и образующие гематотимусный барьер; звездчатые клетки, вырабатывающие тимопоэтин, тимозин и другие тимусные гормоны; клетки-«няньки» в которых развиваются лимфоциты» [79, с.114]. Среди находящихся в корковом веществе различных иммуноактивных клеток имеются антиген-представляющие клетки, которые подготавливают антиген для инактивации его Т-лимфоцитами и способствующиеразвитию лимфоцитов по *Th-1* и *Th-2* пути.

В этой частице тимуса в основном находятся размножающиеся Т-лимфобласты. В более глубоких слоях созревают Т-лимфоциты, которые по окончании этого процесса, длящегося 20 суток, переходят в мозговое вещество. Этот процесс происходит в тимусе в течение всей жизни.

В кортикомедуллярной зоне тимуса содержатся макрофаги. Эта зона образуется через 7 дней после рождения и создавшееся распределение клеток и макрофагов сохраняется в периоде половой зрелости. В цитоплазме находящихся здесь макрофагов имеется лизосом и в ней содержится эстераза, которая определяется качественной реакцией.

В тимусе осуществляется положительный и отрицательный отбор, а также выживание и размножение МНС-специфичных клеток.

Отбор происходит при контакте лимфоцитов с эпителиальными и дендритными клетками, макрофагами. Созревшие лимфоциты выходят из тимуса в кортикомедуллярной области или переходят в мозговое вещество.

«Одновременно с отбором в тимусе происходит дифференциация тимоцитов на Т-хелперы и цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ). Т-клетки, узнающие МНС II класса, содержат корецептор CD4, а тимоциты, узнающие пептид МНС I класса, содержат корецептор CD8. Тимоциты (CD4-CD8-), не прошедшие процесс созревания до конца, содержат

рецепторы к вазоинтестинальному пептиду, который подавляет прохождение жизненного цикла тимоцитов. Эти рецепторы способствуют дифференцировке тимоцитов в Т-хелперы» [79, с.114].

«Тимоциты, у которых отсутствует пре-TCR-рецептор, нет способности связываться с молекулами МНС. При образовании комплекса пре-TCR-рецепторас CD3–корцептором происходит активация выработки генов CD4 и CD8» [79, с.114].

«Дважды положительные тимоциты (CD4+CD8+) переходят в корковое вещество тимуса и взаимодействуют с кортикальными эпителиальными клетками, в которых происходит образование МНС-I и МНС-II. Клетки, не способные взаимодействовать с комплексами МНС, апоптируют, а клетки, провзаимодействовавшие с этими комплексами, начинают активно делиться» [80, с.101].

«Мозговое вещество тимуса состоит из крупных эпителиальных клеток с меньшим количеством иммунокомпетентных клеток по сравнению с количеством клеток в корковом веществе. В мозговом веществе тимуса эпителиальных клеток в семь раз больше, чем в корковом» [79, с.114].

Т-лимфоциты мозгового вещества имеют зрелый фенотип Т-хелперов и Т-супрессоров и вырабатывают ген предшественника субстанции Р. Переходя обратно в кортикомедуллярную зону, эти клетки выходят из тимуса в кровотоки. В тимусе созревают различные популяции Т-лимфоцитов (таблица 1, рисунок 2).

Таблица 1. – Субпопуляции Т-лимфоцитов, развивающиеся в тимусе [78, с.238]

Субпопуляция клеток	Количество, %	Характеристика популяции	Особенности селекции
γδ Т-клетки	1	Формируются в эмбриональном тимусе и регенерирующем тимусе взрослых	В тимусе селекция не подвергается

Окончание таблицы 1

CD4+ $\alpha\beta$ Th	8-10	Основная субпопуляция, развивающаяся в тимусе взрослых	Подвергаются селекции с участием эпителиальных и дендритных клеток
CD8+ $\alpha\beta$ CTL	5-7		
CD4+CD25+ Treg	2-4		
$\alpha\beta$ NKT-клетки	2-3	Развивается в тимусе взрослых	Подвергаются селекции при участии кортикальных тимоцитов

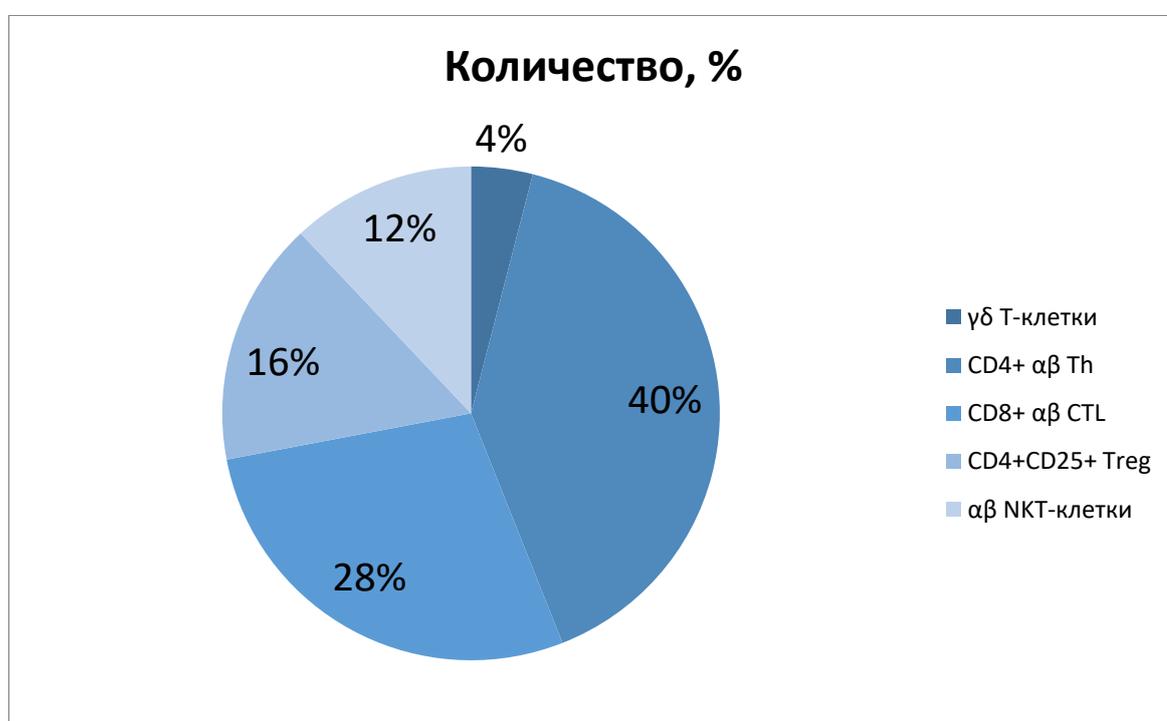


Рисунок 2. – Диаграмма субпопуляции Т-лимфоцитов, развивающиеся в тимусе [79, с.114]

В этот процесс входит центральное установление допуска, которое происходит с помощью двух механизмов. Во-первых, это отрицательный отбор тимоцитов, во время которого большая часть ауто-реактивных *T*-клеток истощается из репертуара через апоптоз [78, с.238]. Во-вторых, это генерация CD4 - одиночных (CD4SP) FoxP3 + регуляторных *T* (Treg) –клеток [79, с.114], основная функция которых заключается в подавлении опосредованной *T*-клетками самореактивности и сохранении иммунного гомеостаза на периферии [78, с.238]. Эти стороны толерантности

центральных Т-клеток работают в тандеме, и клетки *Treg*, скорее всего, компенсируют несовершенство отрицательного отбора, поскольку некоторые самореактивные Т-клетки избегают отрицательного отбора [79, с.114].

Возрастные нейродегенеративные заболевания. Большинство возрастных нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера (БА), связаны с иммунным старением и / или воспалением, которые вызывают структурные и функциональные нарушения гематоэнцефалических барьеров (ГЭБ) [66, с.2241; 63, с.79], тем самым приводя к проникновению иммунных клеток [66, с.2241; 63, с.79] в центральную нервную систему (ЦНС). Но до сих пор не было выяснено, являются ли эти заболевания причиной или следствием несбалансированных провоспалительных и противовоспалительных иммунных клеток, эти исследования находятся в фазе исследования [66, с.2241; 63, с.79].

В числе этих иммунных клеток присутствуют клетки Th1, продуцирующие IFN- γ , и клетки Th17, продуцирующие IL-17A, которые относятся к провоспалительным. Они взаимодействуют с резидентной микроглией ЦНС и обостряют БА [66, с.2241; 63, с.79]. В нескольких работах при исследованиях [66, с.2241; 63, с.79] было выявлено что Treg-клетки при БА в различных экспериментах на животных играют двойную роль, патогенную или защитную. А клетки Th2, наоборот, специфичные для амилоида бета (A β), который представляет собой пептид, который накапливается в головном мозге при БА, улучшают БА у мышей, демонстрируя улучшение когнитивных функций и снижение нагрузки отложения A β .

Важным барьером, кроме ГЭБ, также является сосудистое сплетение (ХП) и оно поддерживает гомеостаз ЦНС. В исследовании Обухова А. В. обосновывается что СР содержит клетки CD4 + Th1, продуцирующие IFN- γ , которые стимулируют эпителий СР для экспрессии факторов переноса лейкоцитов и рекрутирования небольшого количества лейкоцитов, включая Т-клетки и макрофаги, происходящие из моноцитов. В отличие от

провоспалительного фенотипа *Th1*, связанного с обострением заболевания в паренхиме ЦНС, продуцирующие *IFN- γ* клетки *Th1* в СР способствуют восстановлению ткани ЦНС и поддерживают нормальные когнитивные состояния [26, с.53, 27, с.6]. В тоже время недостаточная функция *Th1* происходит у пожилых СР, что в свою очередь приводит к снижению *IFN- γ* и преждевременным когнитивным нарушениям в нескольких типах мышечной ткани [30, с.31]. Этот ослабленный иммунный ответ *Th1* может быть одним из возможных путей для иммуносенесценции, но определенные механизмы еще предстоит исследовать.

Функция инфильтрирующих *T*-клеток в ЦНС, в том числе эффекторных *T* (*Teff*) и *Treg*-клетки, можно считать еще одним критическим элементом при БА [16, с.405], который может быть связан с возрастной инволюцией тимуса. *Teff* клетки, а именно *Th1* клетки, инфильтрирующие ЦНС, признаны патогенными во многих исследованиях [32, с.233]. Например, было доказано, что клетки *Th1*, являющиеся специфичными для $A\beta$ – антигена в головном мозге с БА, способствуют развитию болезни у мышей.

Помимо всего прочего, *Treg*-клетки в БА могут выполнять различные роли: дихотомические, защитные или патогенные. Это зависит от их расположения в головном мозге. Основная функция *Treg*-клеток в иммунном ответе заключается в стимулировании активности других иммунных клеток, которые включают *Teff* и миелоидные лейкоциты. Данным образом, чаще всего предполагается, что они снимают воспаление в ЦНС.

В работе С.В. Оковитого и др. обоснован тот факт, что возраст также является преобладающим фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [32, с.233], основными патологическими последствиями которых являются дисфункция эндотелия сосудов и жесткость артерий. Эти патологии являются основными, которые связаны с иммунным старением и воспалением, особенно сердечно-сосудистой стенки, и приводят к гипертонии, атеросклерозу и, в конечном итоге, к сердечной недостаточности [33, с.85;34, с.115-116].

В последние годы на основании множества исследований, а именно Петренко В.М, накапливается информация относительно иммунной системы стареющих *T*-клеток участвующих в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз, который, как предполагается, связан синволюцией тимуса [34, с.115-116], а также связан с клональной экспансией стареющих *T*-клеток и накоплением эффекторных *T*-клеток памяти у пожилых людей [33, с.85;34, с.115-116]. Известно, что макрофаги являются первичными патогенными клетками в начале атеросклеротического поражения. Накапливающиеся *CD8+CD28nullCD27-* стареющие *T*-клетки [35, с.95] на воспаленной стенке сердечно-сосудистой системы постоянно продуцируют *IFN-γ* [37, с.89], который стимулирует макрофаг, чтобы высвободить *MMP* для деградации внеклеточного матрикса. Этот механизм является важным и лежит в основе этиологии атеросклероза, связанного с *T*-лимфоцитами. Кроме того, *CD4+CD28null* стареющие *T*-клетки имеют отношение к рецидивам острых коронарных событий. Сообщалось, что циркулирующие *CD4+* эффекторные *T*-клетки памяти связаны с атеросклерозом у людей и на моделях мышей [95, с.89], что дает дополнительное указание на роль иммуностарения в сердечно-сосудистых заболеваниях.

Имеются обширные знания о пожилых иммунных функциях и раке. Иммунное старение с возрастом снижает иммунный надзор за раковыми клетками [9, с.10], а воспаление создает благоприятное цитокиновое микроокружение для туморогенеза [13, с.170]. Снижение иммунного надзора за раковыми клетками связано со снижением тимопоэза, что приводит к изменению или сокращению разнообразия репертуара *TCR* [15, с.145].

На основе опубликованных работ, Г.М. Цветкова и Ю. Циглер приведено что *Treg*-клетки способствуют подавлению противоопухолевых *T*-клеточных ответов и часто накапливаются в микроокружении опухоли, понижают противоопухолевый иммунитет [48, с.3; 49, с.13047].

В большинстве исследований показано, что у больных раковыми заболеваниями число *Treg*-клеток увеличивается в периферической крови и в микроокружении опухоли.

Воспаление – это меч опасный для обеих сторон, необходимый для противоопухолевого ответа, но к тому же может вызывать лекарственную устойчивость опухолевых клеток [49, с.13047]. А именно, хроническое воспаление связано с повышенным риском рака, что подтверждается многими исследованиями, в частности, в работах Скрипкина Ю.К. и других. Раковые образования, вызванные воспалением, индуцируются воспалительными цитокинами, иницируя или способствуя множественным процессам онкогенеза, включая клеточные мутации, метастазирование, рост опухоли и ангиогенез [37, с.89]. В частности, макрофаги и *T*-клетки выделяют *TNF α* , который способен усугублять повреждение ДНК, а связанные с опухолью макрофаги секретируют фактор, ингибирующий миграцию макрофагов, который ослабляет *p53*– зависимую защиту. Также было замечено, что *TNF α* увеличивает метастазирование рака в легкие и печень на животных моделях, что приведено в работах Мазина, Н.М. Помимо этого, развитие опухоли стимулируется *IL-6* через путь *IL-6 / JAK2 / STAT3* при раковом заболевании почек, легких и молочной железы, и было обнаружено, что ангиогенез у пациентов с заболеванием раком простаты связан с *TGF β* [19, с.17].

На основании исследования В.А. Черешнева и других, информировано о снижении уровня гормона роста во время старения, что способствует возрастной инволюции тимуса, а при исследовании на животных с применением добавок соматотропного гормона или гормона роста отмечает спасение от атрофии тимуса, увеличение набора предшественников *T*-клеток в тимус, к тому же усиливают продукцию цитокинов в микроокружении тимуса. Соматотропный гормон (гормон роста). Его исследования в конце 1998 и начале 1999-го годах после наблюдений, что ТЕС экспрессируют рецепторы гормона роста и что инсулиноподобный фактор роста

экспрессируется в тимусе. Исследования, проведенные В.А. Черешневым и другими обнаружили что инсулиноподобный фактора роста 1 (IGF-1), который тесно связан с гормоном роста, показывают аналогичные функциональные и структурные улучшения тимуса при повышении уровня IGF-1 у старых мышей [36, с.26]. Однако эффекты перекрестного взаимодействия гормонов роста и многих других нейроэндокринных гормонов с тимоцитами и *ТЭС* изучаются, эти системные пути чрезвычайно взаимосвязаны, исходя из этого их сложно разграничить по компартаментам [36, с.26]. Организация уровней иммунной системы приведена на рисунке 3.

В последние годы функционирование лимфоидной и иммунной систем рассматриваются вместе. Несмотря на то, что лимфоидная система человека в последние годы изучается в различных условиях – с изменением возраста, в различных экспериментах и при различных заболеваниях, до сих пор не разработана единая схема развития и действия лимфоидных органов [35, с.94]. По современным представлениям лимфоидная система содержит первичные и вторичные лимфоидные органы, в клетках которых постоянно происходят процессы созревания иммунокомпетентных клеток [34, с.115]. Часть ученых [54, с.348] считает, что лимфоидная система связывает между собой иммунологию и лимфологию. При этом считая, что иммунология изучает клеточные реакции иммунитета, а лимфология изучает три взаимодействующие системы, регулирующие гомеостаз организма и считающиеся поэтому гомеостатическими. На первом месте считают систему, обеспечивающую на тканях лимфатический дренаж, а на втором – лимфоидную или иммунную, осуществляющие лимфодетоксикацию, на третьем месте – внутреннюю среду организма [54, с.348]. *«Циркуляцию лимфоидных клеток осуществляют кровеносными сосудами, а лимфатические сосуды осуществляют коллатеральный к венам дренаж органов, вследствие чего происходит отток из органов антигенов. В результате этого считается, что в состав иммунной системы входят лимфатические пути и лимфоидные образования, входящие в лимфоидно-*

лимфатический аппарат, входящий в сердечно-сосудистую систему» [55, с.7; 57, с.8].



Рисунок 3. – Части иммунной системы

Таким образом, в науке разработана новая система исследования лимфоидной системы человека, основанная на представлении о том, что лимфоидная система является связующим звеном между иммунологией и лимфологией, что необходимо учитывать при разработке новых медицинских технологий.

Внимание к тимусу объясняется также тем, что средний возраст населения мира увеличивается; по некоторым данным доля населения в возрасте более 60 лет увеличилась с 9,2% в 1990 г. до 11,7% в 2013 г и по расчетам увеличится до 21,1% и составит более 2 млрд. к 2050 г [60, с.54; 59, с.53].

В пожилом возрасте увеличивается заболеваемость как сердечно-сосудистыми заболеваниями, так и инсультом, диабетом 2 типа, раком и другими.

Результаты исследований последних лет показали, что так называемые реактивные формы кислорода (РФК) играют в процессах, обуславливающих старение, важную роль [95, с. 89].

Являющаяся одной из основных, разработанная в последние годы, окислительно – восстановительная теория старения, включает механизмы

окислительного стресса [53, с.337] и учитывает данные о том, что возрастные изменения в структурах редокс сети отмечаются при таких заболеваниях, как диабет 2 типа, неалкогольный цирроз печени, мерцательная аритмия и провоспалительные – фиброзные заболевания.

1.1.2. Связь тимуса и нервной системы

В тимусе содержатся ветви блуждающего нерва, который образован *«ветвями четырех нижних шейных спинномозговых нервов и трех шейных симпатических узлов. К тимусу также подходят стволы от диафрагмальных нервов и от шейных петель. В тимус входят нервные волокна двух типов: симпатические, исходящие из шейных симпатических ганглиев, и холинергические, отходящие от других нервов (блуждающего, возвратного, диафрагмального)»* [60, с.54].

«Норадренергические волокна, которые относятся к нервной системе, расположены в корковом и мозговом веществе долек тимуса, выполняют функции нейрохимической модуляции иммунореактивности, т.е. непосредственного взаимодействия нервной и иммунной систем» [60, с.54].

В тоже время, волокна адренергические также относящиеся к *«нервной системе, с сосудами проникают в тимус по кровеносным сосудам, образуя нервно-сосудистые сплетения. Рядом с нервными волокнами находятся тучные клетки»* [60, с.54].

«Симпатическая нервная система осуществляет адренергическую стимуляцию, подавляет развитие тимоцитов, увеличивает образование маркеров клеточной дифференцировки» [59, с.53].

«Парасимпатическая нервная система вырабатывает ацетилхолин, способствующий биосинтезу антител и развитию лимфоидных клеток при взаимодействии с антигеном. В тимусе имеются нервные волокна, содержащие нейропептиды» [60, с.54]. В нескольких работах, а именно Л.Р. Ялалетдиновой и др. было выявлено, что тучные клетки вырабатывают вещества, регулирующие проницаемость сосудов и способствующие

переходу стволовых клеток и лимфоцитов в тимоциты и их рециркуляции и миграции (гистамин, серотонин и др.) [60, с.54].

Тучные клетки находятся вблизи нервных волокон, а точнее в адренергических и холинергических, оплетающих сосуды.

«Адренергические нервы, широко распространены в тимусе, особенно в его дольках, выделяют нейромедиаторы, которые попадая в окружение иммунокомпетентных клеток коркового и мозгового вещества долек тимуса, способствуют развитию структур тимуса, регулируют развитие Т-лимфоцитов, их апоптоз, образование на клетках маркеров дифференцировки» [59, с.53].

«По мере поступления четких сигналов нервные окончания начинают выделять так называемые нейромедиаторы вблизи лимфоидных клеток. Исходя из этого, определенные сигналы доставляются до иммунокомпетентных клеток» [59, с.53].

«Представление об открытом синапсе позволило выстроить концепцию о взаимодействии нервной и иммунной системами через нейромедиаторы, через расположенные на мембране клеток рецепторы к нейромедиаторам» [60, с.54].

Рецепторы, расположенные на мембранах, определяют изменение концентрации нейромедиаторов в микроокружении клетки и изменяют метаболическую и функциональную, активность этой клетки.

На основании вышеизложенного, тимус является тем органом, в котором взаимодействуют нервная и иммунная системы, осуществляющие взаимодействие организма с внешней средой, обеспечивая постоянство его внутренней среды.

1.1.3. Взаимовлияние иммунной и нервной систем

Иммунная и нервная системы взаимодействуют во всех органах, внутри которых есть компоненты этих систем, включая тимус.

«Иммунная система после активации антигеном, регулирует активность ЦНС путем выработки цитокинов, которые связываются с

рецепторами, расположенными на нервных окончаниях блуждающего нерва, симпатических нервных терминалях, а также непосредственно внутри ЦНС и в области гемато-энцефалического барьера. В свою очередь ЦНС сообщается с иммунной системой путем активации симпатических нервных волокон и гипоталамо-гипофизарной системы и надпочечников, в результате которой вырабатываются норадреналин и кортикостероидный гормон» [60, с.54].

«На лимфоцитах есть рецепторы, связывающие норадреналин и кортикостероидный гормон, что обеспечивает механизм активации этими лигандами внутриклеточных сигнальных путей, которые регулируют уровень активности иммунной клетки» [60, с.54; 59, с.53].

«Симпатические нервные волокна пронизывают паренхиму тимуса и других лимфоидных органов. Норадреналин, освобождаясь из нервных окончаний, связывается с адренорецепторами, расположенными на мембранах В - и наивных CD4-лимфоцитов и Т-хелперов первого типа. Из окончаний симпатических нервов также высвобождаются нейропептид Y, опиоидные пептиды и аденозин, участвующие в активации иммунных клеток» [60, с.54].

Взаимодействие «между нервной и иммунной системами необходимо для поддержания гомеостаза, и увеличения или уменьшения активности иммунных клеток. Изменения, затрагивающие любую часть этой системы, так или иначе отражаются на иммунном гомеостазе» [59, с.53].

Нейромедиаторные системы влияют на иммунные процессы в организме (таблица 2).

Таблица 2. – Влияние нейромедиаторов на иммунные процессы в организме [59, с.53]

Медиатор	Действие
Катехоламины	участвуют в реакциях иммунитета, связанных с активацией фагоцитоза и с непосредственным воздействием на лимфоциты через α - и β -адренорецепторы, усиливают фагоцитарную активность макрофагов и увеличивают количество Т-хелперов в крови.
Дофамин	увеличивает количество Т-хелперов в костном мозге, уменьшает количество Т-хелперов и Т-супрессоров в тимусе и селезенке.

Окончание таблицы 2

Норадреналин	Участвует в регуляции лимфопоэза является иммуномодулятором, подавляет развитие иммунного ответа избирательно активируя Т- и В-лимфоциты, ингибирует развитие раннего апоптоза лейкоцитов крови, поддерживает оптимальное соотношение различных типов лимфоидных клеток (эпителиальных, эндотелиальных), при контакте с антигеном ингибирует активность иммунной системы - регулирует деятельность тимуса (пролиферацию лимфоцитов в мозговом веществе, увеличивает количество тимусных телец, способствует появлению плазматических клеток в премедуллярной зоне).
Серотонин	
Гистамин	

Была установлена значимая роль нервной системы в регуляции функций костного мозга как источника стволовых кроветворных клеток, из которых развиваются иммунокомпетентные клетки.

Работы, посвященные иннервации тимуса, проведенные В.Е. Сергеевой и Д.С. Гордон, *«внесли значительный вклад в обнаружение открытого синапса, расположенного на окончаниях нервных волокон. При поступлении определенных сигналов нервные окончания начинают выделять нейромедиаторы вблизи от лимфоидных клеток, и таким образом передают необходимые сигналы до иммунокомпетентных клеток»* [60, с.54].

В тимусе некоторые нервные волокна содержат некоторые нейропептиды.

«Взаимосвязь в тимусе нервных, иммунных и эндокринных компонентов обеспечивает адаптацию иммунной системы организма к гормональным воздействиям, в том числе и к действию хорионического гонадотропина» [61, с.5].

В настоящее время имеется большое количество данных об иммунитете и взаимосвязи между иммунной и другими системами организма человека [61, с.5; 59, с.53; 95, с.89].

Существует мнение, что три регулирующих гомеостаз организма системы: нервная, эндокринная и иммунная, тесно взаимосвязаны и образуют

единую систему управления организмом и его самозащиты от разнообразных внешних воздействий [118, с.257].

Это мнение основывается на следующих фактах:

- Эти системы взаимодействуют через кровь путем выработки цитокинов, тимопоэтина, лимфокинов.
- ЦНС, вырабатывая нейропептиды, взаимодействует с иммунной системой.
- ЦНС, влияя на гормонвырабатывающие железы, реагирует с эндокринной системой.
- *«Эндокринная система взаимодействует с иммунной через гормоны гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси»* [116, с.779715; 114, с.68].
- Клетки иммунной системы могут вырабатывать кортикотропин, нейропептиды.
- Нейроны способны вырабатывать интерлейкины.

Такая гуморальная система, как гипоталамо-гипофизарно-адреналовый комплекс воздействует на иммунитет, который активируется при стрессе. В этом случае вырабатываются стрессовые гормоны, реагируя на которые, *«иммунная система участвует в развитии стресса. Мембраны иммунных клеток (Т и В-лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы и эозинофилы, клетки тимуса) содержат рецепторы к таким стрессовым гормонам, как адреналин и кортизол»* [104, с.7].

«Кроме гипоталамо-гипофизарно-адреналового комплекса связующим звеном между гуморальной, иммунной и нервной системами является тимус, в котором вырабатываются гормоны (цитокины или лимфокины и тимусные). Такие тимусные гормоны, как тимопоэтины, обеспечивают рост, созревание и дифференцировку Т-клеток и функциональную активность зрелых иммунных клеток. К цитокинам относятся γ -интерферон, интерлейкины (1-7 и 9-12), фактор некроза опухолей, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, гранулоцитомакрофагальный колониестимулирующий фактор,

макрофагальный колониестимулирующий фактор, лейкоцитарный ингибиторный фактор, онкостатин М, фактор стволовых клеток и другие» [113, с.3767]. Выработка тимусных гормонов контролируется глюкокортикоидами из коры надпочечников, а выработка глюкокортикоидов контролируется нервной системой. Например, при попадании вируса в организм, тимус вырабатывает тимопоэтин, который обеспечивает рост, созревание и дифференцировку Т-лимфоцитов, активируя адаптивный иммунитет [113, с.3767].

В состав нервной системы входят два типа клеток: «нейроны и глиальные клетки (нейроглии). Нейроны являются основными клетками центральной и периферической нервной систем. Они вырабатывают и передают электрические импульсы, называемые потенциалами действия. Нейроны различной формы и размеров образуют отростки двух типов: аксоны и дендриты» [113, с.3767].

Глиальные клетки составляют около 50% объема ЦНС и их отличием от нейронов является то, что «они не образуют потенциалов действия и поэтому выполняют в нервной системе вспомогательные функции – опорную, трофическую, секреторную, разграничительную и защитную» [113, с.3767]. Нервная и иммунная системы имеют следующие общие черты в принципах осуществления своей деятельности:

1. Только они могут, как говорится, «узнавать объекты»: иммунная система распознает «свое и чужое», нервная – внешние и внутренние раздражители, преобразующиеся в потенциалы действия;
2. Обе эти системы обладают памятью – иммунологической и нейрональной;
3. Они выделяют химические вещества – цитокины и медиаторы, а также взаимодействуют при непосредственных контактах (лиганд-рецепторное взаимодействие в случае иммунных клеток и щелевые контакты в случае нервных клеток).

«Кроме иммунной системы, нервная схожа также с гуморальной, за счет медиаторов, и гормонов, выработка которых происходит вследствие подачи импульсов НС» [113, с.3767].

Иммунная система состоит из органов и тканей, которые осуществляют защиту организма от заболеваний, определяя и уничтожая опухолевые клетки и патогены.

Иммунологическая память обуславливает «образование адаптивного иммунитета – функции организма уничтожать чужие и потенциально опасные микроорганизмы (или молекулы токсинов), с которыми организм уже контактировал ранее. Приобретённый иммунитет обеспечивается Т-лимфоцитами и антителами, образуемыми В-лимфоцитами» [113, с.3767].

На реакции организма на воздействие чужеродных агентов можно увидеть единство нервной, эндокринной и иммунной систем.

«На первом этапе на воздействие чужеродных агентов реагирует нервная система, используя рецепторы боли, она посылает импульс по сигнальному ганглию до таламуса, где формируется потенциал действия, а затем уже реагируют иммунная и гуморальная системы. Иммунная система сначала реагирует слабо» [113, с.3767], а через некоторое время повышает свою деятельность, активируя адаптивный или приобретенный и врожденный иммунитет. А гуморальная система активируется в последнюю очередь, выполняющая частичную коррекцию или устранение дефектов заболевания.

Гуморальная, иммунная и нервная – *«это три взаимосвязанные и дополняющие друг друга системы. Имеются примеры такого взаимодействия» [95, с.89; 59, с.53; 119, с.41].* При иммунной патологии отмечаются явления, обусловленные взаимодействием этих систем:

1. Во первых причиной депрессии ЦНС и мышечной слабости является применение терапии цитокинов.

2. Во вторых, причиной снижения активности иммунной системы является значительная выработка кортикостерона и кортизола, которым способствует нервная депрессия или стресс.
3. Во третьих причиной подавления активности лимфоцитов при кратковременном стрессе является сильная выработка адреналина и норадреналина. На пике стресса в крови пропадают иммуноглобулины всех классов.

Имеющиеся многочисленныенаучные данные свидетельствуют о существовании единой регуляторной системы организма, объединяющей нервную, иммунную и эндокринную системы.

1.1.4. Применение тимусных пептидов в лечении различных заболеваний

Был проведен анализ результатов 26 испытаний (2736 пациентов) очищенных тимусных экстрактов (ОТЭ, тимостимулин или тимозин фракция 5) (20 испытаний) и синтетических тимусных пептидов (СТП, тимопентин или тимозин $\alpha(1)$) (6 испытаний) [112, с.69]. В 21 испытании были представлены результаты для общей выживаемости (ОВ), в 6 – для выживаемости без болезней (ВББ), в 14 – для опухолевого ответа (ОО), в 9 – для побочных эффектов (ПЭ) и в 10 – для безопасности вводимых препаратов. Добавление ОТЭ не принесло пользы ОВ; ВББ; или ТО. Переносимость *pTE* и *sTP* была хорошей. В целом, не было обнаружено доказательств того, что добавление ОТЭ к противоопухолевой терапии снижает риск смерти или прогрессирования заболевания, или что это улучшает скорость ответа опухоли на противоопухолевую терапию. Для тимозина $\alpha(1)$ наблюдалась тенденция к снижению риска смерти и улучшению ВББ. Были предварительные доказательства того, что *pTE* снижает риск тяжелых инфекционных осложнений у пациентов, проходящих химиотерапию или лучевую терапию.

Большой объем данных указывает на то, что известные гормоны тимуса, тимулин, тимопоэтин, тимозин – α , тимозин – β и гуморальный фактор тимуса – γ_2 , проявляют различные спектры активности. Несмотря на большой объем имеющихся данных, они довольно фрагментированы, что приводит к непониманию роли гормонов тимуса в иммунном гомеостазе [111, с.86].

Существующие данные разделяют действие пептидов тимуса на 2 категории: влияние на иммунные клетки и взаимосвязь с нейроэндокринными системами.

Наш анализ показал, что в определенных условиях, связанных со стрессом, эти предшественники расщепляются с образованием иммунологически активных пептидов, которые быстро покидают ядро и внутриклеточные пространства, чтобы посылать «сигналы бедствия» иммунной системе, тем самым действуя как сенсоры стресса. Мы предполагаем, что эти пептиды могут образовывать связь между соматическими клетками и иммунной, а также нейроэндокринными системами. Эта модель может обеспечить лучшее понимание механизмов, лежащих в основе иммунного гомеостаза, что приведет к разработке новых терапевтических режимов, использующих характеристики пептидов тимуса.

Предшественники гормонов тимуса – это широко распространенные пептиды и широко распространенные белки всех соматических клеток с ядерной локализацией и фундаментальными внутриклеточными функциями.

Предшественники расщепляются с образованием иммунологически активных пептидов и высвобождаются во время ранней реакции на стресс, чтобы посылать «сигналы бедствия» иммунной системе.

Пептиды тимуса могут действовать как связующее звено между соматическими клетками, иммунитетом и нейроэндокринными системами, регулируя иммунный гомеостаз.

Сродство к взаимодействиям TCR с комплексами собственного пептида / MHC (pMHC) в тимусе критически влияет на незрелые тимоциты, которые вновь экспрессируют TCR. Предыдущие эксперименты на культуре органов

тимуса плода показали, что различие в аффинности к взаимодействиям *TCR* / *pMHC* тимуса не только определяет судьбу тимоцитов между положительным и отрицательным отбором, но также влияет на чувствительность к *Ag* положительно отобранных тимоцитов.

Был изучен [110, с.157] эффект введения *in vivo* различных вариантов антигенного пептида *OVA* (*OVAp*) у *OVA-Ag*-специфичных, *OT-I* / *TCR*-трансгенных, *TAP1*-дефицитных мышей, у которых развитие *T*-клеток в противном случае было остановлено на *CD4* + *CD8* + тимоцитах из-за отсутствия индуцирующей позитивную селекцию собственной презентации *pMHC* в тимусе (рисунок 4).

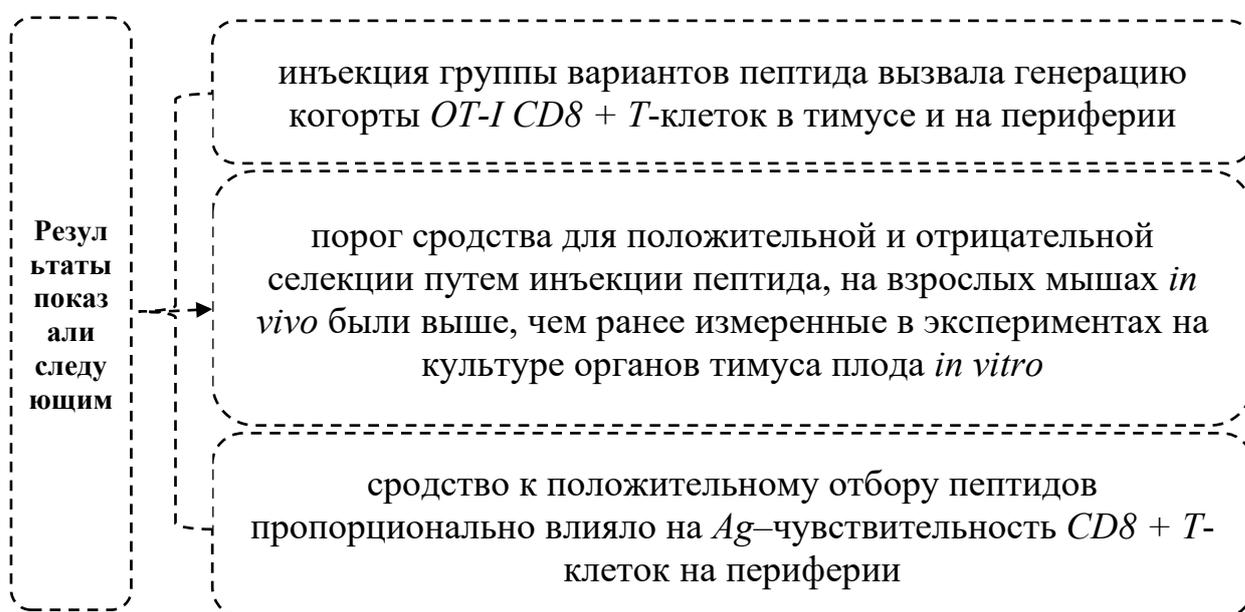


Рисунок 4. – Результаты показатели [110, с.157]

Таким образом, наши результаты показывают, что введение пептида *in vivo* может модулировать выбор репертуара *Ag*-специфических *T*-клеток в тимусе и что сродство к взаимодействию *TCR* / *pMHC* во время положительного отбора влияет на *TCR*-чувствительность зрелых *T*-клеток на периферии.

*OVA*aa 257-264 пептид SIINFEKL (*OVAp*) и его варианты EIINFEKL (E1), SIIQFENL (Q4H7), SIITFEKL (T4), SIIQFERL (Q4R7) и SIIQFEKL (Q4), а также вируса везикулярного стоматита 8a (VSV8). Пептид-59 RGYVYQGL был приобретен у *GenScript*. *TAP1*-дефицитные, *OT-I* / *TCR*-трансгенным

мышам в возрасте 4 недель был внутривенно введён 25-100 мкг пептида в 100 мкл PBS. Мышей анализировали в указанный день после введения пептида.

Было проведено [108, с.88] исследование для оценки клинической эффективности выживаемости при внутригрудной инфузии тимусных пептидов (ТП) и химических раздражителей, их терапевтического порога и оптимального режима контроля для достижения желаемого ответа при злокачественном плевральном выпоте (МРЕ). Были исследованы данные 24 рандомизированных контролируемых испытаний (РКИ). Пептиды вводили в дозах: тимозин (200–300 мг / раз), тимопентин (2 мг / раз) или тимозин альфа 1 (3,2 мг / раз) с цисплатином (30-40 мг/м²), карбоплатином (400 мг/м²) или оксалиплатином (100 мг/м²) – возможные схемы для достижения желаемого успеха и низкого уровня неудач. Большинство результатов были надежными и средними по качеству.

В девяти исследованиях с 790 пациентами [110, с.157; 109, с.1498] сообщалось о лимфоцитах периферической крови. В трех исследованиях [107, с.88, 106, с.94, 105, с.306] сообщается, что *«ТП с платиной значительно увеличивают долю CD3 + CD8 + Т-клеток, а в одном исследовании»* [104. с.7] сообщается, что *«это значительно снижает количество дважды положительных Т-клеток. Показано, что ТР с платиной значительно увеличивают количество CD3 + Т-клеток, CD3 + CD4 + Т-клеток»* [104. с.7], а также соотношение CD4 + / CD8 + Т-клеток.

За исключением адьювантной терапии злокачественных опухолей, внутригрудная инфузия ТР с химическими раздражителями также используется для контроля МРЕ. Результаты 24 испытаний [105, с.306; 103, с.19; 101, с.2; 100, с.94; 99, с.1; 98, с.105; 97, с.17] с 1592 пациентами показали, что ТР в сочетании с платиной значительно улучшили эффективность лечения, качество жизни, коэффициент выживаемости через 0,5 и 1 год, а также снизили частоту неэффективности лечения, миелосупрессии и желудочно-кишечного тракта. Токсичность в МРЕ. В

большинстве испытаний сообщалось только о побочных реакциях и не учитывались потенциальные *TRAE*. Помимо этого, они значительно увеличили число CD3 + Т-клеток, CD3 + CD4 + Т-клеток и соотношение CD4 + / CD8 + Т-клеток. Что касается методологии, то у большинства из них был отмечен неопределённый риск систематической ошибки, а в 10 плохих [104, с. 7; 103, с.19; 101, с.2; 100, с.4; 98, с.105] не удалось в полной мере отразить данные о нежелательных реакциях. Лимфоциты периферической крови продемонстрировали статистическую неоднородность, в то время как Т-клетки CD3 + CD8 + выразили значительную клиническую гетерогенность. Мы обобщили полученные данные, воспользовавшись моделью случайных эффектов. В связи с ограниченным числом испытаний мы решили не проводить анализ подгрупп для выявления причин этой неоднородности. В ходе испытаний объективно сообщалось об успехе лечения, неэффективности, миелосупрессии и желудочно-кишечной токсичности. Коэффициенты *OB* через 0,5 года и 1 год были плохой надёжностью. За исключением анемии, тромбоцитопении, *TRAE*, 0,5-летней, годичной *OB*, гепаторенальной токсичности, все исходы имели умеренное качество на основе подхода *GRADE*.

В метаанализе [96, с.2526] сообщается, что тимозин в сочетании с оксалиплатином способен сделать лучше клинический ответ и увеличить иммунный ответ организма, а также снизить частоту нежелательных реакций у пациентов с раком легкого и МПЭ. Тем не менее метаанализ [96, С.2526] имел ряд методологических дефектов, и все больше новых клинических исследований сообщали об оценке *TP* с платиной. Этот метаанализ улучшил дизайн, интегрировал предыдущий метаанализ [97, с.19] и дополнил 18 исследований с 1132 пациентами [107, с.88; 105, с.306; 104, с.7; 103, с.133; 101, с.2; 100, с.4; 99, с.1; 98, с.105; 97, с.2526], а также продемонстрировал, что внутригрудная инфузия *TPs* с платиной значительно улучшили эффективность лечения, коэффициент общей выживаемости в течение 0,5 и одного года, а также снизил частоту неэффективности лечения,

миелосупрессии и желудочно-кишечной токсичности. Кроме того, мы обнаружили, что они значительно повышают уровень лимфоцитов периферической крови. Наш соответствующий систематический обзор и метаанализ [94, с.401] показали, что *sTP*, особенно *Tα1*, при химиотерапии может улучшить противоопухолевый иммунитет, опухолевый ответ, качество жизни и уровень общей выживаемости в течение 1 года при раке легких. В другом родственном исследовании [93, с.93] сообщается, что инъекция в грудную клетку низких доз интерлейкина-2 значительно улучшила клинический ответ и качество жизни пациентов с МПЭ. Основываясь на результатах этого метаанализа и качестве доказательств, мы полагаем, что внутригрудная инфузия *TP* с платиной может улучшить эффективность лечения, качество жизни, 0,5-летнюю и годовую выживаемость, повысить уровень лимфоцитов периферической крови и снизить частоту неэффективности лечения, миелосупрессии и желудочно-кишечной токсичности. Но эти результаты могут недооценивать *ADR* и *TRAE*.

В 24 исследованиях исходные данные пациентов, типы и использование *TP* и платины значительно различались. Поэтому мы провели серию подгрупповых анализов, чтобы выявить оптимальное состояние *ТП* с платиной. Анализ подгрупп показал, что все *TP* с платиной значительно улучшили успех лечения и с низким риском неудачи у пациентов с умеренным и большим объемом плеврального выпота [112, с.69; 120, с.16288]. Кроме того, *YoonDW* и др. [109, с.1498] сообщили, что средний или большой объем плеврального выпота, оценка $KPS \geq 50-60$ или $AST \geq 3$ месяцев могут быть терапевтическим порогом для *TP* с инфузией платины. Анализ подгруппы также показал, что внутригрудная инфузия тимозина (200-300 мг / раз), тимопентина (2 мг / раз) или $T\alpha 1$ (3,2 мг / раз) с *DDP* (30-40 мг/м²), *СВР* (400 мг / раз) м²) или *L-ОНР* (100 мг/м²), все они значительно улучшили эффективность лечения и с низким риском неудачи. *ТП* с платиной использовались один-два раза в неделю, в основном 3-4 раза.

Интересно, что тимозин, тимопентин или тимофазин в сочетании с *DDP*, *СВР* или оксалиплатиной значительно улучшили эффективность лечения с низким риском неудачи.

Таким образом, доказательства показывают, что внутригрудная инфузия *ТР* с платиной может улучшить эффективность лечения, качество жизни, 0,5-летнюю и годовую выживаемость, повысить уровень лимфоцитов периферической крови и снизить частоту неэффективности лечения, миелосупрессии и желудочно-кишечной токсичности.

1.1.5. Препараты на основе координационных соединений металлов с тимусными пептидами

Совсем новое слово в биохимии сыграло открытие того факта, что после координации тимусных пптидов с металлами увеличивается иммунологическая активность исходных пептидов [1, с.5-7]. Впервые этот факт выявил Бобиев Г.М. [1, с.5-7] когда обнаружил, что «у иммунологически неактивного дипептида *H-Val-Trp-OH*, после координации с ионом железа (II) появилась иммунологическая активность. После этого, для комплексообразования был использован иммунологически активный дипептид *изолейцил-триптофан*. На его основе были получены координационные соединения с железом (II). На их основе был разработан препарат *тимофер*» [47, с.26].

Было показано, что при координации с ионом металла образуются «следующие комплексные формы $[Fe(HL^{\pm})]^{2+}$ ($\beta = 1,00 \times 10^{34}$), $[Fe(HL^{\pm})_2]^{2+}$ ($\beta = 6,25 \times 10^{11}$), $[Fe(HL^{\pm})OH]^{+}$ ($\beta = 4,01 \times 10^{26}$), $[Fe(L^{-})]^{+}$ ($\beta = 8,10 \times 10^{18}$), $[Fe(L^{-})_2]^{+}$ ($\beta = 7,50 \times 10^{28}$), $[Fe(L^{-})OH]^{+}$ ($\beta = 1,03 \times 10^{29}$). Показано, что иммуностимулирующая активность координационных соединений в 2 раза превышает таковую исходного дипептида. Разработанный иммуномодулирующий препарат *тимофер* показал высокую терапевтическую эффективность при лечении больных железodefицитными анемиями, с гнойно-воспалительными процессами и

травматическими повреждениями челюстно-лицевой области, с хроническими воспалительными заболеваниями органов гениталий (ЦМВ, ВПГ, хламидиоз, хронический эндометрит, хронический сальпингоофорит, уреоплазмоз), с хроническим бронхитом, хроническим обструктивным бронхитом, бронхиальной астмой, пневмонией, с хроническим гломерулонефритом, осложненным ХПН и анемией Брайта, с ревматологическими заболеваниями, гинекологических больных с анемиями средней и тяжелой степени тяжести, при хирургическом лечении больных с нагноительными заболеваниями легких, пороками сердца и хроническими перикардитами, оперированными в условиях искусственного кровообращения» (таблица 3), [45, с.3, 47, с.26; 22, с.397]. Тимофер зарегистрирован в Таджикистане (рег.№ ЛС №002866).

Таблица 3. – Клинические эффекты тимофера [45, с.3, 47, с.26; 22, с.397]

Применение тимофера	Лечебные эффекты
При вакцинации	Иммуномодулирующее
При лечении железодефицитной анемии	Ликвидация анемии и диспепсических явлений Снижение тяжести заболевания Улучшение показателей крови и перекисного окисления липидов Нормализация иммунологических показателей (иммуномодулирующее)
При лечении гинекологических больных с анемиями средней и тяжелой степенью тяжести	Нормализация клинических и биохимических параметров крови
При лечении больных с гнойно-воспалительными процессами и травматическими повреждениями челюстно-лицевой области	Нормализация биохимических и иммунологических показателей Более быстрая нормализация общего состояния и усиление костной регенерации Сокращение сроков консолидации фрагментов перелома
При хирургическом лечении нагноительных заболеваний легких, с пороками сердца и хроническими перикардитами, оперированными в условиях искусственного кровообращения	Нормализация клинических показателей крови

Окончание таблицы 3

При лечении больных с хроническими воспалительными заболеваниями органов гениталий, ЦМВ, ВПГ, хламидиоз, хронический эндометрит, хронический сальпингоофарит, уреаплазмоз	Нормализация биохимических и иммунологических показателей крови
При лечении хронического бронхита, хронического обструктивного бронхита, бронхиальной астмы, пневмонии	Улучшение показателей крови Улучшение иммунологических показателей Положительная рентгенологическая динамика Нормализация ритма, уменьшение или исчезновение перегрузки правых отделов сердца Улучшение внешнего дыхания
При лечении больных хроническим гломерулонефритом, осложненным хПН и анемией Брайта	Увеличение количества эритроцитов и гемоглобина Нормализация показателей мочи Ускорение положительной клинической картины заболевания
При лечении ревматологических заболеваний	Понижение сОЭ, нормализация содержания лейкоцитов

Затем был разработан препарат триптофансодержащих дипептидов с ионом цинка, на основе координационных соединений с цинком, играющим важную роль в деятельности иммунной системы [46, с.88]. $[ZnHL]$, $lg\beta = 3,71$, $Zn(HL)_2$ ($lg\beta = 0,279$), $ZnL(HL)$ ($lg\beta = 6,6$), $Zn_2(HL)_2$ ($lg\beta = 188$), $Zn(OH)(HL)$ ($lg\beta = -0,256$).

При клинических испытаниях были выявлены следующие эффекты тимоцина (таблица 4).

Таблица 4. – Показатели клинических эффектов тимоцина [87, с.1327]

Применение тимоцина	Лечебные эффекты
При вакцинации	Иммуномодулирующее
При лечении инфекционных заболеваний	Антивирусное Антиоксидантное Гепатопротекторное Иммуномодулирующее Иммуностимулирующее

Окончание таблицы 4

При лечении злокачественных новообразований с различным расположением опухоли	Гемостабилизирующее Гепатопротекторное Иммуномодулирующее
При лечении псориаза и нейродермита	Иммуномодулирующее

По исследованию Г.М. Бобиева и др. «одним из основных проявлений биологической активности триптофансодержащих дипептидов является иммуностимулирующая активность. Анализ данных показал, что H-Ile-Trp-OH, содержащий самые гидрофобные аминокислоты - триптофан (гидрофобность боковой группы (-G) равна 11,3 кДж/моль) и изолейцин (7,5 кДж/моль), H-Glu-Trp-OH, содержащий вместо изолейцина гидрофильную глутаминовую кислоту (гидрофобность боковой группы (-G) равна 3,9 кДж/моль), отличаются тем, что на N-конце у H-Ile-Trp-OH расположена нейтральная гидрофобная углеводородная боковая группа изолейцина, а у тимогена – отрицательно заряженная карбоксильная группа. Таким образом, в молекуле H-Ile-Trp-OH имеются два дипольных момента – дипольный момент пептидной связи (D1) и дипольный момент, направленный от C-концевой карбоксильной группы к N-концевой аминогруппе (D2) (см. структурные формулы). В молекуле тимогена имеется три дипольных момента – D1, D2 и D3 – между α -амино и карбоксильной группами глутаминовой кислоты, дипольные моменты D2 и D3 направлены противоположно и частично компенсируют друг друга. Поэтому суммарный дипольный момент молекулы тимогена меньше, чем молекулы H-Ile-Trp-OH. Указанные отличия в молекулах дипептидов приводят к различию их иммунологической активности. Оба дипептида стимулируют экспрессию CD4⁺-рецепторов лимфоцитов, но H-Glu-Trp-OH в отличие от H-Ile-Trp-OH не стимулировал экспрессию CD8⁺-клеток. Наличие в составе H-Ile-Trp-OH двух гидрофобных аминокислот, по-видимому, облегчает его взаимодействие с гидрофобными участками клеточных мембран по сравнению с тимогеном, чем, вероятно, можно объяснить тот факт, что H-Ile-Trp-OH оказывал более сильное стимулирующее влияние на экспрессию рецепторов T-клеток после

обработки трипсином. Н-Lys-Trp-ОН, содержащий на N-конце ещё более гидрофильную аминокислоту лизин (гидрофобность боковой группы (-G) равна 1,2 кДж/моль) в этом тесте оказался менее активным, чем тимоген. Ориентация вектора локального диполя (от центра тяжести отрицательного заряда к центру тяжести положительного) меняется по мере деионизации боковых групп (см. структурные формулы) при изменении диэлектрической проницаемости или рН внешней среды, что приводит к изменению молекулярного дипольного момента. Наибольший дипольный момент может быть у Н-Lys-Trp-ОН, наименьший – у Н-Ile-TrpОН, дипептид Н-Glu-Trp-ОН занимает в этом ряду промежуточное положение. Из этого можно заключить, что снижение молекулярного дипольного момента приводит к повышению иммунологической активности триптофансодержащего дипептида. При образовании солей дипольный момент молекулы должен снижаться вследствие нейтрализации заряда функциональной группы аминокислоты. Следовательно, при образовании солей должна повышаться иммунологическая активность дипептида. Сравнительные исследования тимогена и его натриевой соли показали, что последняя более активно стимулирует экспрессию мембранных рецепторов лимфоцитов при инкубировании *in vitro* и влияет на метаболическую активность клеток. Таким образом, одной из причин повышения иммунологической активности триптофансодержащих дипептидов при образовании солей и комплексообразовании является снижение молекулярного дипольного момента» [52, с.3-5].

Выводы по первой главе

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что полностью роль тимуса до настоящего времени до конца не выявлена. Сейчас тимус считается одновременно лимфатическим и эндокринным органом. Таким образом, тимус является единственным органом, выполняющим две функции.

Одна из основных функций тимуса заключается в производстве зрелых *T*-лимфоцитов. Клетки, выходящие из костного мозга, попадают в тимус, в котором разделяются на две группы. Первая часть клеток является самореактивными *T*-клетками, которые распознают и уничтожают аутоантигены и после выполнения этой функции умирают. Не участвовавшие в уничтожении аутоантигенов самореактивные *T*-клетки уничтожаются вырабатываемыми тимусом *T*-регуляторными (*T-reg*) клетками. Вторая часть клеток уничтожает чужеродные антигены, остается живой и участвует вместе с *B*-клетками в адаптивном иммунитете. Считается, что таким путем в тимусе осуществляет взаимосвязь иммунной и нейроэндокринной систем.

Тимус состоит из нескольких частей, и в одной из них – эпителиальной, кроме синтеза тимусных гормонов, вырабатываются и гормоны других эндокринных органов (апопические гормоны). Это является примером того, что эндокринная и лимфоидная функции тимуса связаны непосредственно или с помощью медиаторов. Считается, что основную роль в этой связи играет ось гипоталамо-гипофиз-гонады и, главным образом, шишковидная железа.

За отбор и развитие иммунных клеток отвечают тимусные гормоны, основными из которых являются тимулин, тимозин, тимопоэтин (тимопентин) и гуморальный фактор тимуса (*ТГФ*). Эти гормоны вырабатываются эпителиальными клетками. Ими же синтезируются цитокины, такие как *IL-1* и *6*, *G-CSF*, *GM-CSF*, также играющие роль в дифференцировке тимоцитов.

Тимулин вырабатывается только эпителиальными клетками тимуса и влияет на дифференцировку *T*-клеток. Это его действие контролируется нейроэндокринной системой. Тимулин нормализует соотношение между *T*-хелперами и *T* – супрессорами. Существует обратный контроль секреции тимулина эпителиальными клетками тимуса.

Тимозины влияют на лимфоидные элементы тимуса и внутритимические эффекты, такие, как уровень циклических нуклеотидов,

выработку фактора ингибирования миграции, T – зависимую продукцию антител и созревание клеточной поверхности. Тимозин $\alpha 1$ обладает плеiotропным действием, усиливает ответы T – и дендритных клеток и антител и ингибирует индуцированный стероидами апоптоз в тимусе. Он участвует в регуляции развития супрессорных T -клеток.

Тимопоэтин вырабатывается эпителиальными клетками тимуса и участвует в иммунной регуляции, а также в дифференцировке T -клеток и влияет – в качестве экстратимического эффекта – на нервно-мышечную передачу. В условиях *in vivo* он вызывает пролиферацию предшественников лимфоцитов и их дифференцировку в T -лимфоциты.

Тимический гуморальный фактор (ТГФ) гамма 2 является октапептидом с последовательностью - *Leu-Glu-Asp-Gly-Pro-Lys-Phe-Leu*. Он положительно влияет на функции T -хелперных клеток, воздействуя, прежде всего, на более молодую клеточную популяцию, восстанавливает недостаточную функцию T -лимфоцитов. Эффект ТГФ в 400 раз больше, чем тимозина альфа 1.

Гормоны тимуса в целом подавляют изменения, вызванные старением и помогают поддерживать способность к обучению и памяти в стареющем организме, могут регулировать высвобождение гормонов из гипофиза, а пептиды тимуса влияют на выработку гормонов гипофиза и гонад, например, тимулин усиливает секрецию ЛГ. Правильное функционирование гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси зависит от эндокринных влияний тимуса. Тимозин F5 повышает уровень кортикотропина, бета-эндорфина и кортизола, а тимэктомия снижает уровень этих гормонов. Повышение уровня тимулина увеличивает уровень гонадотропина гипофиза, действуя непосредственно на нейроны гонадолиберина. В условиях *in vitro* наблюдалось стимулирующее действие тимозина бета 4 на продукцию *LHRH* и *LH* тканями гипоталамуса и гипофиза. В сочетании со стимуляцией гонадотропинами тимулин увеличивает стероидогенез в яичках. Тимозин влияет на секрецию бета-эндорфина, АКТГ, ЛГРГ, ЛГ и глюкокортикоидов. У молодых крыс *TF5* подавляет действие *TTT*.

В эпителиальных клетках тимуса вырабатываются биологически активные глюкокортикоиды, а тимоциты содержат рецепторы глюкокортикоидов. Также в тимусе вырабатываются кроме нейропептидов (соматостатин, вещество P, вазоинтестинальный пептид, пептид, связанный с геном кальцитонина, и нейропептид Y), гормоны гипофиза – пролактин, лютеинизирующие и фолликулостимулирующие гормоны, рилизинг-фактор кортикотропина, окситоцин и вазопрессин. В тимусе также синтезируются мелатонин, инсулин, окситоцин и вазопрессин, а также инсулиноподобный фактор роста, кальцитонин. На клетках тимуса и тимоцитах имеются рецепторы ко всем указанным гормонам. Эти гормоны влияют на экспрессию гормонов тимуса. Мелатонин повышает уровень тимозина альфа 1 и тимулина в ночном тимусе и сыворотке крови, *GH* регулирует пролиферацию эпителиальных клеток тимуса и тимоцитов, а также стимулирует секрецию гормонов тимуса, пролактин, *GH* и гормоны щитовидной железы усиливают выработку тимулина, *GH*, *GH*-рилизинг-гормон и рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона усиливают пролиферацию тимоцитов, нейропептиды – в целом – влияют на набор *T*-клеток.

В дольках тимуса имеются наружная субкапсулярная, глубокая корковая, кортикомедуллярная, медуллярная и периваскулярная зоны. Субкапсулярная и глубокая корковая зоны выделяются в корковом веществе. 25% толщины коркового слоя составляет субкапсулярная зона. В каждой зоне образуются свои тимоциты, и тимусные и другие гормоны.

В тимусе осуществляется положительный отбор, созревание и размножение МНС-специфичных клеток и отрицательный отбор, то есть апоптоз аутоспецифических клонов.

Отбор происходит при контакте лимфоцитов с эпителиальными и дендритными клетками, макрофагами. Созревшие лимфоциты выходят из тимуса в кортикомедуллярной области или переходят в мозговое вещество.

Одновременно с отбором в тимусе тимоциты дифференцируют на субпопуляции CD4+CD8- (Т-хелперов) и CD4-CD8+ лимфоцитов (ЦТЛ). Тимоциты, распознающие МНС II класса, содержат корецептор CD4, а клетки, распознающие пептид МНС I класса, содержат корецептор CD8. Молодые тимоциты (CD4-CD8-) содержат рецепторы к вазоинтестинальному пептиду, ингибирующие развитие, самопрограммируемую гибель и миграцию тимоцитов. Рецепторы усиливают дифференцировку CD4+CD8- клеток.

Т-лимфоциты мозгового вещества имеют зрелый фенотип CD4+CD8- и CD4-CD8+. На этих клетках вырабатывается ген предшественника субстанции Р. Возвращаясь в кортикомедулярную зону, такие тимоциты выходят из тимуса в периферический кровоток. В тимусе развивается несколько популяций Т-лимфоцитов.

В последние годы функционирование лимфоидной и иммунной систем рассматриваются вместе. Несмотря на изучение морфологии лимфоидной системы человека в различных возрастах, экспериментальных условиях, при различных заболеваниях, до сих пор не разработана общая теория развития и функционирования лимфоидных органов.

В последние годы функционирование лимфоидной и иммунной систем рассматриваются вместе. В настоящее время лимфоидную систему считают объединением как первичных, так и вторичных лимфоидных органов (красный костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы, гемолимфатические узлы, миндалины, червеобразный отросток, лимфоидные (Пейеровы) бляшки, скопление лимфоцитов в слизистых оболочках) в которых постоянно происходят развитие, дифференциация, перемещение, взаимодействие и апоптоз иммунокомпетентных клеток. Лимфоидная система связывает друг с другом иммунологию и лимфологию. Иммунология изучает клеточные реакции иммунитета, а лимфология изучает три взаимосвязанные гомеостатические системы на разных уровнях, от клетки до организма. Первой гомеостатической системой является лимфатический

дренаж тканей, второй – лимфоидная или иммунная, обеспечивающая лимфодетоксикацию, а третьей – внутренняя среда организма. Лимфоидные клетки циркулируют по кровеносным сосудам, а лимфатические сосуды отвечают за коллатеральный к венам дренаж органов, являющийся путем оттока из них антигенов. Считается, что лимфатические пути и лимфоидные образования составляют лимфоидно-лимфатический аппарат в составе сердечно-сосудистой системы, которые вместе составляют иммунопротективную систему.

Таким образом, в науке разрабатывается новый подход к изучению лимфоидной системы человека, представляющей связующее звено между иммунологией и лимфологией.

В тимусе содержатся ветви блуждающего нерва, который образован ветвями четырех нижних шейных спинномозговых нервов и трех шейных симпатических узлов. К тимусу также подходят стволы от диафрагмальных нервов и от шейных петель, представляющие собой симпатические ганглии и холинергические нервы.

Норадренергические нервные волокна, расположенные в корковом и мозговом веществе долек тимуса, выполняют функции нейрохимической модуляции иммунореактивности, т.е. непосредственного взаимодействия нервной и иммунной систем.

Адренергические нервные волокна с сосудами проникают в тимус по кровеносным сосудам, образуя нервно-сосудистые сплетения. Рядом с нервными волокнами находятся тучные клетки.

Симпатическая нервная система осуществляет адренергическую стимуляцию, подавляет развитие тимоцитов, увеличивает образование маркеров клеточной дифференцировки.

Парасимпатическая нервная система вырабатывает ацетилхолин, способствующий биосинтезу антител и развитию лимфоидных клеток при взаимодействии с антигеном.

В тимусе имеются нервные волокна, содержащие различные нейропептиды.

Взаимодействие нервной и иммунной систем происходит во всех органах, в которых есть компоненты этих систем, в том числе и в тимусе.

Иммунная система после активации антигеном, регулирует активность ЦНС путем выработки цитокинов, которые связываются с рецепторами, расположенными на нервных окончаниях блуждающего нерва, симпатических нервных терминалях, а также непосредственно внутри ЦНС и в области гемато-энцефалического барьера. В свою очередь ЦНС сообщается с иммунной системой путем активации симпатических нервных волокон и гипоталамо-гипофизарной системы и надпочечников, в результате которой вырабатываются норадреналин и кортикостероидный гормон. Была установлена значимая роль нервной системы в регуляции функций костного мозга как источника стволовых кроветворных клеток, из которых развиваются иммунокомпетентные клетки. Взаимосвязь в тимусе нервных, иммунных и эндокринных компонентов обеспечивает адаптацию иммунной системы организма к гормональным воздействиям, в том числе и к действию хорионического гонадотропина.

Из всего вышеизложенного можно заключить, что нервная, эндокринная и иммунная системы в организме тесно взаимосвязаны и образуют единую систему управления организмом и его самозащиты от разнообразных внешних воздействий. Действие пептидов тимуса разделяется на 2 категории: влияние на иммунные клетки и взаимосвязь с нейроэндокринными системами.

На основе координационных соединений иммуноактивных дипептидов с ионами цинка и железа (II) разработаны иммуностимулирующие препараты тимофер и , которые казались эффективными при лечении многих тяжелых иммунозависимых заболеваний.

Глава 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Используемые препараты

Для исследования использовали тимоцин (серия 26092014, годен до 26.09.2016 года, производитель ООО «Тиб барои шумо». Таджикистан).

Соединения для исследования выбраны на основе композиций иммуностимулирующего препарата тимогар и ионов серебра, меди (комплекс А), аминокислоты аргинина с ионами серебра и меди (комплекс Б), водные растворы, которые получены путем электролиза ионов серебра (10-8), меди (10-6) в 1 литре, добавления аминокислоты аргинина, препарата тимогар в дозе 100 мкг в 1 л.

Кроме того были использованы водный раствор КС дипептида изолейцил-триптофан с ионами Ag, имеющий концентрацию действующего вещества 158,3 мкг/мл при концентрации дипептида 100 мкг/мл.

При изучении эффективности вакцинопрофилактики ИРТ использовали вакцину инаktivированную комбинированную против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной болезни, вирусной диареи и пастереллеза крупного рогатого скота (КОМБОВАК-Р) (рег. 77-1-5.12-0589№ПВР-1-2.6/01656 от 14.03.12, производитель ООО «Ветбиохим», Российская Федерация).

На анализаторе Dirui-7000D (Китай) с использованием диагностических наборов производства ЗАО «Эколаб» и ОАО «Витал Девелопмент Корпорейшн» (Россия) определяли биохимические показатели крови.

L-глутаминовая кислота, глицин, L-гистидин, L-метионин, L-пролин и L-триптофан были приобретены у Alfa Aesar, ZnCl₂ у Sigma-Aldrich и NaOH у POCH (Польша).

2.2. Синтез и характеристика комплексов Zn(II) (1-6)

2.2.1. Получение Zn(OH)₂

К хлориду цинка (3 г, 0,0220 моль) добавляли 44 мл 1М NaOH (0,0440 моль) и перемешивали. Белое твердое вещество немедленно выпадало в

осадок. Реакционную смесь оставляли примерно на один час на магнитной мешалке и интенсивно перемешивали. Затем осадок отфильтровывали при пониженном давлении, промывали холодной водой и сушили на воздухе в течение ночи.

2.2.2. Синтез комплексов Zn(II) (1-4)

Гидроксид цинка (1 ммоль, 0,0994 г) суспендировали примерно в 15 мл дистиллированной воды; к суспензии добавляли прозрачный водный раствор (приблизительно 10 мл) соответствующей аминокислоты (2 ммоль) (Glu (0,2942 г), Gly (0,1502 г), His (0,3104 г) и Pro (0,2302 г)). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение нескольких минут до растворения суспензии, а затем оставляли перемешиваться на два часа. Любой белый осадок, если он появлялся, отфильтровывали и выбрасывали. Оставшийся прозрачный раствор упаривали до одной трети первоначального объема и давали возможность кристаллизоваться. Через один-три дня выпавший в осадок белый твердый продукт промывали безводным диэтиловым эфиром и сушили на воздухе.

Zn(II) комплекс L-глутаминовой кислоты. $[\text{Zn}(\text{Glu})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1): MW = 375,64; выход: 0,285 г (76%). Анализ. Рассчитано для $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_9\text{Zn}$ ($[\text{Zn}(\text{Glu})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$): C 31,97; H, 4,83; N, 7,46%. Найдено: C, 32,02; H, 5,02; N, 7,48%.

Zn(II) комплекс глицина. $[\text{Zn}(\text{Gly})_2]$ (2): MW = 213,50; выход: 0,181 г (85%). Анализ. Рассчитано для $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{Zn}$ ($[\text{Zn}(\text{Gly})_2]$): C 22,50; H, 3,75; N, 13,12%. Найдено: C 22,51; H, 4,29; N, 12,97%.

Zn(II) комплекс L-гистидина. $[\text{Zn}(\text{His})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3): MW = 409,72; выход: 0,332 г (81%). Анализ. Рассчитано для $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_6\text{Zn}$ ($[\text{Zn}(\text{His})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): C 35,18; H, 4,92; N, 20,52%. Найдено: C 35,13; H, 4,58; N, 20,53%.

Zn(II) комплекс L-пролина. $[\text{Zn}(\text{Pro})_2]$ (4): MW = 293,63; выход: 0,200 г (68%). Анализ. Рассчитано для $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{Zn}$ ($[\text{Zn}(\text{Pro})_2]$): C 40,90; H, 5,49; N, 9,54%. Найдено: C 40,91; H, 7,21; N, 9,55%.

2.2.3. Синтез комплексов Zn(II) (5-6)

Zn(II) комплекс L-метионина. $[\text{Zn}(\text{Met})_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (5):

1. **Метод I:** 2 ммоль метионина (0,2984 г) растворяли в 20 мл воды и добавляли к суспензии $\text{Zn}(\text{OH})_2$ (1 ммоль, 0,0994 г) в 15 мл воды и перемешивали три часа при 50°C. Затем полученный белый продукт реакции отфильтровывали, промывали холодной водой, диэтиловым эфиром и сушили на воздухе. МВт = 370,80; выход: 0,237 г (64%).
2. **Метод II:** К кристаллическому метионину (2 ммоль, 0,2984 г) добавляли 2 мл 1М раствора NaOH (2 ммоль) и перемешивали до растворения метионина. Затем добавляли водный раствор (приблизительно 10 мл) хлорида цинка (1 ммоль, 0,1364 г) смешивали с раствором метионина. Белый продукт немедленно выпадал в осадок. Затем реакцию смесь перемешивали около часа при комнатной температуре, затем фильтровали и промывали холодной водой и диэтиловым эфиром. МВт = 370,80; выход: 0,308 г (83%).

Анализ. Рассчитано для $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_4,5\text{S}_2\text{Zn}$ ($[\text{Zn}(\text{Met})_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$): С 32,39; Н, 5,71; N, 7,56%. Найдено: С 31,99; Н, 5,40; N, 7,48%.

Zn(II) комплекс L-триптофана. $[\text{Zn}(\text{Trp})_2]$ (6): Вкратце, твердый триптофан (2 ммоль, 0,4085 г) сначала растворяли в 2 мл 1М NaOH (2 ммоль). После этого добавляли примерно 10 мл водного раствора хлорида цинка (1 ммоль, 0,1364 г). Сразу же выпадал белый продукт. Затем смесь перемешивали еще час при комнатной температуре, а затем фильтровали и промывали холодной водой и диэтиловым эфиром. МВт = 471,81; выход: 0,425 г (90%). Анализ. Рассчитано для $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4\text{Zn}$ ($[\text{Zn}(\text{Trp})_2]$): С 56,00; Н, 4,70; N, 11,88%. Найдено: С 55,87; Н, 4,43; N, 11,89%.

2.2.4. Исследование антибактериальной активности

Антибактериальные свойства комплексов 1-6 определяли в отношении трех грамположительных штаммов: *Золотистый стафилококк* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 и *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615,

а также две грамотрицательные бактерии: *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Pseudomonas aeruginosa* 27853. Рост микроорганизмов в присутствии тестируемых соединений оценивали с помощью модифицированного микро бульона. Полученные результаты представляли, как минимальную ингибирующую концентрацию (МИК). Исследуемые соединения растворяли в воде (1-4) или в ДМСО (5-6).

Синтез комплексов серебра. Для получения комплексов дипептидов с серебром растворы дипептидов и нитрата серебра смешивали, постепенно добавляя раствор NaOH до начала выпадения осадка. Образовавшиеся комплексы оставляли в темном месте для полного осаждения. После чего осадок фильтровали и сушили на воздухе.

Определение антимикробной активности комплексов проводилось методом диффузии в агар в соответствии со стандартной методикой. В качестве положительного контроля использовали комплексное соединение серебра с сульфадиазином, а в качестве отрицательного контроля – физиологический раствор.

Определение антиоксидантной активности комплексов. При ДФПГ анализе 100 мкл эфирных масел, разведенных в метаноле в интервале концентраций от 7,8 до 1000 мкг/мл, смешивали со 100 мкл 0,2 мМ ДФПГ в метаноле в лунках 96-луночного планшета, который выдерживали в темноте в течение 15 мин, после чего оптическую плотность раствора измеряли при 515 нм в *BiochromASYSUVM 340* (считыватель микропланшетов). Соответствующие растворитель (метанол) и стандарты (аскорбиновая кислота в метаноле) запускали одновременно. Ингибирующую активность (в %) рассчитывали, используя следующую формулу:

$$\begin{aligned} \text{Ингибирующая активность (\%)} &= \\ &= \frac{100 \times [(\text{поглощение образца} + \text{DPPH}) - (\text{поглощение контроля})]}{[(\text{поглощение DPPH}) - (\text{поглощение метанола})]} \quad (2.1) \end{aligned}$$

Значение IC_{50} определяли как количество экстракта, необходимое для ингибирования 50%ДФПГ радикалов.

АБТС^{•+} свободный радикал получали путем растворения 38 мг АБТС реагента в 10 мл деионизированной дистиллированной воды (конечная концентрация 7,0 мМ). Затем 6,5 мг персульфата калия добавляли к АБТС^{•+}раствора и давали реагировать в течение 16 ч с образованием стабильного АБТС^{•+} катион-радикала. Раствор АБТС^{•+} дополнительно разбавляли водой для получения конечного значения коэффициента поглощения между 2,0 и 2,4 при 645 нм. Раствор 20 мМ тролокса готовили в абсолютном этаноле в качестве положительного контроля. В 96-луночный микропланшет загружали 100 мкл экстракта (в диапазоне концентраций 7,8 – 1000 мкг/мл) или тролокс или воды, заготовки добавляли к 100 мкл АБТС^{•+} раствора. Оптическую плотность измеряли при 645 нм, используя *Biochrom ASYS UVM 340* (считыватель микропланшетов компании *Biochrom*). Ингибирующую активность рассчитывали как для анализа ДФПГ.

2.3. Изучение эффективности применения тимоцина при псориазе

Лечению подвергалось 60 больных псориазом в возрасте 16-60 лет (мужчин – 26, женщин – 34),средний возраст составил $31,1 \pm 2,2$ года (среди мужчин – $29,8 \pm 2,1$ года, среди женщин – $32,9 \pm 2,4$), причем 48 (80%) больных находились в возрасте наибольшей трудовой активности. Половозрастная структура больных приведена в таблице 5 и на рисунке 5.

Таблица 5. – Половозрастная структура больных с псориазом

Возраст	Мужчины		Женщины	
	Кол-во	%	Кол-во	%
16-20	4	0,64	7	1,4
21-30	11	2,31	13	3,9
31-40	6	1,86	7	2,17
41-50	2	0,82	4	2
51-60	3	1,53	3	1,8

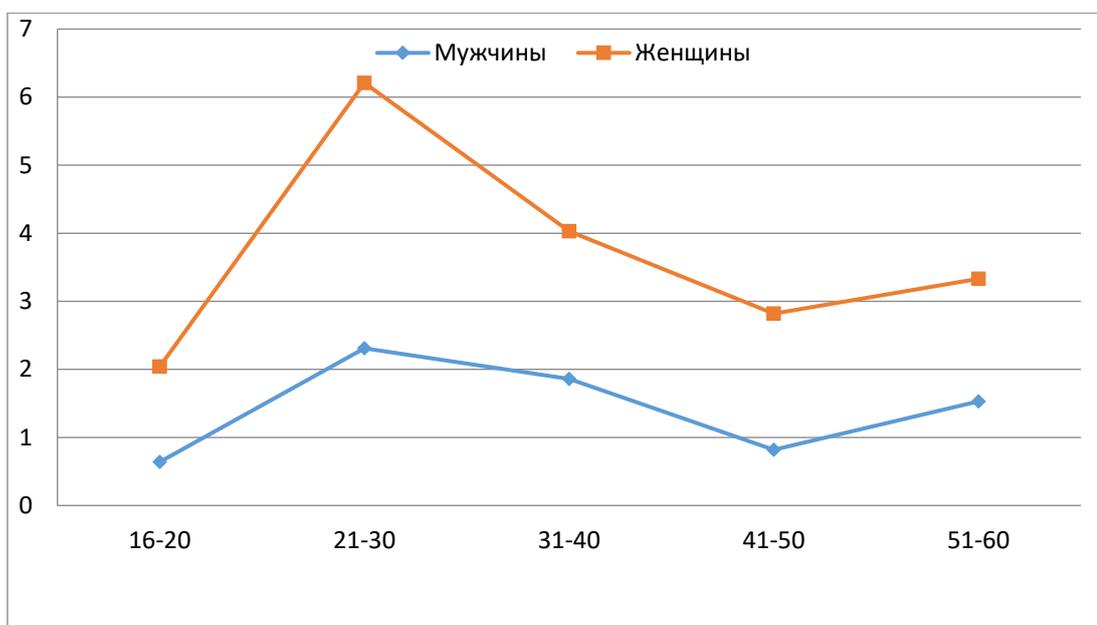


Рисунок 5. – Диаграмма половозрастная структура больных псориазом

Количественная характеристика заболевания и характеристика заболевания по форме приведены в таблицах 6 и 7 и на рисунках 6 и 7 соответственно.

Таблица 6. - Количественная характеристика заболевания

Длительность заболевания	Чел.	пораженность общей поверхности тела, %	%
До 5 лет	8	10-20	26,7
6-10	18	20-30	31,7
10-20	15	30-40	15
более 20	19	более 50	8,3

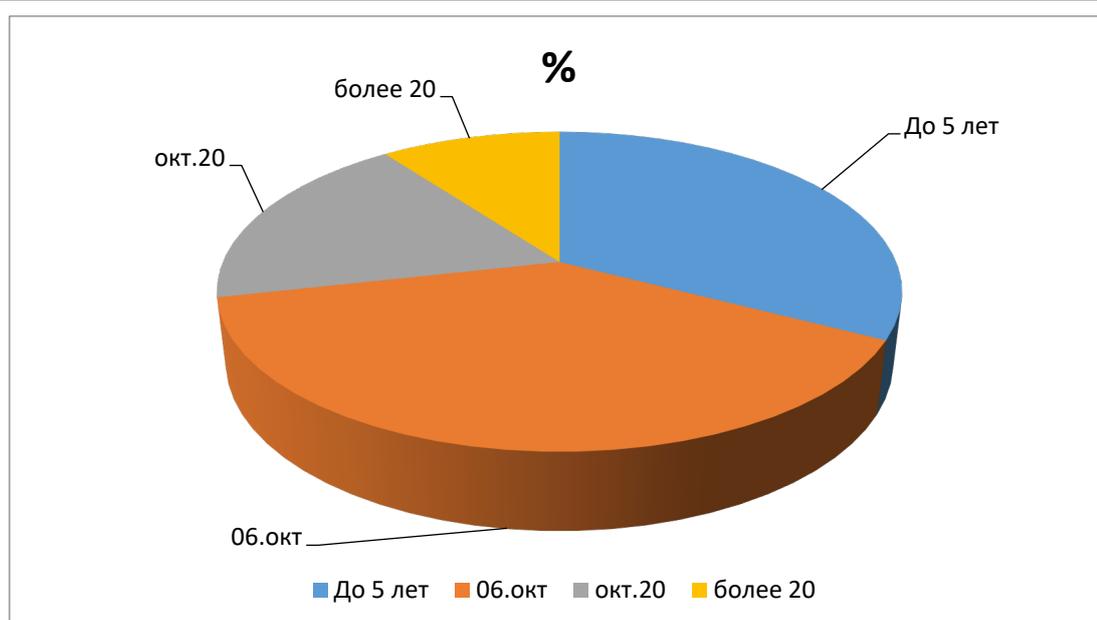


Рисунок 6. – Диаграмма количественной характеристики заболевания

Таблица 7. – Характеристика заболевания по форме

Вид псориаза	%	Стадия заболевания	Чел.	Форма	%
вульгарный	93,3	прогрессирующая	46	каплевидно-монетовидная	18,3
экссудативный	6,7	стационарная	14	каплевидно-мелкобляшечная	40
-	-	-	-	бляшечно-крупнобляшечная	26,7
-	-	-	-	Крупнобляшечная	15
-	-	-	-	осенне-зимняя	71,7
-	-	-	-	весенне-летняя	10
-	-	-	-	Внесезонная	18,3

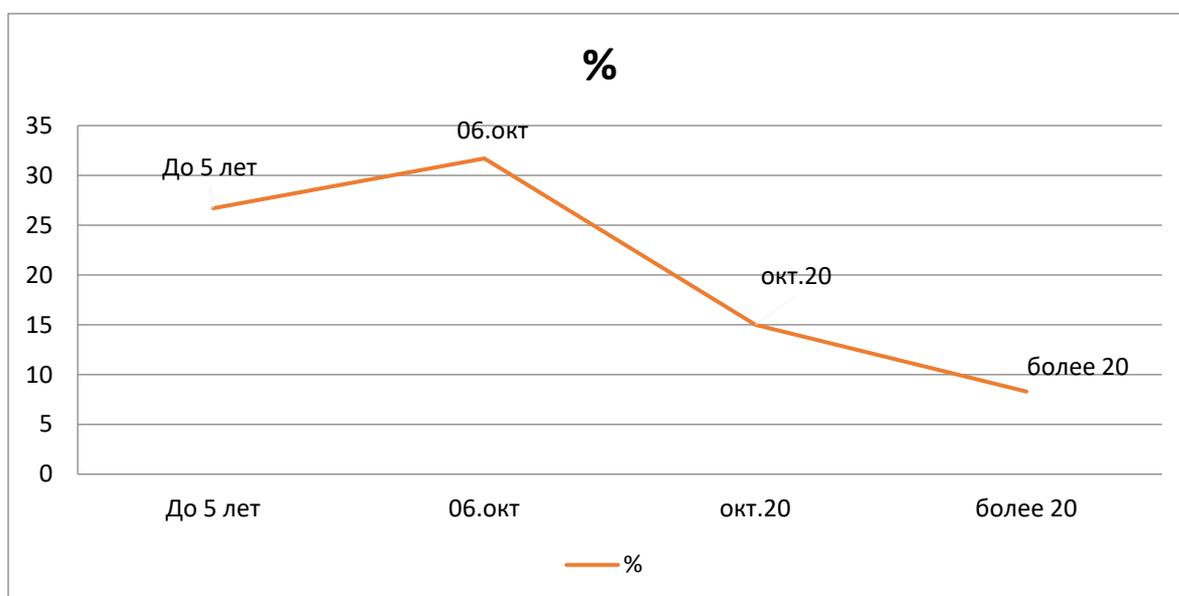


Рисунок 7. – Диаграмма характеристики заболевания по форме

Ежегодная частота обострения дерматоза отмечалась у 65% больных, один раз в 2-3 года – у 10%, редко – у 11,7%, непрерывный характер – у 13,3% больных.

У 33 (55%) больных отмечались сопутствующие заболевания, в том числе у 9 из них хронический гастрит, язвенная болезнь желудка или 12-перстной кишки, хронический колит, у 10 – хронический гепатит, гепатохолецистит, холецистопанкреатит, у 10 – хронический тонзиллит и синуситы, у 13 – кариес, гипертоническая болезнь и атеросклероз – у 11, эндемический зоб I и II степеней – у 8, варикозный симптомокомплекс – у 6,

сахарный диабет – у 7, хронический бронхит, трахеит – у 5, аллергические заболевания (крапивница, ринит, конъюнктивит, бронхиальная астма) – у 11, хронический пиелонефрит, мочекаменная болезнь, простатит – у 13. По 4-5 сопутствующих заболеваний имели 8 больных, по 2-3 - 21, по одному – 4.

Причиной обострения заболевания у 19 больных являлись нервно-психические стрессы, у 21 – рецидив сопутствующих аллергических и простудных заболеваний, у остальных – беспричинно. Наследственная причина псориаза отмечена у 12 (20%) больных: у 7 – по линии отца, у 5 – матери.

Всем больным до и после лечения помимо общеклинических анализов крови, включая анализ на РВ, анализ на мочи и анализ на кала на я/глист, определяли абсолютное и относительное содержание Т- и В-лимфоцитов в периферической крови, субпопуляций Т-лимфоцитов, сывороточных иммуноглобулинов, ЦИК, фагоцитарное число и фагоцитарную активность нейтрофилов. Содержание Т-лимфоцитов определялось методом спонтанного розеткообразования Е-РОК, В-лимфоцитов - комплементарного розеткообразования ЕАС-РОК, Т-хелперы и Т-супрессоры, IgA, IgM, IgG – реакции простой радиальной иммунодиффузии, ЦИК - методом преципитации полиэтиленгликоля.

Для проведения исследований больные были разделены на 2 группы с приблизительно одинаковыми медицинскими характеристиками.

В первую группу включены 30 человек (14 мужчин, 16 женщин). Больным этой группы проведено комбинированное лечение базисными средствами и ом. В качестве базисных средств применяли гемодез (400 мл внутривенно 3 раза в неделю), 10% раствор глюконата кальция (внутривенно 1 раз в сутки), чередуя с 30% раствором тиосульфата натрия (на курс лечения по 6-7 инъекций каждого препарата) применяли в течение 10 дней внутримышечно по 1 мл один раз в день.

Пациентам второй группы (12 мужчин и 18 женщин) проводили только базисную терапию, и эта группа являлась контрольной.

После перевода прогрессирующей стадии заболевания в стационарную, а также больным со стационарной стадией псориаза дополнительно назначались физиотерапевтические процедуры в виде ультрафиолетовых облучений по сегментам в эритемной дозе - №12-14 и местное лечение 3% салициловой, в последующем - мазью нафтодерм.

2.4. Изучение влияния тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите

10 беспородным кроликам массой 2-3 кг вводили смесь четыреххлористого углерода с растительным маслом (1:1) в объеме 2 мл в течение 10 дней один раз в день.

Животных начинали лечить тимоцином после введения четыреххлористого углерода. Тимоцин вводили в течение 10 дней один раз в сутки в дозе 0,01 мл на 1 кг веса животного.

1. До и после введения тимоцина в сыворотке крови опытных кроликов определяли показатели, характеризующие функционирование печени.
2. **Цель:** Исследовать влияние а на функционирование печени.
3. **Методика:** 10 кроликам вводили четыреххлористый углерод (2 мл) в течение 10 дней для моделирования токсического гепатита. После этого животных лечили ом (0,01 мл/кг) в течение 10 дней.
4. **Параметры оценки:** Биохимические показатели крови до и после лечения.
5. **Вывод:** Применение а способствовало восстановлению функций печени.

2.5. Методика изучения токсических и фармакологических свойств и получение комплексов на основе аминокислоты аргинина и изолейцил-триптофана с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота

Влияние соединений на слизистую оболочку глаз изучали на 6-ти кроликах в двух группах (n=6). В первой группе испытывали комплекс А, во

второй – комплекс Б. В конъюнктивальный мешок одного из глаз накапывали по 1-2 капли растворов соединений, второй глаз служил контролем. Через час после закапывания соединений наблюдали за происходящими изменениями ежедневно, на протяжении 14 дней. На протяжении эксперимента определяли общее состояние животных обеих групп, их подвижность, аппетит; особенно состояние глаз (покраснение, отек, слезотечение, выделения, реакции радужной оболочки на свет, патологические изменения роговицы). Количественную оценку проводили по 10 - балльной системе А.Вайда.

Для определения, кожно-раздражающего и аллергизирующего действия изучаемых соединений использовали 18 кроликов в двух группах (n=9) массой 2,5-3 кг, методом кожной и конъюнктивальной проб. Для эксперимента применяли комплексы соединений и их растворы, разбавленные в соотношениях 1:2; 1:4 в воде для инъекций. Все растворы наносили на очищенный участок кожи 60 см в объеме 0,1 мл/см² раствора. С обратной стороны туловища на такой же участок кожи наносили столько же водопроводной воды. Нативные комплексы соединений оказывали слабый раздражающий эффект при их воздействии на кожу подопытных животных и не имели аллергизирующего эффекта.

Аппликацию растворов соединений и воды осуществляли 2 раза в сутки на протяжении 15 дней последовательно с выдержкой 4 часа. Ежедневно наблюдали за поведением животных и состоянием кожи, регистрируя функционально-морфологические изменения последней (эритема, отек кожи, гиперемия, шелушение и др.). Выраженность этих показателей оценивали в баллах по линейке С.В.Суворова.

Для изучения острой токсичности LD₅₀ исследуемых комплексов использовали 60 беспородных мышей обоего пола массой 18-22 г, которых разделили на 10 групп по 6 голов (3 самца и 3 самки), 12 животных оставили в качестве контроля. Комплексы вводили перорально в дозах 1500, 2500, 3500, 5000 мг/кг. В течение 2-х недель после введения комплексов за животными вели наблюдение, учитывая падеж животных, наличие

интоксикации, поведение, аппетит, изменения веса, подвижность, вид шерстного покрова и слизистых оболочек животных.

Антибактериальные свойства комплекса аминокислоты триптофана (тимогар – это триптофансодержащий дипептид) с ионами серебра известны [89, с.93]. Поэтому провели исследование такой особенности только у комплекса А - аргинина с ионами меди и серебра. Минимальную бактериостатическую концентрацию (МБСК) комплекса определяли *in vitro* методом серийных разведений в мясопептонном бульоне (МПБ) в соответствии с методическими указаниями [21, с.465].

Минимальную бактерицидную концентрацию (МБЦК) – методом посева на мясопептонный агар (МПА), не содержащий комплексы. Концентрация микробных клеток в 1 мл среды была равна 500 тысяч.

Оптимальную терапевтическую дозу и схему применения комплекса А при катаральном конъюнктивите КРС определяли на животноводческой ферме «20-лет Независимости» Вахшского района» на молодняке 6-12-месячного возраста (18 голов), заболевшем при нахождении на пастбищах. Животные были разделены на 3 равные группы. В конъюнктивальный мешок поражённого глаза животным первой и второй групп вносили комплекс А в дозе 0,01мл и 0,03 мл соответственно один раз в день, в течение 5 дней, животных контрольной (3-ей) группы лечили препаратом «Мизофен» согласно инструкции по его применению в течение того же срока. В течение эксперимента животных обследовали клинически и микроскопировали смывы из конъюнктивальной полости до введения препаратов, через 3 и 5 дней после лечения.

Для исследования фармакологического эффекта комплексов объектами исследования были выбраны коровы и телята вышеназванной животноводческой фермы в период февраль-апрель 2018 г. Среди поголовья коров и телят фермы 21 животное (коров и телят) оказались заболевшими острым катаральным конъюнктивитом, 15 – гнойным конъюнктивитом. Характер заболевания определил ветеринарный врач: при клиническом

осмотре больных животных было обнаружено наличие припухлости конъюнктивы, слезоточивости, светобоязни, повышенной температуры. Определение гнойного конъюнктивита: отек конъюнктивы, поверхность конъюнктивы покрыта слизисто-гнойными выделениями, слизистая оболочка местами была поражена некрозом.

Для лечения конъюнктивита названные соединения применялись в виде капель по 0,03в мл конъюнктивальный мешок глаз коров и телят два раза, ежедневно в изолированном помещении. Контроль осуществляли сразу после введения соединений, через час и ежедневно в течение двух недель. Был проведен гематологический и биохимический анализ крови животных до и после лечения указанными комплексами.

10 коров и телят с острым катаральным конъюнктивитом лечили композицией аргинина с ионами меди и серебра (А), 11 –комплексом тимогар с ионами меди и серебра (В). 8 голов коров с гнойным конъюнктивитом лечили комплексом А, 7-голов – комплексом В при ежедневном осмотре ветеринарного врача.

По ходу исследований у животных отмечали общее состояние, аппетит, температуру тела, частоту пульса и дыхания. При осмотре исследовали зрительную способность глаз. Морфологические, биохимические, бактериологические, иммунобиологические исследования крови, содержание кальция, фосфора проводили согласно общепринятым методам.

В работе использованы гематологические анализаторы «Mindry-20S», Mindry 5150S. Биохимические изучения крови проводились на анализаторе Mindry-88.

Полученные данные статистически обработаны при помощи программных пакетов MS Excel (2007), Statistica v. 6.1.

2.6. Методика проведения изучения влияния комплексов изолейцил триптофана с ионами серебра и цинка на показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите

У 30 беспородных кроликов массой 2-3 кг вызывали токсический гепатит, как и в предыдущем случае.

Кроликов разделили на 3 аналогичные группы. После окончания введения четыреххлористого углерода животным первой группы вводили дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра, второй - тимоцин в течение 10 дней один раз в сутки в дозе 0,01 мл на 1 кг веса животного, третья группа - контрольная.

Биохимические показатели крови определяли в том же объеме и теми же методами, как и в предыдущем случае.

1. Статистическую обработку результатов проводили согласно математико-статистической обработке данных медицинских исследований.
2. **Цель:** Сравнить действие а и дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра, второй при токсическом гепатите.
3. **Методика:** 30 кроликов с токсическим гепатитом разделили на три группы. Две группы получали КС с серебром и КС с цинком, контрольная – без лечения.
4. **Параметры оценки:** Биохимия крови (билирубин, ферменты).
5. **Вывод:** Оба препарата показали гепатопротекторные свойства, с разницей в эффективности.

2.7. Терапевтические свойства комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота

Готовили водные растворы дипептида изолейцил-триптофан с концентрацией дипептида 200 мкг/мл и нитрата серебра с концентрацией иона серебра 116,6 мкг/мл. Раствор координационных соединений получали смешиванием равных объемов растворов дипептида и нитрата серебра при 70°С с получением координационных соединений с общей концентрацией действующего вещества 158,3 мкг/мл.

У животных до и после лечения проводили клинический и биохимический анализы крови.

Для эксперимента было сформировано 2 группы животных: группа «А» - животные, заболевшие герпесвирусом КРС 1-го типа (16 голов); группа «В» - животные, заболевшие герпесвирусом КРС 5-го типа (16 голов). Каждая группа была разделена на равные подгруппы.

Кроме стандартного лечения животным одной подгруппы каждой группы вводили координационные соединения дипептида изолейцил-триптофан и серебра в дозе 1 мл на 100 кг живого веса, другой – в той же дозе один раз в день в течение 10 дней.

1. Анализ крови проводили до лечения и через 21 и 35 дней после лечения.
2. **Цель:** Оценить терапевтическое действие дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и тимоцина.
3. **Методика:** 32 животным с герпесвирусом 1-го и 5-го типов вводили препараты (1 мл/100 кг) в дополнение к стандартному лечению.
4. **Параметры оценки:** Клинические симптомы, анализ крови через 21 и 35 дней.
5. **Вывод:** Координационные соединения и улучшают показатели крови и состояние животных.

2.8. Методика изучения влияния координационных соединений изолейцил триптофана с ионами меди и серебра на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят

Вакцинопрофилактика ИРТ. 48 телят 30-ти дневного возраста разделили на 4 одинаковые группы. Животных первой группы не вакцинировали. Животным остальных групп вакцину вводили внутримышечно в дозе 2 см³/гол, животным третьей группы дополнительно с вакциной вводили тимоцин, четвертой – КС с ионом серебра. Животных ревакцинировали через 20 дней согласно инструкции по применению вакцины. На 20, 60, 120 и 180 дни после первичной вакцинации у животных брали кровь для анализов.

Для определения титра антител использовали реакцию нейтрализации (РН) согласно ГОСТ 25755-91 «Крупный рогатый скот. Методы лабораторной диагностики инфекционного ринотрахеита» на культуре клеток МДВК с использованием вакцинного штамма «ТК-А (ВИЭВ)-В2» герпесвируса-1 крупного рогатого скота.

Лечение ИРТ. Готовили водные растворы дипептида изолейцил-триптофан с концентрацией дипептида 200 мкг/мл и нитрата серебра с концентрацией иона серебра 116,6 мкг/мл. Раствор координационных соединений получали смешиванием равных объемов растворов дипептида и нитрата серебра при 70°С с получением координационных соединений с общей концентрацией действующего вещества 158,3 мкг/мл.

У животных до и после лечения проводили клинический и биохимический анализы крови.

Для эксперимента было сформировано 2 группы животных: группа «А» - животные, заболевшие герпесвирусом КРС 1-го типа (16 голов); группа «В» - животные, заболевшие герпесвирусом КРС 5-го типа (16 голов). Каждая группа была разделена на 2 подгруппы.

Дополнительно к стандартному лечению животным одной подгруппы каждой группы вводили координационные соединения дипептида изолейцил-триптофан и серебра в дозе 1 мл на 100 кг живого веса, другой – в той же дозе один раз в день в течение 10 дней.

1. Анализ крови проводили до лечения и через 21 и 35 дней после лечения.
2. **Цель:** Исследовать иммуномодулирующее действие препаратов при вакцинации.
3. **Методика:** 48 телят разделили на 4 группы. КС применяли совместно с вакциной. У животных определяли титры антител на 20, 60, 120 и 180 дни.
4. **Вывод:** Совместное применение препаратов с вакциной увеличивает иммунный ответ.

2.9. Методика изучения влияния биokoординационных соединений изолейцил триптофана с ионами меди и сереба на эффективность лечения телят при диарее

20 телят 7-14 дневного возраста, разделили на 4 группы по 5 голов в каждой. В первую группу включили клинически здоровых животных, во вторую, третью и четвертую – с желудочно-кишечными расстройствами.

Телятам всех групп проводили общие лечебно-профилактические мероприятия. Вакцинировали ассоциированной эмульсионной инактивированной вакциной против парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота. Вакцину вводили внутримышечно в дозе 2 мл на голову с интервалом 21 сут. в 3- и 24-суточном возрасте. Для исключения возникновения микроэлементозов вводили внутримышечно препарат Седимин в дозе 5 мл на животное однократно в 4-суточном возрасте и комбинированный витаминный препарат Элеовит внутримышечно по 5 мл с интервалом 2 недели в 4 и 18суточном возрасте. Для лечения применяли гипериммунную сыворотку СПВИ-КРС по 25 мл внутримышечно на 1 животное двукратно с интервалом 24 часа, в 3 – и 4 – суточном возрасте.

Животным второй, третьей и четвертой групп применяли антибиотик Кепроцерил WSP с лечебной целью перорально индивидуально с водой для поения в суточной дозе 1 г на 1 л воды в течение 7 сут.

Животным II группы (контроль) больше никаких препаратов не вводили. В течение этого времени соблюдали 6 – часовую голодную диету.

Животным III группы в качестве иммуномодулирующего средства с лечебной целью дополнительно вводили тимоцин внутримышечно один раз в сутки в течение 10 сут. в дозе 1 мл на 100 кг живого веса на одно животное.

Телятам IV группы с лечебной целью вводили в качестве противовирусного и иммуномоделирующего средства применяли **изолейцил триптофана с ионами меди и сереба** внутримышечно в дозе 1 мл на 100 кг живого веса на одно животное.

Перед опытом, а затем на 5, 10, 20, 30 и 60 сут. у животных брали кровь, фекалии и носовую слизь для лабораторных исследований. Кровь для анализа брали из яремной вены через 3 часа после очередного кормления.

Предварительный диагноз на вирусную диарею телят устанавливали на основании клинических признаков.

1. В крови телят определяли количество эритроцитов и лейкоцитов, содержание гемоглобина, общего белка и его фракций, общего кальция, общего билирубина, фагоцитарной активности нейтрофилов, бактерицидной активности сыворотки крови, цветового показателя, скорости оседания эритроцитов. Телята в процессе эксперимента подвергались клиническому обследованию. Эксперимент проводили в течение 10 дней.
2. **Цель:** Оценить лечебный эффект при желудочно-кишечных расстройствах.
3. **Методика:** 20 телят с диареей разделили на 4 группы. В двух из них дополнительно применяли иммуномодуляторы.
4. **Параметры оценки:** Биохимия крови, состояние фекалий, клинические показатели на 5, 10, 20, 30 и 60 дни.
5. **Вывод:** Препараты улучшают клиническое состояние и ускоряют выздоровление.

Выводы по второй главе

В работе использованы методы изучения токсических свойств лекарственных препаратов, методы биохимического анализа крови. Применение этих методов позволило провести следующие исследования: изучение эффективности применения а при экспериментальном токсическом гепатите; изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота; изучение биохимических показателей крови кроликов при экспериментальном гепатите после

введения а и а; изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота; изучение терапевтических свойств комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота. Примененные методики позволили объективно оценить токсические, фармакологические и терапевтические свойства изучаемых соединений.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Получение и изучение комплексов цинка с аминокислотами

3.1.1. Предпосылки для создания комплексов металлов с аминокислотами и пептидами

Бактериальные инфекции считаются способствующими заболеванию человека как в развитых, так и в развивающихся странах. Антимикробные препараты уже более 100 лет применяются против различных бактериальных инфекций как у людей, так и у животных. Первое синтетическое противомикробное соединение сальварсан было получено в 1910 году и открытие пенициллина в 1928 году привели к эре антибиотиков в 20 веке. Однако чрезмерное использование антибиотиков в больницах, в сельском хозяйстве ускорило развитие устойчивости к антибиотикам. Кроме того, появление и распространение во всем мире бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), таких как метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA), ванкомицин-резистентный энтерококк (VRE) или карбапенем-резистентный *Enterobacteriaceae* (CRE), являются серьезной проблемой здравоохранения. Поэтому актуальной задачей является разработка новых и мощных антибактериальных средств. Антимикробные пептиды (АМП) привлекли внимание ученых как препараты в борьбе с различными заболеваниями, вызываемыми устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами. АМП являются короткими пептидами, число аминокислот в таких пептидах обычно составляет от 12 до 40. Их поверхности имеют положительный заряд, поскольку содержат основные аминокислоты, такие как аргинин, лизин, гистидин, обычно находятся в них в большом количестве. За счет положительного заряда они взаимодействуют с отрицательно заряженными мембранами бактерий. Кроме того, многие АМП содержат от 40 до 60% гидрофобных аминокислот, которые важны для прохождения через гидрофобную мембрану бактерий. Однако существует также несколько анионных АМП, в которых много кислых аминокислот, таких как аспарагиновая или глутаминовая кислота. Большинство АМП в

водных растворах имеют неупорядоченную структуру, но при реакции с бактериальной мембраной АМП образует амфифильные структуры, в которых гидрофобные остатки находятся на одной стороне пептида и гидрофильные остатки на другой. Механизмы действия АМП сложны и до сих пор не выяснены, но наиболее общепринятый механизм можно объяснить тем, как взаимодействие пептидов с мембраной микроорганизма приводит к нарушению ее целостности. Избирательное связывание обычно связано со свойствами структуры пептида, например размер, заряд, гидрофобность, вторичная структура и амфифильные характеристики. Более подробная информация об их механизме действия, а также проводимых их изменениях для повышения антибактериальной активности имеется в обзоре [81, с.466]. Решением вопроса об устойчивости микробов к антибиотикам является, по всей видимости, разработка новых соединений на основе АМП как терапевтических препаратов. В дальнейшем было изучено несколько природных АМП. За счет химических модификаций было получено увеличение антибактериальной активности. К таким модификациям относятся координация с ионом переходного металла: наличие которого меняет как структуру АМП и обеспечивает окислительно-восстановительное действие на клетки микробов. Важным моментом в исчезновении устойчивости к антибиотикам является полное понимание механизма действия известных лекарств и того, что его можно улучшить за счет присутствия металлов для создания новых металлических противомикробных препаратов на основе природных АМП [77, с.238]. Одним из подходов к соединению АМП с эффективным противомикробным ионом металла является его соединение с АМП посредством процессов физисорбции или хемосорбции. Таким образом, получено повышение антимикробной активности при совместном применении $\text{Ag}(\text{Au})\text{НЧ}$ и АМП. Второй подход заключается в модификации простых АМП ионами переходных металлов для получения высокого антимикробного эффекта. Перспективной стратегией является создание

комплексов на основе ионов металлов в качестве возможных противомикробных веществ [75, с.3142].

Комплексы пептидов с металлами обладают большой антимикробной активностью путем изменений структуры пептидов при соединении с металлами. Они проявляют разные механизмы действия, которые включают модификацию ДНК/РНК, белков, синтез клеточной стенки, модуляцию градиентов клеточных мембран.

Самыми перспективными с точки зрения антибактериальных свойств, являются комплексы серебра. Это объясняется тем, что само серебро обладает противомикробной активностью. Было обнаружено, что в растворе координационных соединений серебра и триптофана с концентрацией серебра $6,67 \times 10^{-3} - 2 \times 10^{-3}$ моль/л или 0,0072-0,0216% проявили активность против стафилококков и стрептококков. При этом активность в отношении стафилококков была равна бактерицидному эффекту гентамицина, ампициллина и эритромицина и меньше, чем у других исследованных антибиотиков эритромицина, амоксиклава и клиндомицина. При этом в растворе было отмечено образование комплексных форм $[Ag(HL)]$, $[Ag(HL)_2]$, $[Ag(L)]$, $[Ag(L)_2]$ и $[AgL(HL)]$ с логарифмами константам образования, равными -5,824, -3,523, 4,103, 6,805, 5,771 соответственно.

Многие комплексы серебра (I) на основе различных лигандов были получены, протестированы и обобщены в отношении антимикробных свойств [44. с.3-5; 27, с.6; 8, с.31], комплексы серебро(I)-пептид описаны редко. С другой стороны, во многих работах приводятся данные о получении, характеристике и антимикробной (иногда также противораковой) активности комплексов серебра (I) с различными аминокислотами [72, с.109]. За последнее время мы изучали комплексы серебра (I) с аминокислотами и даже с дипептидами с точки зрения получения, характеристики и биологической оценки. Было проведено полное изучение антимикробной активности выбранных аминокислотных и дипептидных комплексов серебра (I), проведенных в одной серии экспериментов, что позволяет провести их

достоверное сравнение. Также предполагается наличие прямой корреляции между составом комплексов Ag(I) и их антибактериальной активностью.

В качестве исходного источника серебра (I) при синтезе использовали дешевую и доступную соль нитрата серебра (I), а аминокислотные и дипептидные лиганды коммерчески доступны. При получении комплексов AgGly, AgAla, AgGlyGly, AgGlyAla и AgGlyAsp соответственно. В качестве реакционной среды использовали воду. Были получены следующие комплексные соединения: $\{[Ag_2(HGly)_2]\}_n(NO_3)_{2n}$ (AgGly); HGly = глицин, $\{[Ag_4(HAla)_4(NO_3)_3]\}_n(NO_3)_n$ (AgAla); HAla = l-аланин, $\{[Ag(HLeu)(NO_3)]\}_n$ (AgLeu); HLeu = l-лейцин, $\{[Ag(HGlyGly)]\}_n(NO_3)_n$ (AgGlyGly); HGlyGly = Глицил-Глицин, $\{[Ag_2(HGlyAla)(NO_3)_2]\}_n$ (AgGlyAla); HGlyAla = глицил-l-аланин $\{[Ag_2(HGlyAsp)(NO_3)]\}_n$ (AgGlyAsp); H₂GlyAsp = глицил-l-аспарагиновая кислота.

Противомикробное действие этих комплексов сравнивали с комплексом серебра(I) AgLeu с аминокислотой l-лейцином (HLeu) может быть связан с различной скоростью транспорта аминокислот в бактериальные клетки. Мы предполагаем, что транспорт соединений в клетку обеспечивается переносчиками аминокислот.

Комплексы серебра (I) легко переносятся через транспортеры в цитоплазму, что, вероятно, также связано с объемом молекулы. Наконец, комплекс, внутри бактерии, по-видимому, распадается, и активная часть – ион серебра (I) высвобождается в цитоплазму и становится доступной для специфических мест воздействия в бактериальных клетках. Комплексы серебра(I) с дипептидами AgGlyGly, AgGlyAla и AgGlyAsp показали снижение активности по сравнению с комплексами с аминокислотными лигандами.

Антибактериальную активность сульфадиазина серебра (I) (AgSD) сравнивали с активностью комплексов серебра (I) и лигандов комплексов. AgSD является коммерчески используемым антимикробным агентом, поэтому мы использовали его в качестве стандарта для сравнения

антимикробной активности вновь полученных соединений. Мы установили, что комплексы серебра(I), особенно AgGly и AgAla, обладают сравнимой антимикробной активностью с AgSD.

Наибольшую активность в отношении грамположительного бактериального штамма *S. aureus* мы считаем у комплексов AgGly, AgAla и AgLeu. Комплекс AgGly оказался наиболее активным, а комплекс AgLeu – наименее эффективным.

Рост *S. aureus* в присутствии комплекса AgGly в различных концентрациях хорошо видна зависимость эффективности этого соединения от его концентрации. Если раствор комплекса в концентрации 1 мкМ оказался практически неэффективен по сравнению с контролем, то AgGly в концентрации 5 мкМ вызывал 90% ингибирование роста этого микроба.

Показано влияние комплекса AgAla, использованного в тех же концентрациях, что и комплекс AgGly (1, 5 и 10 мкМ), на рост *S. aureus*. Эффект комплекса AgAla меньше, чем эффект комплекса AgGly.

Экспериментальные данные, полученные в этой работе, показывают, что комплекс AgLeu оказался наименее эффективным из трех комплексов серебра (I) с аминокислотными лигандами. Действие комплекса AgLeu в концентрации 5 мкМ приводило к 50% ингибированию роста *S. aureus*, а в концентрации 10 мкМ рост бактерий подавлялся на 90%.

Показано, что метициллин-резистентный *S. aureus* L12 (MRSA) менее чувствителен к действию комплексов серебра(I), чем метициллин-чувствительный *S. aureus* (MSSA). Было обнаружено, что в присутствии комплексов AgGly и AgAla разница в их антибактериальной активности выражена незначительно. Значения IC₅₀ и MIC₉₀ комплексов AgGly и AgAla сопоставимы и не превышают концентрации комплекса 10 мкМ.

Наиболее значительная разница в чувствительности штаммов была в присутствии AgLeu. Для достижения 50% ингибирования роста *S. aureus* требовался 5 мкМ раствор AgLeu, тогда как в случае *S. aureus* L12 50 % ингибирование роста достигалось в присутствии комплекса в концентрации

38 мкМ, что представляет собой концентрация в 7,6 раза выше. Аналогичная тенденция активности наблюдалась при 90% ингибировании роста бактерий, где значение МИК₉₀ AgLeu для *S. aureus* составляло 10 мкМ, а для *S. aureus* L12 – 48 мкМ.

Присоединение глицинового остатка к используемым аминокислотам в комплексах серебра (I) приводит к снижению их антибактериальной активности как в отношении *Staphylococcus sp.* (*S. aureus* и *S. aureus* L12), что четко видно по значениям IC₅₀ и MIC₉₀. Показано сравнение антибактериальной активности в присутствии комплексов AgGly, AgGlyGly и комплексов AgAla, AgGlyAla.

Комплексы серебра (I) на основе дипептидов глицилглицина (HGlyGly), глицил-1-аланина (HGlyAla) и глицил-1-аспарагиновой кислоты (H₂GlyAsp) оказались менее эффективными, чем аминокислотные комплексы. Наибольшую антибактериальную активность мы наблюдали в присутствии комплекса AgGlyAla при тестировании упомянутых дипептидных комплексов (AgGlyGly, AgGlyAla и AgGlyAsp). Антимикробная активность у AgGlyAla была несколько выше активности двух других комплексов в случае метициллин-чувствительного штамма *S. aureus*, а также в случае устойчивого к метициллину штамма *S. aureus* L12.

Уровень активности комплексов, вероятно, связан с тем, что *E. coli* имеет разные системы транспорта глицина, аланина и лейцина в клетку. Транспортёр CysA, или симпортер d-серин/аланин/глицин/:H⁺, участвует в транспорте глицина, аланина и серина в клетки *E. coli* [74, с.2153], что может объяснить почти сопоставимую активность комплексов AgGly и AgAla. LivKНMGF – транспортер, участвующий в транспорте L-лейцина, L-валина и L-изолейцина через клеточную мембрану *E. coli*. Эта транспортная система демонстрирует более низкую скорость транспорта аминокислот через клеточную мембрану *E. coli*, чем транспортер CysA, что, возможно, связано с меньшей активностью комплекса AgLeu.

Аналогично, как это наблюдалось в случае грамположительных бактерий *S. aureus* и *S. aureus* L12, соединения, в которых аминокислотный лиганд заменен на дипептид, ингибировали рост грамотрицательного бактериального штамма *E. coli*.

Экспериментальные данные, подтвердили, что комплекс AgGly в концентрации 5 мкМ ингибировал рост *E. coli* 90%, тогда как комплекс AgGlyGly в той же концентрации ингибировал рост *E. coli* менее чем на 50%.

Мы также отметили более низкую эффективность комплекса AgGlyAla по сравнению с комплексом AgAla.

Разная активность моноаминокислотных комплексов серебра (I) и дипептидных комплексов серебра(I), возможно, связана с разными системами транспорта комплексов в клетку. Транспортер CysA (d-серин/аланин/глицин/:H⁺-симпортер) представляет собой транспортную систему, с помощью которой глицин и L-аланин проникают в бактериальную клетку *E. coli*. Однако транспортером, ответственным за поступление дипептидов, является транспортер DppA (дипептид-связывающий белок). Несмотря на то, что это универсальный дипептидсвязывающий транспортер, т.е. DppA, он позволяет транспортировать любые дипептиды в *E. coli*. Смит [74, с.2153] установил, что этот транспортер имеет различное сродство к разным дипептидным субстратам. Полученные результаты исследования показали, что в дипептидах транспортер имел наибольшее сродство к первой аминокислоте в последовательности, если второй аминокислотой в последовательности был аланин (X-Ala), за которым следовал дипептид с глицином в качестве второй аминокислоты (X-Ala). Транспортер имел наименьшее сродство к дипептиду, второй аминокислотой которого была аспарагиновая кислота (X-Asp) [74, с.2153].

Близостью транспортера, вероятно, объясняется и активность наших комплексов. На основании результатов экспериментов мы прогнозируем, что антибактериальная активность комплексов диаминокислот с серебром(I) коррелирует со сродством транспортера к дипептидам. Комплекс AgGlyAla

показал наибольшую активность, за ним следовал комплекс AgGlyGly, а комплекс AgGlyAsp ингибировал рост грамотрицательных бактерий до самого низкого уровня.

Результаты исследования антибактериальной активности послужили основой для проверки эффективности комплексов по разрушению стафилококковых биопленок. Для экспериментов мы применяли пластиковую поверхность микропланшетов (абиотическую поверхность). Эти планшеты модифицированы для культивирования прикрепившихся клеток, что облегчает адгезию микроорганизмов к поверхности микротитровального планшета. Интенсивность образования биопленок определяли по изменению окраски кристаллическим фиолетовым и спектрофотометрическим измерением.

Как видно из полученных данных, комплекс AgLeu обладал наибольшей активностью из испытанных комплексов серебра(I) для разрушения биопленки грамположительного *S. aureus*. AgLeu показал активность даже на минимумах.

Результаты синтеза и данные об антибактериальной активности показывают, что предложенные методы синтеза позволяют получать пептидные комплексы с высокими выходами и значительной антимикробной активностью. Комплексы дипептидов с серебром продемонстрировали различную степень активности, что, вероятно, связано с их способностью образовывать специфические взаимодействия с клеточными мембранами микроорганизмов. Схемы синтеза дипептидов и трипептидов, описанные на основе методов активированных эфиров и смешанных ангидридов, позволили получать пептиды с высоким выходом и стабильностью. *«На основе предложенных методов были синтезированы различные дипептиды и трипептиды, которые затем использовали для комплексообразования с серебром»* [5, с.66].

Для синтеза дипептидов (например, Gly-Val, Gly-Ile, Gly-Leu, Gly-Trp, Gly-Phe, Gly-Tyr, Gly-Glu) использовались следующие шаги:

1. В качестве защитных групп для карбоксильных групп конечных аминокислот (Val, Ile, Leu, Trp, Phe) использовались бензильные эфирные группы, а для аминогрупп глицина (Gly) – карбобензоксигруппы.
2. Синтез проводился методом активированных п-нитрофениловых эфиров (Z-ONp). Для этого использовали реагенты, такие как п-нитрофениловые эфиры карбобензоксиглицина.
3. После синтеза защищенных дипептидов все защитные группы удалялись одновременно с помощью каталитического гидрирования на Pd/C.

На рисунке 8 приведены схемы синтеза дипептидов.

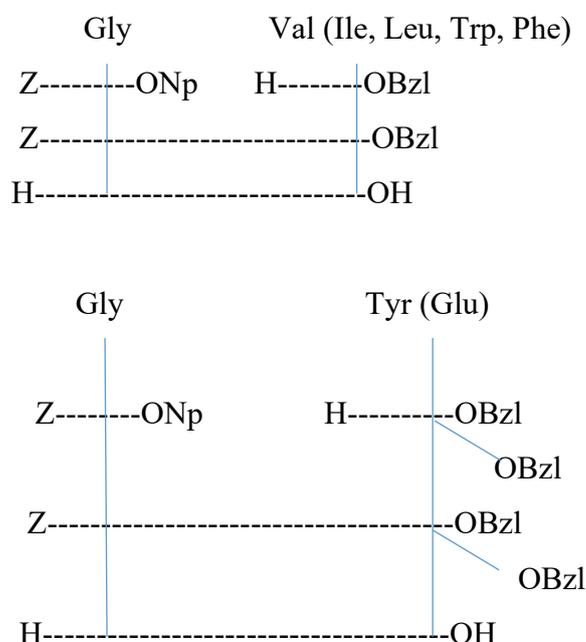


Рисунок 8. - Схемы синтеза дипептидов

При синтезе методом смешанных ангидридов выход был таким же, но время синтеза составляло 4-5 часов, так что за один день мы успевали синтезировать один дипептид.

Синтез дипептидов методом активированных п-нитрофениловых эфиров составлял 3 суток (контроль ТСХ).

Синтез был проведен без выделения свободных пептидов в свободном виде. Мы в свободном виде выделяли только свободные дипептиды.

Полное деблокирование осуществляли каталитическим гидрированием над Pd/C катализатором. Выделяли свободные дипептиды после удаления катализатора и кристаллизации пептидов эфиром.

Степень чистоты пептидов определяли тонкослойной хроматографией. Все пептиды были по ней гомогенны. Время снятия составляло от одного до трех часов.

Более быстрым методом удаления защитных групп считается обработка защищенного пептида HBr в ледяной уксусной кислоте. При этой операции деблокирование осуществлялось за 30 минут и пептид кристаллизовался в виде бромгидрата после удаления упариванием избытка HBr в ледяной уксусной кислоте и последующего переосаждения эфиром.

Синтез пептидов без выделения защищенных пептидов позволил нам получать за один день один пептид.

Для трипептидов (например, Gly-Gly-Val, Gly-Gly-Ile, Gly-Leu, Gly-Trp, Gly-Phe, Gly-Tyr, Gly-Glu) схема синтеза включала следующие этапы:

1. Защита α -аминогруппы второго остатка глицина выполнялась с использованием трет-бутилоксикарбонильной группы (Boc).
2. После завершения синтеза использовали HCl в этилацетате для удаления защитной группы Boc.

Синтез трипептидов Gly-Gly-Val, Gly-Gly-Ile, Gly-Leu, Gly-Trp, Gly-Phe, Gly-Tyr, Gly-Glu по аналогичному подходу. Для примера схема синтеза трипептида H-Gly-Gly-Glu-OH. Только был изменен выбор защитных групп. Для защиты α -аминогруппы среднего остатка глицина мы использовали трет-бутилоксикарбонильную группу, которую снимали действием HCl в этилацетате.

Необходимо указать, что при синтезе дипептидов использовали 5%-ный избыток активированного эфира, а при синтезе трипептида – 10%-ный.

Выходы трипептидов приведены в рисунке 9.

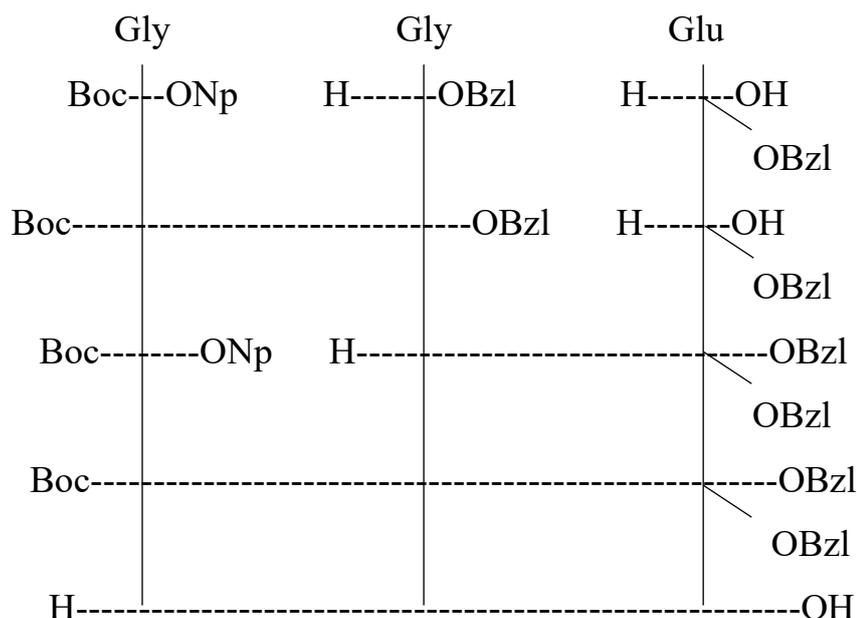


Рисунок 9. – Схема синтеза трипептида

Для синтеза трипептидов использовали 10%-ный избыток активированных эфиров для увеличения эффективности реакции и повышения выхода продукта. Выходы трипептидов представлены в таблице 8.

Таблица 8. – Выходы трипептидов

Трипептид	Выход, % (Активированные эфиры)	Трипептид	Выход, % (Смешанные ангидриды)
H-Gly-Gly-Val-OH	100	H-Gly-Gly-Val-OH	99.8
H-Gly-Gly-Ile-OH	98.7	H-Gly-Gly-Ile-OH	99.1
H-Gly-Gly-Leu-OH	100.8	H-Gly-Gly-Leu-OH	99.6
H-Gly-Gly-Trp-OH	97.7	H-Gly-Gly-Trp-OH	96.1
H-Gly-Gly-Phe-OH	98.7	H-Gly-Gly-Phe-OH	97.5
H-Gly-Gly-Tyr-OH	96.6	H-Gly-Gly-Tyr-OH	97.5
H-Gly-Gly-Glu-OH	99.8	H-Gly-Gly-Glu-OH	97.7

Таким образом, синтез дипептидов и трипептидов методом активированных эфиров и смешанных ангидридов позволил эффективно

получать свободные пептиды с высокими выходами и возможностью дальнейшего комплексообразования для исследования их биологических свойств. В таблице 9 представлены результаты синтеза трипептидов, полученных с использованием описанных методов. Выходы трипептидов оказались высокими, что свидетельствует об эффективности выбранного подхода:

Таблица 9. – Выходы трипептидов

Трипептид	Выход, %
H-Gly-Gly-Val-OH	95.0
H-Gly-Gly-Ile-OH	94.4
H-Gly-Gly-Leu-OH	94.8
H-Gly-Gly-Trp-OH	91.6
H-Gly-Gly-Phe-OH	92.9
H-Gly-Gly-Tyr-OH	92.9
H-Gly-Gly-Glu-OH	93.0

Трипептиды были получены и выделены в свободном виде и использованы для дальнейшего синтеза комплексных соединений с серебром.

В свободном виде трипептиды были получены как и дипептиды и кристаллизовались переосаждением эфиром из метанола.

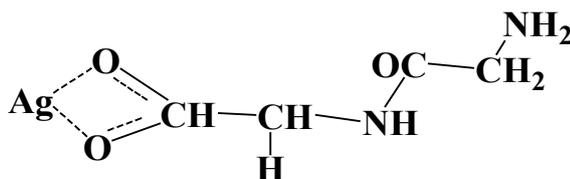
Получение комплексов. Комплексы были синтезированы путём смешивания водных растворов дипептидов и нитрата серебра (AgNO_3) в мольном соотношении 1:1. Для успешного осаждения комплексов pH реакционной смеси довели до 9-11 с добавлением раствора NaOH. Образовавшийся осадок оставляли при комнатной температуре в темноте на сутки до полного выпадения, затем осадок фильтровали и сушили на воздухе. Выход комплексных соединений составлял около 30% в пересчете на металл.

Элементный состав комплексных соединений (Таблица 10). Элементный анализ комплексов показывает следующее распределение атомов в синтезированных соединениях:

Таблица 10. – Данные элементного анализа

Комплекс	Mm	Ag, %	C, %	H, %	N, %
AgGlyVal	174	38.67	30.08	5.01	10.02
AgGlyIle	188	32.75	32.75	5.45	9.55
AgGlyLeu	188	32.75	32.75	5.45	9.55
AgGlyTrp	261	29.55	42.69	4.10	7.67
AgGlyPhe	222	33.05	40.40	4.28	8.57
AgGlyTyr	238	31.52	38.53	4.09	8.17
AgGlyGlu	204	34.96	27.19	3.89	9.06
AgGlyGlyVal	231	32.17	32.17	5.06	12.51
AgGlyGlyIle	245	30.91	34.33	5.23	12.01
AgGlyGlyLeu	245	30.91	34.33	5.23	12.01
AgGlyGlyTrp	318	26.61	42.67	4.26	9.96
AgGlyGlyPhe	279	28.18	40.71	4.43	10.96
AgGlyGlyTyr	295	27.07	39.10	4.26	10.53
AgG					

Выводы по элементному анализу. На основе данных элементного анализа можно предположить, что комплексы Ag-Dp, где Dp = GlyVal, GlyIle, GlyLeu, GlyTrp, GlyPhe, GlyTyr, GlyGlu, образуются с координацией серебра к дипептиду через кислородные атомы карбоксильной группы.



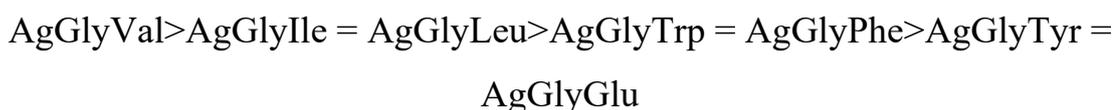
Были изучены антибактериальные свойства полученных комплексов методом диффузии в агар. В таблице 11 приведены данные по

антибактериальной активности полученных комплексов. Как видно из этих данных все комплексы проявляли в той или иной степени обладали антибактериальными свойствами.

Таблица 11. – Антибактериальная активность полученных комплексов

Комплекс	Антибактериальная активность, мкмоль/л		
	<i>E.coli</i>	<i>S.aurues</i>	<i>S.epidermisis</i>
AgGlyVal	40	60	40
AgGlyIle	50	60	70
AgGlyLeu	50	60	70
AgGlyTrp	60	90	60
AgGlyPhe	60	70	100
AgGlyTyr	70	80	90
AgGlyGlu	70	100	120
AgGlyGlyVal	160	170	180
AgGlyGlyIle	170	100	
AgGlyGlyLeu	170	100	
AgGlyGlyTrp	180	120	
AgGlyGlyPhe	180	140	
AgGlyGlyTyr	180	150	
AgGlyGlyGlu	180	180	190
Контроль отрицательный	180	180	180
Контроль положительный	10	20	20

Но если посмотреть на структуру пептидов в сравнении с их антибактериальной активностью то можно увидеть следующее. В зависимости от С-концевой аминокислоты можно увидеть, что дипептид AgGlyVal обладает наибольшей активностью, наименьшей – AgGlyGlu. Остальные дипептиды занимали промежуточное положение между ними. Комплексные соединения серебра с дипептидами продемонстрировали более высокую антибактериальную активность по сравнению с комплексами трипептидов. Результаты анализа показали следующую последовательность активности комплексов дипептидов:



Это может указывать на то, что дипептиды, как более короткие молекулы, обладают лучшей проникающей способностью через клеточные мембраны микробов, чем трипептиды. Вероятно, дипептидные комплексы обеспечивают более эффективный транспорт ионов серебра внутрь клеток, где они могут проявлять антибактериальную активность.

Механизм действия. Клеточные мембраны микроорганизмов содержат специфические белки-переносчики (транспортёры пептидов), которые осуществляют транспорт коротких пептидов и аминокислот для метаболизма азота. Это важный процесс для микробов, поскольку аминокислоты и короткие пептиды из окружающей среды могут быть использованы для синтеза белков. Нарушение функции этих транспортёров приводит к снижению жизнеспособности микробов, что делает их интересной мишенью для антимикробной терапии.

Роль дипептидов в транспортировке ионов серебра. Комплексы серебра с дипептидами могут взаимодействовать с транспортёрами пептидов, «обманывая» клетку и проникая внутрь через механизмы, аналогичные транспорту питательных веществ. После проникновения в цитоплазму при внутриклеточном кислом рН комплексы разлагаются, высвобождая активные ионы серебра (Ag^+), которые обладают антибактериальными свойствами. Дипептидные лиганды в данном случае выступают в роли системы доставки, способствующей целенаправленному переносу ионов серебра к мишеням в микробных клетках.

Перспективы. Полученные результаты подчеркивают значимость транспортёров пептидов как потенциальных мишеней для антимикробной терапии. Использование пептидных комплексов с серебром может открыть новые возможности в разработке антимикробных препаратов. Эти комплексы способны конкурировать с природными субстратами для транспортеров,

делая важные пептиды недоступными для бактерий и нарушая их метаболизм, что в конечном итоге ведет к гибели микробных клеток.

Таким образом, использование дипептидов как транспортных систем для ионов серебра предоставляет перспективный подход к созданию новых антимикробных агентов, особенно с учётом проблематики устойчивости к антибиотикам.

Изучение антиоксидантной возможности синтезированных пептидов осуществлялось методами захвата радикалов с помощью ДФПГ (2, 2-дифенил-1-пикрилгидразил) и АБТС (2,2'-азинобис 3-этилбензо-тиазолин-6-сульфонат).

Результаты определения антиоксидантной активности приведены в таблице 12.

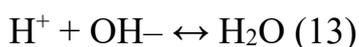
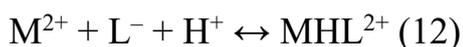
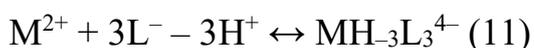
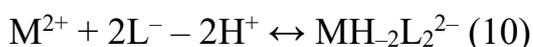
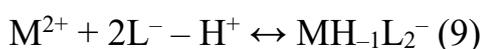
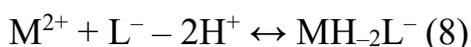
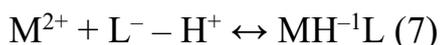
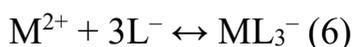
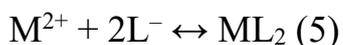
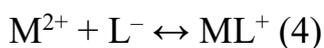
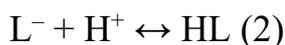
Таблица 12. – Антиоксидантная активность синтезированных пептидов

Пептид	Активность в ДФПГ-анализе, IC ₅₀ , мг/мл	Активность в АБТС-анализе IC ₅₀ , мг/мл
GlyVal	2,8	2,9
GlyIle	3,1	0,98
GlyLeu	8,0	5,9
GlyTrp	6,7	5,1
GlyPhe	8,8	5,8
GlyTyr	7,8	4,6
GlyGlu	6,8	4,1
Аскорбиновая к-та	0,605	0,607

Как показывают результаты в таблице 12, самым активным оказался дипептид GlyVal, наименее активным GlyPhe. Остальные пептиды занимали промежуточное положение.

Металлами, комплексные соединения которых изучаются с целью определения их биологической активности, являются медь (II), кобальт (II) и никель (II). Изучение их ведется в последние годы очень интенсивно, особенно в водных растворах [2, с.72]. Было показано, что состав этих комплексов и их константы устойчивости рассчитываются по специальной

программе «PHMETR» и зависят от количества реакций, учитываемых при расчетах. В работе [46, с.88] использовались следующие реакции:



Было обнаружено, что в системе Cu(II) – L образуются комплексы CuL^+ , CuH_1L , CuH_2L^- , $CuHL^{2+}$, CuL_2 , $CuH_1L_2^-$, $CuH_2L_2^{2-}$. В системах Ni(II)-L и Co(II)-L образуются комплексы ML^+ , $MH^{-1}L$, ML_2 , $MH_2L_2^{2-}$, ML_3^- , $MH_3L_3^{4-}$, где L является дипептидом глицил-глицин. Для примера в таблице 13 приведены константы устойчивости некоторых образовавшихся комплексных форм при молярном соотношении металл:дипептид 1:1.

Таблица 13. – Константы устойчивости некоторых образовавшихся комплексных форм

M:L	ML^+	$MH^{-1}L$	MH_2L^-	MHL_2^+
Cu^{2+}	$5,76 \pm 0,01$	$1,25 \pm 0,02$	$-7,65 \pm 0,02$	$10,30 \pm 0,03$
Ni^{2+}	$4,30 \pm 0,02$	$-3,95 \pm 0,05$		
Co^{2+}	$3,24 \pm 0,01$	$-5,21 \pm 0,02$		

В работе [62, с.1349] сообщалось о получении комплексов цинка с глицином, метионином меди с лейцином глицином. Комплексы цинка были получены из ацетата цинка и аминокислоты в водном растворе. Осадок

комплекса высушивался при 100°C. Комплекс цинка с метионином был получен исходя из сульфата цинка, комплекс цинка с глицином был получен исходя из ацетата цинка. $[\text{Zn}(\text{Met})_2]$ был получен с выходом 95,38%, $[\text{Zn}(\text{Gly})_2]$ был получен с выходом 95,95%.

Медный комплекс с лейцином был получен исходя из натриевой соли лейцина и сульфата меди в водном растворе. Медный комплекс с глицином был получен исходя из натриевой соли лейцина и нитрата меди. Выход $[\text{Cu}(\text{Leu})_2]$ был получен с выходом 76,31%, $[\text{Cu}(\text{Gly})_2]$ был получен с выходом 93,91%.

Как видно из полученных результатов синтез комплексов металл-аминокислота осуществляли реакцией аминокислот с солями металлов в соотношении 1:2. Для $\text{Zn}(\text{Met})_2$ и комплексов $\text{Cu}(\text{Leu})_2$ и $\text{Cu}(\text{Gly})_2$ NaOH добавляли для удаления протонов из OH-групп аминокислоты. Для комплексов $\text{Zn}(\text{Gly})_2$. Для этой цели использовали ацетат цинка. Анион ацетат действовал как слабая кислота, действующая как удаляющая протон из группы OH. Комплексы состояли белого порошка для комплексов $\text{Zn}(\text{Met})_2$ и $\text{Zn}(\text{Gly})_2$, и представляли собой синий порошок для комплексов $\text{Cu}(\text{Leu})_2$ и $\text{Cu}(\text{Gly})_2$.

3.1.2. Получение Zn(II) 1-6

Координационные соединения цинка (II) были получены двумя различными методами, которые обеспечивают эффективное синтезирование комплексных соединений с аминокислотами. Соединения 1-4 были получены при взаимодействии соответствующих аминокислот с водной суспензией гидроксида цинка, что соответствует методу I. В свою очередь, соединения 5 и 6 синтезировались методом II, который включал использование хлорида цинка и натриевой соли соответствующей аминокислоты в водной среде. Выбор методов был обусловлен рядом факторов, включая свойства самих получаемых соединений, а также с учетом необходимости исключения образования противоионов, таких как Cl^- или NO_3^- , которые могли бы присутствовать в комплексах цинка (II). Важно отметить, что каждый из

методов был тщательно подобран с целью получения чистых комплексов без нежелательных примесей. Все синтезированные комплексные соединения имеют общую химическую формулу $[Zn(AK)_2]$, где АК представляет собой одну из аминокислот: L-Glu, Gly, L-His, L-Pro, L-Met и L-Trp. Это универсальное обозначение позволяет отражать разнообразие аминокислот, используемых для синтеза различных комплексов. Для получения водорастворимых комплексов цинка (II), содержащих аминокислоты L-Glu, Gly, L-His и L-Pro (соединения 1-4), использовалась общая методика, подробно описанная в разделе «*Материалы и методы*» для синтеза комплексов Zn(II). В данном случае методика основывается на точной дозировке реактивов и соблюдении строгих температурных режимов.

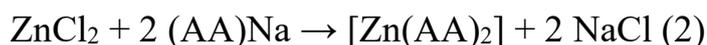
Для синтеза комплекса с метионином (5) и триптофаном (6) применялась модификация методики, при которой водный раствор соответствующей аминокислоты (АК) добавлялся к водной суспензии гидроксида цинка в мольном соотношении 2:1. Этот подход позволил добиться высокой чистоты получаемого продукта. Метод I имеет следующий вид реакции:



При этом аминокислоты, использованные в синтезе комплексов 1-4, включают Glu, Gly, His и Pro. На первой стадии реакции гидроксид цинка $Zn(OH)_2$ был получен в результате химического взаимодействия хлорида цинка (II) с 1М раствором NaOH при мольном соотношении 1:2 и комнатной температуре. Полученная суспензия $Zn(OH)_2$ растворялась в процессе образования комплексов с аминокислотами, в частности, с Glu, Gly, His и Pro, в которых цинк связывается с двумя молекулами аминокислоты. Этот этап синтеза требует внимательного контроля, чтобы предотвратить образование посторонних веществ, таких как соли или гидроксиды. После этого, комплексы Zn(II) с аминокислотами были выделены из реакционной смеси различными методами. В большинстве случаев использовалась технология частичного упаривания на роторном испарителе, либо комплексы

высушивались медленно при комнатной температуре для обеспечения получения чистого конечного продукта.

Что касается комплексов Zn(II) с метионином и триптофаном (5 и 6), то они были получены с использованием второго метода, который включал реакцию между хлоридом цинка ($ZnCl_2$) и натриевой солью аминокислот в водной среде. Этот процесс можно описать следующим уравнением:



Здесь AA обозначает аминокислоты, которые используются для синтеза, такие как метионин (Met) и триптофан (Trp). Данный метод был выбран, поскольку он позволяет избежать образования нежелательных противоионов, таких как хлорид-ион, который может быть связан с получаемыми комплексами. В результате, с помощью этого метода удастся получить чистые и стабильные водорастворимые комплексы цинка (II). Сначала было проведено получение натриевой соли аминокислоты. Этот этап является важной частью процесса синтеза, поскольку он позволяет подготовить аминокислоту в форме, которая будет эффективно реагировать с другими компонентами для образования комплекса цинка (II). Получение натриевой соли аминокислоты выполняется путем нейтрализации аминокислоты с натрия гидроксидом, что приводит к образованию соли, которая легче растворяется в воде и может быть использована в дальнейших реакциях синтеза.

Оба метода были использованы для получения малорастворимого в воде соединения 5 – Zn(II) с метионином. Важно отметить, что, хотя оба метода привели к получению комплексов с метионином, они имели различия в выходах продуктов. Несмотря на то, что полученные комплексы имели одинаковую структуру, метод II дал более высокий выход по сравнению с методом I. Это указывает на то, что метод II более эффективен для синтеза подобных комплексов, особенно в случае, когда требуется получение больших количеств продукта. Комплекс, полученный методом I, был тщательно охарактеризован с использованием рентгеноструктурного анализа

и элементного анализа, что позволило получить точные данные о его химической структуре и составе.

Метод II, начиная с $ZnCl_2$ и натриевой соли AA, не подходил для синтеза водорастворимых комплексов (от 1 до 4), поскольку при его применении возникали трудности с удалением водорастворимого побочного продукта – NaCl. Хлорид натрия, образующийся в процессе реакции, является водорастворимым и может оставаться в реакционной смеси, что затрудняет его удаление и может повлиять на чистоту получаемых комплексов. Однако метод II оказался крайне эффективным для получения комплексов Zn(II) 5 и 6, которые осаждаются непосредственно из реакционных смесей. Это позволяет легко отделить их от побочного продукта NaCl, что делает метод удобным для синтеза именно таких малорастворимых комплексов.

Синтез $[Zn(Pro)_2]$ (4) был проведен по отличной от основной методике. В этом случае для получения комплекса использовалась реакция ацетата цинка с пролином в присутствии триметиламина. В качестве растворителя был выбран метанол, который способствовал образованию комплекса с цинком и пролином. Полученный комплекс осаждался с течением времени, что позволяло выделить его в чистом виде. Этот метод, в отличие от других, не использует водные растворы и дает возможность синтезировать комплексы с особым составом. Полученное соединение использовалось в качестве катализатора в некоторых органических реакциях, что подчеркивает его потенциальную практическую ценность.

Комплексы цинка (II) (1-6) охарактеризованы методами элементного анализа (таблица 14). Для подтверждения структуры и состава полученных комплексов был проведен элементный анализ, который позволил точно определить содержание углерода, водорода, азота и других элементов в каждом из соединений. Эти данные могут служить дополнительным доказательством чистоты и правильности синтеза, а также быть использованы для более глубокого понимания характеристик этих комплексов.

Таблица 14. – Данные элементного анализа полученных комплексов

Соединение	С (расч)	Н (расч.)	Н (расч.)	С (найдено)	Н (найдено)	Н (найдено)
[Zn(Glu) ₂]•H ₂ O	32,27	5,13	7,76	32,32	5,32	7,78
[Zn(Gly) ₂]	22,80	4,05	13,42	22,81	4,59	13,27
[Zn(His) ₂]•2H ₂ O	35,48	5,22	20,82	35,43	4,88	20,83
[Zn(Pro) ₂]	41,20	5,79	9,84	41,21	7,51	9,85
[Zn(Met) ₂]•0,5H ₂ O	32,69	6,01	7,86	32,29	5,70	7,78
[Zn(Trp) ₂]	56,30	5,00	12,18	56,17	4,73	12,19

Все полученные комплексы цинка (II), кроме одного, являются пятичленными хелатами, где каждая аминокислотная группа координирована с ионом цинка через атом азота и атом кислорода депротонированной карбоксильной группы. Это означает, что в этих комплексах цинк образует стабильные кольцевые структуры с аминокислотами, что придает им высокую стабильность. В отличие от них, комплекс Zn-гистидин образует **шестичленное хелатное кольцо** за счет координации с двумя атомами азота гистидинового фрагмента, а именно с группой NH₂ и N-атомом имидазольного кольца. Это отличается от других комплексов, где цинк координируется с одним атомом азота.

Ни один из образовавшихся комплексов не содержит противоионов; это подтверждает, что в процессе синтеза не было образовано побочных продуктов в виде солей, таких как хлорид-ион или других ионов. Это также подтверждает, что процесс синтеза был направлен на образование чистых катионов Zn²⁺ с аминокислотами с депротонированной карбоксильной группой, что является важным для получения высококачественных и чистых комплексов.

Антибактериальная активность. Была определена антибактериальная активность всех полученных координационных соединений в отношении грамположительных (таблица 15, рисунок 10) и грамотрицательных бактерий и сравнена с активностью 2-пирролидин-5-карбоксилата цинка (ZnPCA).

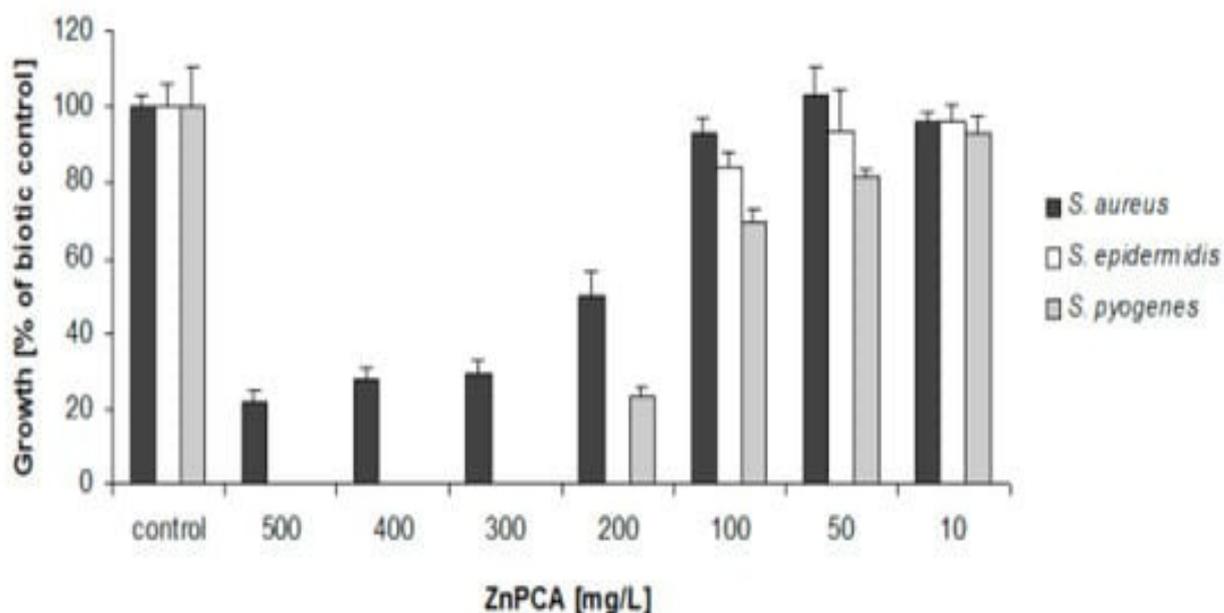


Рисунок 10. – Антибактериальные свойства комплексов цинк(II)-аминокислота (1-6) и эталонного соединения ZnPCA

Таблица 15. – Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) комплексов Zn(II)

Проверенное соединение	МИК (мг/л) <i>Staphylococcus epidermidis</i>	МИК (мг/л) <i>Стрептококк пиогенный</i>
[Zn(Glu) ₂]•H ₂ O	400,3	400,3
[Zn(Gly) ₂]	200,3	без даты*
[Zn(His) ₂]•2H ₂ O	300,3	без даты*
[Zn(Pro) ₂]	300,3	500,3
[Zn(Met) ₂]•0,5H ₂ O	100,3	200,3
[Zn(Trp) ₂]	200,3	300,3
ZnПКА	200,3	300,3

МИК для *Staphylococcus aureus* >500 мг/л; * НД – не обнаружено.

Результаты показали, что один из протестированных комплексов продемонстрировал активность, аналогичную ZnPCA, а два других продемонстрировали лучшие антибактериальные свойства.

Комплекс (5) [Zn(Met)₂] 0,5H₂O проявляет обладает более высокими антимикробными свойствами, чем использованный в работе стандарт. В дозе 200 мг/л [Zn(Met)₂] 0,5H₂O замедлял рост *S. Aureus* на 45%; также было найдено, что его минимальная ингибирующая концентрация (МПК) составляет 100 мг/л для *S. Epidermidis* и 200 мг/л для *S. Pyogenes*, причем оба

показателя ниже, чем для ZnPCA. Комплекс (5) также проявлял лучшую противомикробную активность против *E. coli*, чем ZnPCA. При самой высокой протестированной концентрации наблюдалось 60%-ное замедление роста бактерий по сравнению с контролем.

Комплекс (2) $[Zn(Gly)_2]$ также проявил большую антимикробную активность, чем ZnPCA. В дозе 200 мг/л $[Zn(Gly)_2]$ ограничивал рост бактерий культурам *S. Aureusi* *S. Pyogenes* на 60% и 90% соответственно. В аналогичных образцах, содержащих ZnPCA, устойчивость к *S. Aureus* составляла 50%, а ингибирование роста *S. Pyogenes* замедлялся на 75%. Комплекс $[Zn(Gly)_2]$ также проявлял более сильное антимикробное действие в отношении *P. aeruginosa*, чем ZnPCA.

Комплекс (6), $[Zn(Trp)_2]$ и комплекс $[Zn(Gly)_2]$, показали сравнимую антимикробную активность с ZnPCA, причем оба соединения продемонстрировали значения МПК 200 мг/л для *S. Epidermidis* и 300 мг/л для *S. Pyogenes*.

Снижение эффективности существующих антибиотиков и быстрый рост антибиотикоустойчивости среди большинства бактерий дал толчок к поиску новых, более эффективных противомикробных препаратов. Данные литературы говорят, что некоторые координационные соединения металлов (медь, кобальт и цинк) с аминокислотами и их производными имеют хорошую антимикробную активность, превышающую таковую некоторых применяемых сегодня стандартов. Наши результаты показывают, что координационные соединения цинка с аминокислотами показали антибактериальную активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий, а два из них обладают более сильными антибактериальными свойствами, чем ZnPCA, который используется в косметических продуктах в качестве антибактериального средства. Премлата и др. [84, с.1327] показали, что смешанные комплексы цинка (II) с 2-замещенными бензотиазолами и аминокислотами обладают более сильными

антибактериальными свойствами по сравнению с использованными стандартами.

Результаты наших исследований показали, что в образцах, содержащих 500 мг/л комплексов, ингибирование роста тестируемых грамотрицательных микроорганизмов находится в пределах от 20% до 80%. Исследуемые соединения показали более высокую антимикробную активность в отношении грамположительных, чем грамотрицательных бактерий. Аналогичные результаты были получены Aiyelabolaetal., изучавшие антимикробные свойства координационных соединений аспарагиновой кислоты. Аналогично, комплексы аминокислот меди и кобальта также проявляют более низкую антибактериальную активность в отношении грамотрицательных бактерий. Такие различия в чувствительности грамположительных и грамотрицательных бактерий к тестируемым комплексам могут быть связаны с различиями в строении клеточных мембран.

3.2. Изучение токсичности и антиоксидантной активности комплексов пептидов с серебром

У комплексов пептидов с серебром была обнаружена очень высокая антибактериальная активность. Поэтому имело смысл определить их острую и хроническую токсичность перед изучением биологических свойств.

Для исследования были выбраны комплексы, обладающие наибольшей антибактериальной активностью. Ими были, в основном, комплексы дипептидов: AgGlyVal, AgGlyIle, AgGlyLeu, AgGlyTrp, AgGlyPhe, AgGlyTyr и AgGlyGlu и они имели активность меньше чем 120 мкмоль/л.

Опыты проводили на 240 крысах обоего пола весом 180-200 г. Крыс разделили на 8 групп по 36 голов, которые также разделили на 6 групп по 6 голов в каждой. Итого в опыте находилось 40 групп. По 6 групп на каждый комплекс. Животным первых шести групп вводили комплекс AgGlyVal в дозах 100,200,500, 1000 и 5000 мг/кг по весу каждого комплекса. Животным вторых пяти групп вводили комплекс AgGlyIle в тех же дозах, что и первый

комплекс. Третьей части животных вводили комплекс AgGlyLeu, четвертой части – комплекс AgGlyTrp, пятой – комплекс AgGlyPhe, шестой – комплекс AgGlyTyr и седьмой – комплекс AgGlyGlu. Животные каждой группы были разделены на 5 подгрупп для введения 50, 100, 250, 500 и 1000 мг/кг комплекса. Животные восьмой части оставались контролем и им вводили физиологический раствор натрия хлорида.

За животными устанавливали клиническое наблюдение при котором учитывали внешний вид шерстного покрова и видимых слизистых оболочек, аппетит, подвижность, потребление воды в течение 14 дней.

За время эксперимента погибших животных в каждой подгруппе не было, их внешний вид не отличался от внешнего вида контрольных животных, то есть признаков интоксикации обнаружено не было. Следовательно, у комплексов нет острой токсичности. LD₅₀ не было возможности рассчитать, так как гибели животных не выявлено. В соответствии с нормативным документом, а именно ГОСТ 12.1.007-76 полученные нами вещества могут быть отнесены к 6 классу опасности (относительно безвредно).

Хроническую токсичность также изучали на белых крысах, разделенных на 8 групп по 6 голов в каждой. Распределение животных по группам осуществлялось также как при определении острой токсичности. Комплексы животным вводили в течение 14 суток в дозе 500 мг/кг и наблюдение за ними вели в течение 3 месяцев. В течение всего срока наблюдения больных или умерших животных не наблюдали. Их внешний вид, подвижность и аппетит не отличались от таковых у контрольных животных. Следовательно, проверенные комплексы не обладают хронической токсичностью.

Антиоксидантная активность. Комплексов пептидов с серебром. Свободные радикалы вместе с реакционноспособными кислородсодержащими частицами обращают на себя все большее внимание ученых разных областей, особенно в последние десятилетия. На происхождение свободных радикалов в биологических системах

значительное влияние оказывают потребляемая пища и состояние окружающей среды. Высокая реакционная способность их приводит в физиологических условиях к ускорению процессов окисления, разрушающих молекулярную основу клетки, что вызывает многочисленные патологические состояния.

В организме при регулировании свободно-радикальных реакций важное значение имеют антиоксиданты. Широкое распространение в последние годы приобретает исследование антиоксидантных свойств.

«Утверждается, что существует шесть наиболее вредных кислородных свободных «радикалов: пероксидные ($ROO\cdot$) и гидроксильный ($HO\cdot$) радикалы, супероксид-ион ($O_2^{\cdot-}$), синглетный кислород (1O_2), перекись водорода H_2O_2 и пероксинитрит ($OONO\cdot$)» [63, с.2].

«Образование этих частиц является одной из основных причин повреждения белка, липидов и ДНК, старения клеток, заболеваний, возникающих вследствие оксидативного стресса (сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний) и рака» [62, с.25].

«В биологических системах, процессы окисления происходят путем радикальной цепной реакции, опосредованной перекисными радикалами ($ROO\cdot$). Процесс инициируется некоторыми видами радикалов» [65, с.1].

«Антиоксидант блокирует инициатора окисления, участвует в реакциях обрыва цепи, может атаковать циклы цепной реакции при окончании и распространении циклов».

«Комплексные соединения пептидов с серебром обладают потенциальной антиоксидантной активностью. Кроме того, комплексные соединения могут предотвращать автоокисление и продлевать срок хранения пищевых продуктов. Для изучения антиоксидантной активности используется несколько методов. Методы ДФПГ, АБТС» [65, с.1] часто используется для оценки антиоксидантной активности комплексных соединений. Антиоксидантную активность комплексов пептидов с серебром оценивали с помощью анализов ДФПГ и АБТС.

Анализ захвата свободных радикаловДФП (2, 2-дифенил-1-пикрилгидразил). Антиоксидантная активность комплексов пептидов с серебром была изучена методом захвата свободныхДФП радикалов. Механизм действияДФП с антиоксидантами представлен на рисунке 11.

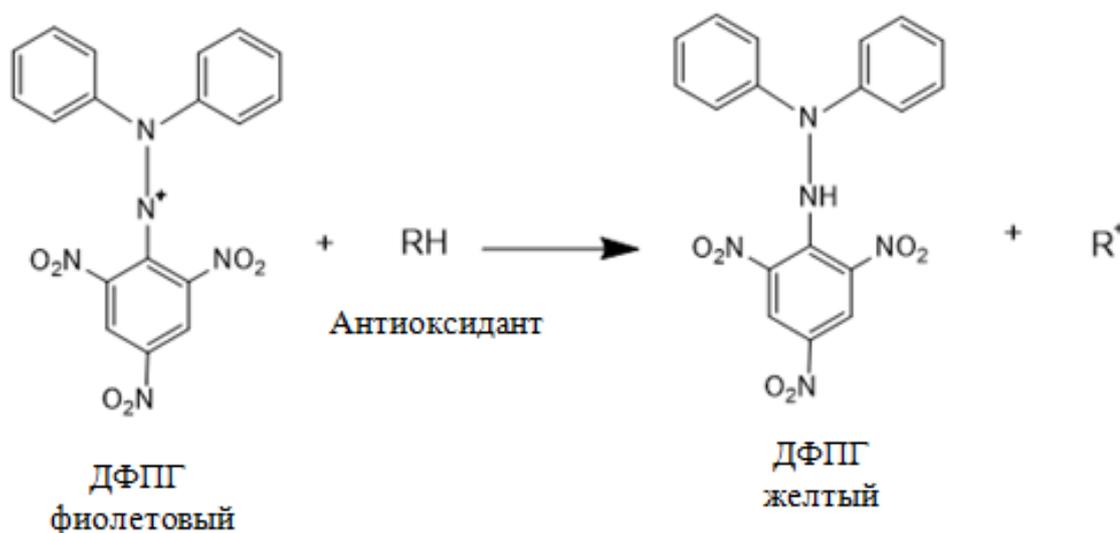


Рисунок 11. – Механизм действияДФП с антиоксидантами

Анализ захвата свободных радикалов АБТС (2,2'-азинобис 3-этилбензо-тиазолин-6-сульфонат). Механизм реакция представлен на рисунке 12.

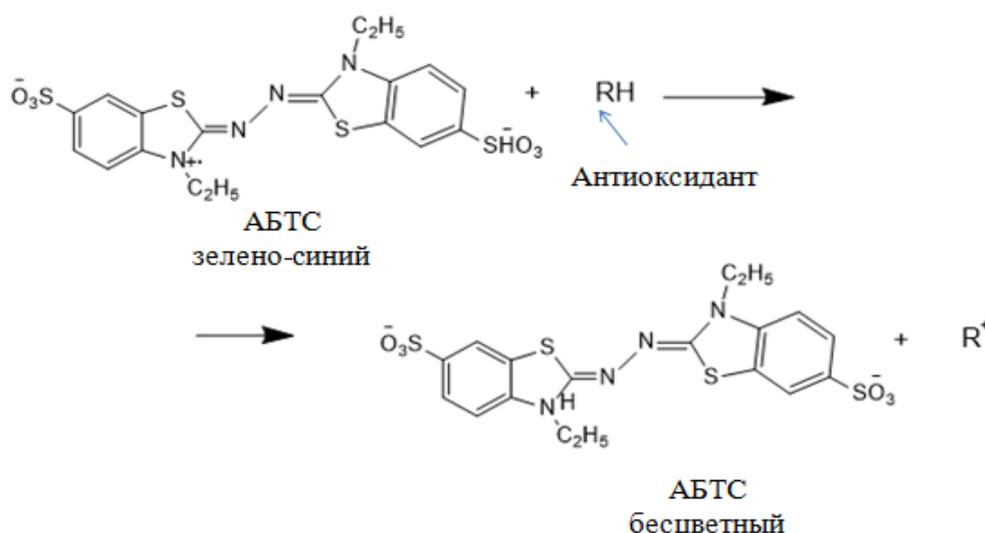


Рисунок 12. – Механизм действия АБТС с антиоксидантами

Самой высокой антиоксидантной активностью обладал комплекс с серебром. Значения полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC₅₀)

для комплекса AgGlyVal, составляла 1,07 мг/мл дляДФПГ и 1,15 мг/мл для АБТС соответственно. Значения IC_{50} для положительного контроля (аскорбиновая кислота) составляли 0,003 мг/мл дляДФПГ и 0,007 мг/мл для АБТС, соответственно. Значения IC_{50} положительного контроля (аскорбиновая кислота) составили 0,002 мг/мл дляДФПГ и 0,005 мг/мл для АБТС, соответственно.

Значения антиоксидантной активности комплексных соединений серебра с пептидами представлены в таблице 16.

Таблица 16. – Антиоксидантная активность комплексов пептидов с серебром

Комплекс	ДФПГ IC_{50} , мг/мл	АБТС IC_{50} , мг/мл
AgGlyVal	1,37	1,45
AgGlyIle	1,45	0,47
AgGlyLeu	4,1	3,0
AgGlyTrp	3,5	2,4
AgGlyPhe	4,8	2,8
AgGlyTyr	4,5	2,3
AgGlyGlu	3,5	2,0
Аскорбиновая к-та	0,305	0,307

Антиоксидантный потенциал комплексных соединений пептидов с серебром зависит от его состава. Фенолы и вторичные метаболиты с сопряженными двойными связями обычно показывают существенные антиоксидантные свойства.

3.3. Эффективность применения тимоцина при псориазе

Общепризнано, что часто возникающий в возрасте 10-25 лет псориаз, которым страдает около 3% населения мира, представляет собой системный процесс с выраженными функциональными и морфологическими изменениями ряда органов и систем.

С точки зрения кожи, находящейся в ассоциации с лимфоидной тканью, кожу считают лимфоэпителиальным органом, который обеспечивает лимфоцитам необходимые микроокружение и условия для развития

иммунного ответа [70, с.3-4]. К настоящему времени установлено участие эпителия в образовании иммунорегуляторной зоны [66, с.139]. Поэтому важнейшее место в развитии псориаза отводится нарушениям иммунных механизмов гомеостаза [66, с.139].

Для псориаза характерны дефицит количества Т-лимфоцитов и их функциональной активности [81, с.1327], изменение соотношения классов иммуноглобулинов, ЦИК, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов, моноцитов [42, с.7].

Лечение псориаза представляет весьма сложную задачу. Методы и средства, используемые для лечения заболевания, приводят к временному эффекту. Поэтому все большее внимание привлекают препараты с иммунокорректирующим действием, включающие пептиды тимуса - тактивин, тимазин, вилозен, тималин, тимоген, тимогар и др..

Новый иммуномодулирующий препарат тимоцин (рег. № 000085Т), является 0,0157%-ным водным раствором координационного соединения дипептида изолейцил-триптофан с цинком.

Целью данного этапа исследований было изучение эффективности а при включении его в схему лечения больных псориазом.

В основном, в обеих группах лечение прошло без побочных явлений и осложнений. Результаты лечения (таблица 17, рисунок 13) показали, что введение а в схему лечения больных псориазом приводит к повышению его эффективности.

Таблица 17. – Результаты лечения больных псориазом

Результат лечения	комбинированное лечение	традиционное лечение
Клиническое выздоровление (полное рассасывание псориатических высыпаний)	53,3	26,7
Значительное улучшение (полный регресс 75% высыпаний и более)	23,4	30
Улучшение (регресс 50-75% высыпаний)	13,3	26,7
Без эффекта	10	16,7

Окончание таблицы 17

Полное исчезновение псориазических высыпаний	22,3±1,1	26,2±1,2
Срок пребывания больных в стационаре	27,1 ±0,9	30,5±1,1

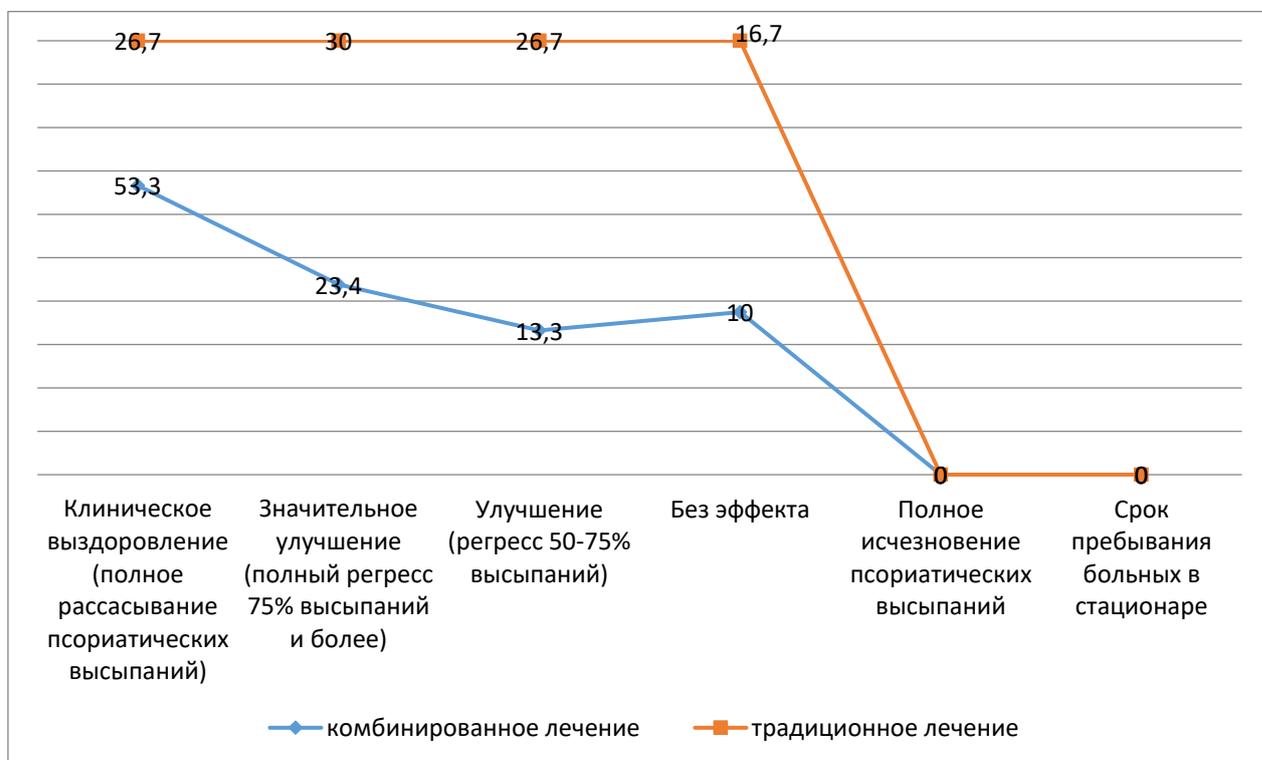


Рисунок 13. – Диаграмма результатов лечения

Эффект лечения не был достигнут у 3 (10%) больных с тяжелыми распространенными наследственно обусловленными бляшечно-крупнобляшечными формами псориаза. У одного из них с прогрессирующей стадией болезни в процессе лечения с использованием а до 9-го дня терапии продолжалось образование новых псориазических папул. Только с 10-11-го дня терапии оно прекратилось, однако рассасывание их происходило медленнее, чем у других больных основной группы, что потребовало в дальнейшем применения мазей белосалик и элоком. Следует отметить, что у 1 из них большинство измененных иммунологических показателей к концу курса терапии нормализовалось. У 2 других они остались на прежнем уровне.

Результаты иммунологических исследований приведены в таблице 18.

Таблица 18. –Иммунологические показатели больных псориазом до и после лечения

Показатели	Здоровые доноры	Больные до лечения	P	После лечения	
				Основная группа	Контрольная группа
Лимфоциты, абс.	2248±165	1866±147	>0,05	2077±153	1898±151
Лимфоциты, %	31,4±1,8	28,1±1,6	>0,1	29,8±1,9	29,1 ±2,0
Е-РОК,%	64,2±2,7	50,1 ±2,9	<0,01	58,8±3,1	53,4±3,2**
Т-хелперы,%	36,7±2,0	33,2±1,8	>0,1	34,8±2,2	33,9±2,1
Т-супрессоры,%	21,9±1,4	15,8±1,5	<0,01	18,7±1,7	16,3±1,6**
Тх/Тс	1,7±0,1	2,1 ±0,1	<0,02	1,8±0,1	2,1±0,1**
ЕАС-РОК,%	19,2±1,2	23,6±1,8	<0,05	21,8±1,9	22,7±1,8
IgA, г/л	2,11±0,18	2,49±0,16	>0,1	2,23±0,18	2,37±0,19
IgM, г/л	1,73±0,15	2,31±0,21	<0,05	2,01±0,20	2,37±0,22*
IgG, г/л	12,9±1,2	17,0±1,5	<0,05	14,4±1,4	16,8±1,5
ЦИК, г/л	2,25±0,19	3,15±0,22	<0,01	2,86±0,21*	3,08±0,22**
ФАЛ,%	69,6±5,2	54,5±4,1	<0,01	60,4 ± 4,6	56,1±4,5*
ФЧ	5,1 ±0,4	3,8 ± 0,3	<0,01	4,5 ± 0,4	4,2 ± 0,4

Примечание: P– достоверность различия к данным здоровых доноров (*-<0,05, **-<0,02).

Как видно из таблицы 18, у больных отмечалось значительное снижение активности лимфоцитов, снижении количества Е-РОК, Т-супрессоров, повышая соотношение Т-хелперов к Т-супрессорам. У больных псориазом определяется повышение активности гуморального иммунитета в виде увеличения уровней ЕАС-РОК и сывороточных IgMи IgG(соответственно в 1,4 и 1,5 раза). Содержание ЦИК у больных псориазом превышалотакое у здоровых людей почти в 1,4 раза.

Снижение функциональной активности нейтрофилов характеризовалось снижением фагоцитарной активности и фагоцитарного числа, что свидетельствовалоо нарушении неспецифических факторов защиты.

У пациентов с тяжелыми формами псориаза на протяжении более 10 лет нарушения иммунологического статуса были более выраженными.

Применение а способствовало нормализации всех нарушенных иммунологических показателей, кроме ЦИК. При традиционном лечении большинство иммунологических показателей (6 из 9) оставались нарушенными.

Таким образом, эксперимент показал преимущества комплексного лечения псориаза по сравнению с традиционным: срок лечения сократился в среднем на 3,9, на 3,4 дня – срок пребывания больных в стационаре.

Отсутствие клинического эффекта от комплексного лечения в 10% случаев объясняется наследственной причиной возникновения тяжелых случаев, распространенных бляшечно-крупнобляшечных форм псориаза.

3.4. Влияние тимогина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите

На данном этапе исследований было изучено изменение биохимических показателей крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом после применения тимогина.

Печень является одним из важнейших и жизненно важных органов. Если нарушается какая-либо одна функция печени нарушается работа всего организма. В последнее время отмечается значительное увеличение количества заболеваний печени. Больше всего это вирусные гепатиты и неалкогольная жировая болезнь печени. По некоторым данным более 2 миллиардов человек болеют гепатитом. Болеют более 350 миллионов, которые являются его хроническими носителями. От этой инфекции ежегодно умирают 1-2 миллионов человек. Другой почечной патологией – неалкогольной жировой болезнью печени болеют до 20% населения [2, с.7]. Большинство заболеваний печени сопровождаются возникновением иммунодефицитных состояний, поэтому часто в состав печеночной терапии включают иммуномодулирующие препараты. Наиболее широко применяемыми из которых являются иммуномодулирующие препараты тимоген, иммунофан, вилон и др. Также было показано, что тимоген обладает гепатопротекторным действием.

Новый препарат, обладая высокой иммуностимулирующей активностью, проявил себя высокоэффективным при лечении различных заболеваний, сопровождающихся вторичными иммунодефицитными состояниями. Наличие в составе а триптофансодержащего дипептида позволяет предположить у него наличие гепатопротекторной активности. Об этом говорит высокая эффективность применения тимоцина при комплексной терапии вирусных гепатитов. Результаты анализов крови животных приведены в таблице 19.

Таблица 19. – Биохимические показатели крови животных до и после применения тимоцина при концентрации 1×10^{-2}

Показатель	До лечения	После лечения	Достоверность различия	Норма
Общий белок, г/л	61,5±3.0	68,0±2,4	P > 0,05	60-82
Холестерин, ммоль/л	0,85±0,1	0,95±0,08	P > 0,05	0,91-1,37
Билирубин общий, мкмоль/л	12,37±1,45	9,86±0,93	P > 0,05	0,17-12
Билирубин связанный, мкмоль/л	3,45±0,31	2,91 ±0,28	P > 0,05	0-1,67
Билирубин свободный, мг%	7,82±1,0	4,67±0,9	P < 0,05	0-1,71
Мочевина, ммоль/л	6,73±0.77	6,12±0,75	P > 0.05	2,3-6,6
Креатинин, мкмоль/л	150,3±19,1	156,6±17,11	P > 0,05	44,2 141,4
АЛАТ, Ед/л	120,8±9,7	58,3±6,87	P < 0,05	25-60
АСАТ, Ед/л	77,9±7,35	27,3±4,81	P < 0,05	5-31
Амилаза, Ед/л	223,0±19,7	186,8±16,9	P > 0,05	0-485
Сахар, ммоль/л	16.34±1.9	13,91±1.01	P > 0,05	6.1-15,9
Триглицериды, ммоль/л	1,47±0,44	1,69±0,1	P > 0,05	1,4-1,8
Лпвп	0,73±0,07	0,70±0,04	P > 0,05	
Мочевая кислота, г%	0,63±0,05	0,59±0,06	P > 0,05	0,6-0,8
Щелочная фосфатаза	0,23±0,3	0,14±0,4	P > 0,05	0,90-2,99

Из таблицы 19 видно, что после введения четыреххлористого углерода у кроликов отмечались признаки токсического гепатита: повышение содержания билирубина, активности АЛАТ и АСАТ, креатинина и сахара. Заниженным было только содержание холестерина. Остальные показатели находились в пределах физиологической нормы.

Соотношение АСАТ/АЛАТ было равным 0,64, что характерно для вирусного гепатита. Содержание общего билирубина было незначительно выше верхнего предела нормы, содержание билирубина, связанного было повышено в 2,07 раза, билирубина свободного – в 4,57 раза. Билирубин являясь липофильным перед выводом из организма, подвергается конъюгации, осуществляемой ферментами печени. Неконъюгированный билирубин переносится плазмой в связанной в основном с альбуминами форме. В таком виде он переносится на другие белки, например, мембранные и является нейротоксичным. Печень избирательно связывает неконъюгированный билирубин из-за наличия специальных рецепторов. Внутриклеточный транспортный белок транспортирует билирубин в гранулярную эндоплазматическую сеть. Здесь уридилдифосфатглюкуронилтрансфераза связывает большую часть билирубина с глюкуроновой кислотой в моно и диглюкурониды, растворимые в воде.

Введение четыреххлористого углерода действует на ферменты печени, участвующие в процессах распределения билирубина.

Применение а способствовало положительной динамике биохимических показателей: снижению содержания связанного и свободного билирубина, активности АЛАТ, АСАТ, сахара и повышению содержания холестерина до значений физиологической нормы. Изменения показателей были статистически достоверными ($P < 0.05$).

Введение тимоцина способствовало нормализации процесса биосинтеза билирубина.

Таким образом, применение тимоцина способствовало нормализации

содержания билирубина, сахара, холестерина и активности АЛАТ и АСАТ, что говорит о наличии у него гепатопротекторной активности.

3.5. Изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота

Конъюнктивиты и кератиты являются «одним из разновидностей травматизма и составляют среди других болезней глаз сельскохозяйственных животных большой удельный вес. Неблагоприятные факторы окружающей среды в первую очередь оказывают воздействие на глаза. Это становится причиной появления и развития таких воспалительных процессов, как конъюнктивиты и кератиты. Иногда в животноводческих фермах такие заболевания становятся массовыми, что приводит к заметным дополнительным затратам, связанным с созданием особых условий содержания больных животных, кормления, эксплуатации. Они приводят и к потере продуктивности животных, а в дальнейшем – к слепоте». По подсчетам, «около 25-30% заболевших животных теряет зрение на 50% и более вследствие инфекционных и риккетсиозных форм конъюнктиво-кератита».

Между тем многие «факторы, вызывающие конъюнктивит, способствуют ослабеванию иммунитета животных, поэтому организм животных становится менее резистентным к такому роду заболеваний».

В связи с этим «представляет интерес изучение лечебной эффективности препаратов, созданных на основе иммуностимулирующих аминокислот, пептидов с ионами биоактивных металлов, имеющих антибактериальный и противовирусный характер для лечения глазных болезней крупного рогатого скота».

Учитывая «вышеизложенное и иммуностимулирующую и антибактериальную активность ионов серебра и меди», аргинина [42, с.60], препарата тимогар, представляло интерес экспериментальное изучение терапевтического эффекта соединений на основе координационных

соединений ионов меди, серебра с аргинином и тимогаром при лечении конъюнктивита крупного рогатого скота.

Конъюнктивит– *«это воспаление наружной оболочки –прозрачной ткани, покрывающей глаз и внутренней стороны век, которая служит для выработки жидкости, смачивающей глаз. В нормальном состоянии конъюнктивы имеет бледно-розовый цвет со слабо-желтоватым оттенком».*

«Традиционно лечение конъюнктивита коров состоит из антибактериальной терапии: внутримышечное введение препаратов, местная обработка слизистой оболочки различными средствами».

Целью данного этапа работы является поиск новых эффективных лекарственных средств, основанных на комплексных соединениях потенциально иммуноактивных пептидов, аминокислот с ионами биоактивных металлов для лечения заболеваний глаз крупного рогатого скота.

На первом этапе исследований изучали токсикологические характеристики выбранных комплексных соединений.

Изучение действия исследуемых комплексов на слизистую оболочку глаз кроликов показало, что они почти одинаково влияют на слизистые оболочки, проявляя умеренно раздражающее действие. По системе А.Вайда указанные комплексы получили по 6 баллов.

При исследовании острой токсичности комплексов на белых мышах за время проведения эксперимента общее состояние и поведение экспериментальных животных не отличались от таковых в контрольных группах. Аппетит мышей не также не отличался от контрольных групп. Изменения веса мышей, получавших комплексы, также не имело отклонений от нормы. У животных не выпадала шерсть, они выглядели активными и подвижными с хорошей координацией, была отмечена обычная реакция на внешние раздражители, частота дыхания была нормальной.

В течение 14 суток смертность среди подопытных мышей отсутствовала. В исследовании О.А. Поповой «была определена доза, так как при дозе 5000 мг/кг не было обнаружено летального исхода, то по ГОСТ 12.1.007-76 комплексы могут быть отнесены к 6 классу опасности (относительно безвредно)» [38, с.7; 39, с.297]. Результаты показали, что выбранные комплексы в установленных дозах не оказывают токсического действия на мышцах.

Результаты определения антибактериальной активности комплекса А *in vitro* представлены в таблице 20 и на рисунке 14. МБсК находилась в пределах 1,56-6,26 мкг/мл. Наиболее чувствительными к комплексу были *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus epidermidis*, имеющие МБсК 1,61-3,14 мкг/мл. Для музейных и полевых культур *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus cowan* МБсК комплекса А составляла 3,14-6,26 мкг/мл.

Таблица 20. – Антимикробная активность комплекса А против возможных возбудителей бактериального конъюнктивита *in vitro*, мкг/мл

Культура микроорганизмов	МБсК	МБцК
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	3,14	6,26
<i>Staphylococcus aureus</i> (n)	6,26	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (n)	6,25	12,7
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n)	3,14	6,26
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n)	1,56	3,14
<i>Staphylococcus cowan</i> -I-ЛСТСС-8530	6,26	12,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (n)	1,56	3,14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n)	100,0	200,0

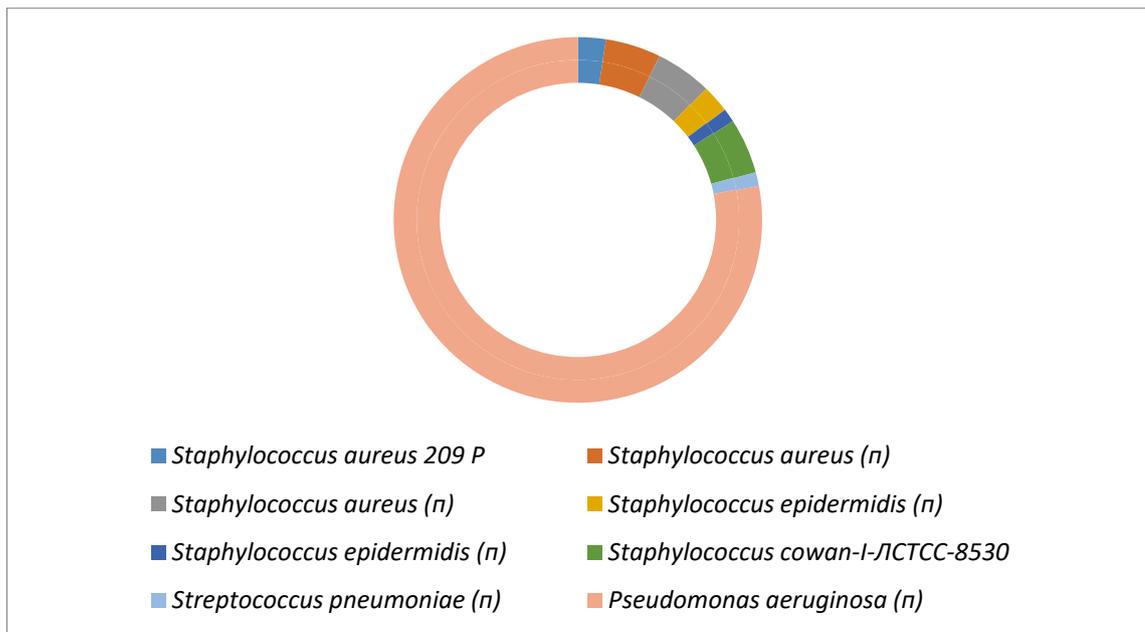


Рисунок 14. – Лепесковая диаграмма антимикробная активность комплекса А против возможных возбудителей бактериального конъюнктивита *in vitro*, мкг/мл

Таким образом, комплекс А проявляет высокую антимикробную активность против микроорганизмов, наиболее часто вызывающих бактериальные конъюнктивиты.

Опыты по определению оптимальной дозы применяемого комплекса показали, что таковой является доза в 0,03мл (2 капли). Учитывая схожесть природы составов комплексов с ионами меди и серебра для комплекса Б приняли такую же терапевтическую дозу.

Клиническими признаками конъюнктивита являлись воспаление конъюнктивы (слизистой оболочки глаза), которое обычно возникает в ответ на воздействие аллергенов окружающей среды (пыльцы, пыли или спор плесневых грибов). При этом у животных краснеют глаза, из них обильно текут слёзы. Все животные были разделены на две группы, леченных по различным методикам.

В первом опыте в первую группу входили больные животные с аллергическим конъюнктивитом, которых лечили только серебряной водой, в которой был растворен аргинин с добавлением а (водный раствор координационного соединения дипептида изолейцин-триптофанс нитратом серебра в молярном соотношении 1:2 и концентрацией действующего

вещества 158,3 мкг/мл при концентрации дипептида 100 мкг/мл) (таблица 21).

Таблица 21. – Больные животные, которых лечили серебряной водой в которой был растворен аргинин с добавлением *a*

№ животного	Эритроциты, 10 ¹²	Лейкоциты 10 ⁹	Диагноз (демодекс)	Материал со сылкой	Клинические признаки до лечения	Клинические признаки после лечения
1355	7,7	9,6	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T		вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$
1278	7,5	9,8	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T		вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$
1296	8,1	10,0	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T		вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$
1322	7,6	10,1	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$
1261	7,4	9,9	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$
1279	7,8	10,0	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$
1301	7,8	9,8	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$	
1293	7,5	9,8	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$
1300	7,4	10,0	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$	вид $\frac{1,0}{1,0}$ vis $\frac{1,0,0}{1,01}$

Во вторую группу входили больные животные, которых лечили только серебряной водой с аргинином (таблицы 22 и 23).

Таблица 22. – Больные животные, леченные только серебряной водой с аргинином

№ животного	Эритроциты, 10 ¹²	Лейкоциты 10 ⁹	Диагноз (демодекс)	Материал со ссылкой	Клинические признаки до лечения	Клинические признаки после лечения
1322	7,6	9,9	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+A		вид $\frac{20}{20}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$
1280	7,5	9,8	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+A	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$	вид $\frac{20}{20}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$
1287	7,7	10,0	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+A	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$	вид $\frac{19}{19}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$
1296	8,1	10,1	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$
1327	8,3	10,1	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$	
1336	7,8	9,6	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$	
1378	7,9	9,7	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$	
1379	7,5	10,0	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$	
1381	7,7	10,1	Обнаружено с аллергическим конъюнктивитом	M+A+T	вид $\frac{1,0}{1,0}$ <i>vis</i> $\frac{1,0,0}{1,01}$	

Таблица 23. – Средние значения лейкоцитов и эритроцитов

Показатель	Норма	Значение	
		животные, леченные только серебряной водой	животные, леченные серебряной водой с аргинином
Эритроциты, 10^{12}	5-10	7,64±0,7	7,79±0,8
Лейкоциты 10^9	4-12	9,89±1,0	9,92±0,9

До лечения содержание эритроцитов и лейкоцитов в обеих группах животных было примерно равным: они статистически не отличались друг от друга и они были в норме.

Как показывают данные, основные гематологические показатели больных животных при лечении аллергического конъюнктивита, находились в пределах физиологических норм. Поэтому эффективность лечения определяли по исчезновению клинических признаков заболевания. Лечение считали законченным после исчезновения клинических признаков заболевания. Следующий опыт был более подробным.

Как показывают данные, основные гематологические показатели коров животноводческой фермы при лечении катарального конъюнктивита, находясь в пределах физиологических норм, имеют значительные изменения при применении комплекса А. Первоначально все показатели были у нижних границ нормы (таблицы 24 и 25).

Таблица 24. – Показатели крови животных, леченных комплексом А

№	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $\times 10^9/л$	СОЭ, мм/час	Эозинофилы, $\% \times 10^9/л$	Лимфоциты, $\% \times 10^9/л$
1310	5,8	83,1	13,3	0,33	5,6	48,1
1315	5,6	85,1	12,9	0,31	5,8	49,4

Окончание таблицы 24

1297	5,9	82,6	12,8	0,35	5,7	49,1
1296	6	84,4	13,8	0,5	5,5	48,9
1314	5,6	83,7	13,1	0,4	5,5	48,7
1313	5,7	81,2	13,7	0,2	5,5	48,2
1276	5,7	83,1	13,8	0,31	5,6	47,9
1304	5,9	82,2	13,7	0,29	5,7	47,9
1285	5,8	83,1	13,6	0,33	5,5	48
1287	5,8	82,9	12,9	0,33	5,8	47,9
1305	5,9	82,8	13	0,31	5,6	46,9

Таблица 25. – Показатели крови животных леченных комплексом Б

№	Эритроциты, x10 ¹² /л	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, x10 ⁹ /л	СОЭ, мм/час	Эозинофилы, %x10 ⁹ /л	Лимфоциты, %x10 ⁹ /л
1275	6,2	85,2	13,3	0,37	5,1	44,1
1306	6,6	85,1	12,9	0,34	5,5	41,4
1284	5,9	86,1	13,8	0,36	5,2	44,6
1285	6	86,3	13,6	0,45	5,3	43,2
1308	6,2	86,4	13,1	0,4	5,1	45,7
1307	6,5	82,2	13,7	0,38	4,8	45,8
1281	6,5	86,1	13,7	0,33	5,1	44,9
1317	5,9	85,2	13,6	0,39	5,2	44,9
1315	6,1	85,1	13,4	0,35	5	43,1
1299	6,2	84,9	12,9	0,34	5,2	43,6
1289	6,2	85,2	12,7	0,33	5,1	43,8

При лечении катарального конъюнктивита комплексом А улучшение клинических признаков начинается с 4-5 суток после начала лечения (таблица 26). На 13-15 сутки признаки заболевания становились незначительными. На 15-16 сутки от начала лечения общее состояние животных приходило в норму.

Таблица 26. – Средние гематологические показатели коров при лечении катарального конъюнктивита комплексами с ионами меди и серебра ($M \pm m$), $n=21$ при концентрации 1×10^{-6}

Показатель	Конт- роль	Комплекс (А)		Комплекс (Б)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	5-10	5,8 \pm 0,13	6,97 \pm 0,69	6,2 \pm 0,25	6,65 \pm 0,47
Гемоглобин, г/л	80-150	83,1 \pm 2,1	92,8 \pm 3,36	85,2 \pm 2,47	90,5 \pm 4,17
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	4-12	13,3 \pm 1,67	9,4 \pm 1,29	12,7 \pm 2,35	10,5 \pm 1,23
СОЭ, мм/час	0,1-0,6	0,33 \pm 0,04	0,49 \pm 0,07	0,37 \pm 0,03	0,41 \pm 0,09
Эозинофилы, % $\times 10^9/л$	2-20	5,6	7,9	5,1	6,5
Лимфоциты, % $\times 10^9/л$	45-75	48,1	57,3	44,1	59,3
Моноциты, % $\times 10^9/л$	2-7	4,5	6,1	5,1	5,9

Результаты изучения биохимических и иммунологических показателей сыворотки крови коров представлены в таблице 27, которые показывают, эти показатели, в основном находясь в пределах физиологических норм, претерпевают значительные изменения, более благоприятных по значению.

Таблица 27. – Биохимические и иммунологические показатели сыворотки крови коров при лечении катарального конъюнктивита комплексами с ионами меди и серебра ($M \pm m$), $n=21$

Показатель	Конт- роль	Комплекс А		Комплекс Б	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Общий белок, 10 г/л	60-80	51 \pm 2,1	73.6 \pm 2,1	64.2 \pm 3,1	71.6 \pm 3,3
Кальций, ммоль/л	2.1-2.8	2.2 \pm 1.1	2.8 \pm 2.3	2.1 \pm 1.5	2.3 \pm 2.4
Фосфор, ммоль/л	1.4-2.5	1.4 \pm 0.66	2.5 \pm 0.50	1.6 \pm 0.72	2.4 \pm 0.44
Лизоцимная активность сыворотки крови, %	10-25	15.1 \pm 2.5	17.3 \pm 1.7	15.3 \pm 1.3	16.5 \pm 2.7
Фагоцитарная активность лейкоцитов (ФАЛ), %	65-85	61.3 \pm 2.2	68.5 \pm 3.2	62.4 \pm 2.3	67.3 \pm 1.5
Фагоцитарное число (ФЧ), %	6-9	6.5	7.1	6.6	6.9

$P < 0,05$

Также было проведено лечение животных, больных гнойным конъюнктивитом, комплексами *A* и *B*, и измерены гематологические, биохимические и иммунологические показатели крови животных в результате которых аналогично с данными таблиц 25-27 комплексы *A* и *B* показали нормализующие действия.

Выздоровление больных животных острым катаральным конъюнктивитом отмечалось: при лечении комплексом *A* 4-5 дней, а комплексом *B* на 6-7-й дни после начала лечения, а больных гнойным конъюнктивитом: комплексом *A* на 18-20 дни после лечения, а комплексом *B* – на 20-21 день. Здесь необходимо отметить, что при традиционном лечении острого катарального конъюнктивита лечение длится 1,5-2 недели, а при гнойном конъюнктивите – месяц-полтора.

Таким образом, применение препаратов на основе вышеназванных иммуномодулирующих комплексов аргинина с ионами меди и серебра, препарата тимогар с ионами меди и серебра для лечения конъюнктивита животных являются эффективными, позволяет значительно сократить сроки лечения по сравнению с традиционными методами.

3.6. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите

На сегодняшний день заболевания печени представляют собой одну из самых серьезных проблем для здравоохранения в мировом масштабе. Например, по данным статистики, количество людей, инфицированных вирусами гепатита В и С, составляет около 4 миллиардов и 180 миллионов человек соответственно. Также широко распространены заболевания, такие как неалкогольная жировая болезнь печени, которой страдает примерно 20% населения планеты. Это подчеркивает, насколько остро стоит вопрос лечения заболеваний печени и их влияние на общественное здоровье.

Множество заболеваний печени, независимо от их этиологии, сопровождаются развитием различных иммунодефицитных состояний, что

существенно ухудшает исходы заболевания и затрудняет лечение. В связи с этим терапевтические схемы часто включают в себя препараты, обладающие иммуотропной активностью, которые способны не только воздействовать на саму болезнь, но и поддерживать иммунный статус организма, помогая ему справляться с инфекционными агентами. Одним из таких препаратов является тимоцин, иммуномодулирующее средство, разработанное в Таджикистане. Этот препарат продемонстрировал высокую терапевтическую эффективность, особенно в комплексе с другими средствами при лечении вирусных гепатитов.

Кроме того, в рамках исследований был создан другой препарат, **тимоарг**, который представляет собой водный раствор координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан с ионом серебра. В нем содержание действующего вещества составляет 158,3 мкг/мл, а концентрация дипептида – 100 мкг/мл. Данный препарат обладает не только иммуотропными свойствами, но также имеет выраженную антибактериальную активность, что делает его перспективным в борьбе с инфекционными заболеваниями. Важно также отметить, что оба препарата оказывают влияние на биохимические показатели крови животных при экспериментальном гепатите, что подтверждается данными экспериментальных исследований.

В рамках исследования кроликам был введен четыреххлористый углерод, что способствовало развитию у них токсического гепатита, сопровождающегося значительным нарушением работы печени. Это, в свою очередь, приводило к существенному повышению уровня билирубина в крови, активности печеночных ферментов АЛАТ (аланинаминотрансфераза) и АСАТ (аспартатаминотрансфераза), а также к повышению концентрации креатинина, сахара и холестерина. Эти биохимические изменения являются характерными для токсического гепатита, что подтверждает диагноз и позволяет судить о степени поражения печени. Важно отметить, что остальными биохимическими показателями, такими как уровни белка и

электролитов в крови, можно было наблюдать лишь незначительные отклонения от нормы, что также подтверждает, что изменения касались прежде всего функций печени.

Данные биохимических анализов крови животных, полученные в ходе эксперимента, приведены в таблицах 28 и 29. Эти таблицы дают наглядное представление о степени изменения биохимических показателей при различных этапах эксперимента, а также позволяют оценить эффективность применяемых препаратов.

После применения обоих препаратов нормализовались содержание общего билирубина, активность АЛАТ и АСАТ, холестерина и сахара.

Статистически достоверно ($P < 0,05$) снижалось содержание свободного билирубина и активность АЛАТ и АСАТ.

Значимых отличий в показателях крови животных обеих групп не отмечалось.

Анализ изменений биохимических показателей от исходного значения приведен в таблице 28.

Таблица 28. –Биохимические показатели крови животных до и после применения водного раствора координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан с ионом серебра при концентрации 1×10^{-6}

Показатель	До лечения	После лечения	Изменение показателя в % от исходного	Достоверность различия	норма
Общий белок, г/л	63,7±2,9	68,3±1,9	5,1	$P > 0,05$	60-82
Холестерин, ммоль/л	0,88±0,1	1,01±0,07	11.9	$P > 0,05$	0,91-1,37
Билирубин общий, мкмоль/л	12,36±1,29	9,95±0,72	-25.0	$P > 0,05$	0,17-12

Окончание таблицы 28

Билирубин связанный, мкмоль/л	3,59±0,3	2,97±0,18	-24,9	P > 0,05	0-1,67
Билирубин свободный, мг%	7,92±1,02	4,77±0,92	-66,0	P < 0,05	0-1,71
Мочевина, ммоль/л	6,77±0,68	6,15±0,83	-9,1	P > 0,05	2,3- 6,6
Креатинин, мкмоль/л	150,55±18,26	156,4±16,64	4,3	P > 0,05	44,2- 141,4
АЛАТ, Ед/л	122,3±10,55	54,2±7,37	-130,1	P < 0,05	25-60
АСАТ, Ед/л	77,6±7,78	23,8±5,67	-229,4	P < 0,05	5-31
Амилаза, Ед/л	230,6±17,0	197,9±13,3	-20,9	P > 0,05	0-485
Сахар, ммоль/л	16,37±1,89	13,89±0,92	-17,3	P > 0,05	6,1- 15,9
Триглицериды, ммоль/л	1,59±0,39	1,77±0,23	8,5	P > 0,05	1,4- 1,8
ЛПВП	0.7±0.06	0.65±0.03	-3.1	P > 0.05	
Мочевая кислота, мг%	0,75±0,07	0,71±0,08	-8,5	P > 0,05	0,6- 0,8
Щелочная фосфатаза	0,180±0,20	0,185±0,18	-8,3	P > 0,05	0,90- 2,29

Как можно видеть из таблицы 29, особых различий в действии препаратов отмечено не было.

Таблица 29. –Биохимические показатели крови животных до и после применения тимоцина при концентрации 1×10^{-2}

Показатель	До лечения	После лечения	Достоверность различия	Норма
Общий белок, г/л	63,7±2,9	69,1±2,5	P > 0,05	60-82
Холестерин, ммоль/л	0,88±0,1	0,97±0,09	P > 0,05	0,91-1,37
Билирубин общий, мкмоль/л	12,36±1,29	9,76±0,92	P > 0,05	0,17-12

Окончание таблицы 29

Билирубин связанный, мкмоль/л	3,59±0,3	3,01±0,28	P > 0,05	0-1,67
Билирубин свободный, мг%	7,92±1,02	4,77±0,92	P < 0,05	0-1,71
Мочевина, ммоль/л	6,77±0,68	6,22±0,76	P > 0,05	2,3-6,6
Креатинин, мкмоль/л	150,55±18,26	157,7±17,21	P > 0,05	44,2-141,4
АЛАТ, Ед/л	122,3±10,55	57,4±6,88	P < 0,05	25-60
АСАТ, Ед/л	77,6±7,78	26,2±4,91	P < 0,05	5-31
Амилаза, Ед/л	230,6±17,0	185,7±16,8	P > 0,05	0-485
Сахар, ммоль/л	16,37±1,89	14,01±1,02	P > 0,05	6,1-15,9
Триглицериды, ммоль/л	1,59±0,39	1,79±0,11	P > 0,05	1,4-1,8
ЛПВП	0,7±0,06	0,69±0,04	P > 0,05	
Мочевая кислота, мг%	0,75±0,07	0,69±0,07	P > 0,05	0,6-0,8
Щелочная фосфатаза	0,170±0,15	0,180±0,18	P > 0,05	0,90-2,29

В таблице 30 и на рисунке 15 показано изменение показателей крови при применении тимоцина и тимоарга.

Таблица 30. – Изменение показателей крови при использовании тимоцина и тимоарга

Показатель	Изменение параметра при использовании препарата			
	Тимоцин		Тимоарг	
	абсолютное	в % от исходного	абсолютное	в % от исходного
Общий белок, г/л	5,5	8,58	4,7	7,32
Холестерин, ммоль/л	0,08	9,23	0,14	14,87
Билирубин общий, мкмоль/л	-2,5	-20,04	-2,51	-20,5
Билирубин связанный, мкмоль/л	-0,68	-15,15	-0,52	-16,27
Билирубин свободный, мг%	-3,25	-40,77	-3,15	-39,77
Мочевина, ммоль/л	-0,55	-8,12	-0,62	-9,16
Креатинин, мкмоль/л	7,15	4,75	5,85	3,89
АЛАТ, Ед/л	-64,9	-53,07	-68,1	-55,68
АСАТ, Ед/л	-51,4	-66,24	-53,8	-69,33
Амилаза, Ед/л	-44,9	-19,47	-32,7	-14,18

Окончание таблицы 30

Сахар, ммоль/л	-2,36	-14,42	-2,48	-15,15
Триглицериды, ммоль/л	0,2	12,58	0,18	11,32
ЛПВП	-0,01	-1,43	-0,05	-7,14
Мочевая кислота, мг%	-0,06	-8	-0,04	-5,33

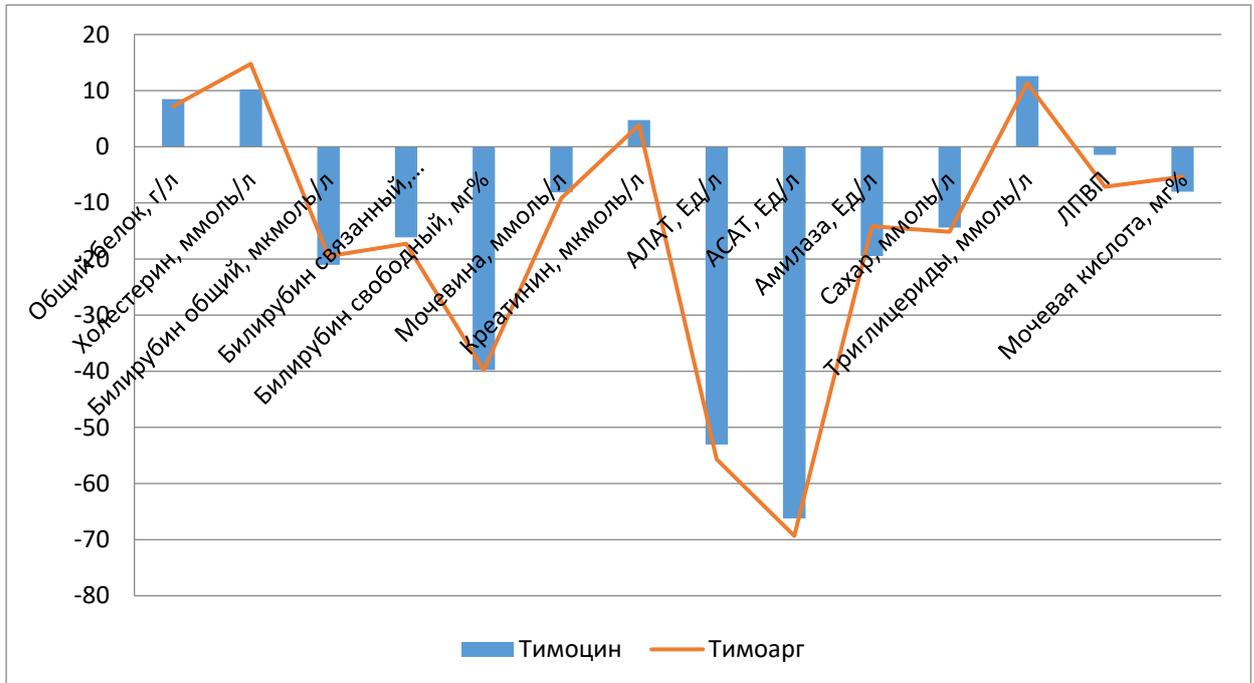


Рисунок 15. – Диаграмма изменение показателей крови при применении тимоцина и тимоарга

Таким образом, применение тимоцина и тимоарга способствовало нормализации показателей функционирования печени, что доказывает наличие у а и а гепатопротекторных свойств.

3.7. Терапевтические свойства координационных соединений серебра и дипептида Н-Пе-Trp-ОН при лечении герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота

Герпесвирусные инфекции, наряду с вирусами гриппа и ОРВИ, занимают одно из первых мест в списке инфекционных заболеваний у людей и животных [3, с.7]. В частности, вирус BHV-1, относящийся к подсемейству Alphaherpesvirinae, был выделен от естественно зараженного крупного рогатого скота [12, с.5]. Этот вирус отличается коротким циклом размножения и способен вызывать латентные инфекции в нейронах. После

попадания в организм вирус интегрируется в геном клеток, что приводит к иммунодефициту и затрудняет его полное устранение. Поэтому герпесвирусную инфекцию можно считать интеграционным заболеванием.

При наличии иммунодефицитного состояния инфекция чаще прогрессирует и протекает тяжелее, что связано с патологическими реакциями, вызванными иммуноглобулинами, иммунными комплексами и Т-лимфоцитами. Для снижения остроты иммунодефицита необходимо воздействовать на различные звенья иммунной системы с помощью иммуномодулирующих препаратов. Вирусы BHV-1 размножаются в клетках иммунной системы, что приводит к их гибели или снижению активности. Это вызывает длительное циркулирование вируса в организме [24, с.19]. При инфекции наблюдается снижение уровня эндогенного интерферона, активности натуральных киллеров, антителозависимой клеточной цитотоксичности и числа Т-лимфоцитов и нейтрофилов, при этом увеличивается количество иммунных комплексов. В результате этих нарушений организм не может полностью избавиться от вируса, который распространяется как через межклеточные мостики, так и экстрацеллюлярным путем. Иммунные расстройства могут сохраняться как во время рецидивов заболевания, так и после выздоровления, что имеет значение для иммунопрофилактики герпетической инфекции.

Влияние альфагерпесвирусов на инфекционную патологию у крупного рогатого скота. В инфекционной патологии крупного рогатого скота (КРС) значительная роль принадлежит альфагерпесвирусам [31, с.31-32]. Одним из них является герпесвирус 1-го типа, вызывающий инфекционный ринит и токсикоз (ИРТ) [45, с.5].

После попадания в организм вирус может не проявлять активность, но по мере его размножения в определённых органах происходит резкое увеличение числа инфицированных клеток, что приводит к появлению клинических признаков заболевания. Когда иммунная система формирует ответ на инфекцию, большинство вирусных частиц уничтожается. Однако

генетическая информация вируса сохраняется в клетках, которые иммунная система не может атаковать, таких как нервные и некоторые иммунные клетки. В этих клетках вирус может оставаться в латентном состоянии, а при ослаблении иммунитета он активируется, что приводит к рецидиву заболевания. Обычно при рецидиве симптомы менее выражены, чем при первичном инфицировании.

Герпесвирусы могут находиться в организме вместе с другими патогенами, что может осложнять течение болезни [45, с.5]. Это подчеркивает важность изучения действия герпесвирусов на здоровье человека и животных, а также последствий вирусных инфекций. Таким образом, разработка новых эффективных препаратов и комплексных лечебных мероприятий становится актуальной как для медицины, так и для ветеринарии.

В этом контексте были созданы препараты, содержащие координационные соединения триптофан-содержащих дипептидов с ионами Zn^{2+} и Fe^{2+} . Выбор этих металлов обоснован их значением для иммунной системы. В настоящем исследовании оценивалась эффективность координационных соединений серебра и дипептида Н-Ile-Trp-OH (изолейцил-триптофан) в лечении герпесвирусной инфекции у крупного рогатого скота.

Для эксперимента был выбран именно этот дипептид, комбинированный с ионами серебра.

Результаты сравнительного анализа влияния комплекса изолейцил-триптофан и серебра, а также на показатели крови представлены в таблицах 31 и 32. Средние показатели изученных показателей приведены в таблице 33.

Таблица 31. – Показатели крови больных животных

№	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $\times 10^9/л$	Моноциты, $\times 10^9/л$	Эозинофилы, $\% \times 10^9/л$	Лимфоциты, $\% \times 10^9/л$
1	7,1	89,5	9,8	51	10,3	53

Окончание таблицы 31

2	6,8	90,3	8,6	6,8	10,9	51
3	7,5	88,7	7,4	5,9	8,6	56
4	7,2	89,9	7,9	6,1	9,8	69
5	6,9	92,5	9,2	5,2	11,3	65
6	6,1	88,3	7,3	6,9	10,5	55
7	7,9	87,1	8,3	4,7	8,1	49
8	7,6	91,3	9,1	5,1	9,9	69
9	6,5	92,2	8,3	5,8	9,7	67
10	6,8	90,5	8,7	6,2	8,5	57
11	7,1	88,7	9,1	5,9	11,1	55
12	6,2	87,6	8,4	4,9	8,6	52
13	7,0	90,1	8,6	4,8	8,3	52

Таблица 32. – Показатели крови больных животных

№	Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	Эозинофилы, $\% \times 10^9/\text{л}$	Лимфоциты, $\% \times 10^9/\text{л}$
1	7,0	89,3	9,7	4,9	10,0	51
2	6,9	90,1	8,7	6,6	10,7	59
3	7,4	88,5	7,3	5,7	8,9	56
4	7,1	89,7	7,8	6,3	9,9	67
5	6,8	92,8	9,7	5,4	11,3	63
6	6,2	88,9	7,1	6,7	10,8	59
7	7,8	87,3	8,5	4,9	8,1	51
8	7,5	91,1	9,1	5,1	9,5	67
9	6,6	92,4	8,5	5,6	9,6	63
10	6,9	90,2	8,9	6,0	8,8	59
11	7,1	88,5	9,1	5,7	11,2	55
12	6,2	88,6	8,6	5,2	8,9	51
13	7,0	90,6	8,8	4,9	8,7	57

Таблица 33. – Средние показатели крови животных

Показатель	Значение	
	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	6,4
Гемоглобин, г/л	89,74	89,8
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	7,4	7,2
Моноциты, $\times 10^9/л$	5,65	5,6
Эозинофилы, $\% \times 10^9/л$	9,66	9,58
Лимфоциты, $\% \times 10^9/л$	57,7	58,3

Как видно показатели почти не отличаются друг от друга, что говорит о том, что животные были в хорошем состоянии. Это важное наблюдение, так как любые отклонения от физиологической нормы могли бы указывать на наличие заболеваний или стресса у животных.

Как следует из текста, до лечения группа «А» имела более высокий титр антител, чем группа «В» (таблица 34).

Таблица 34. – Влияние на сравнительный показатель титр герпесвирусов первой группы «А» и второй группы «В»

Название лекарственных средств		Группа (А)			Группа (В)		
		до лечения и обследования	через 21 день	через 35 дней	до лечения и обследования	через 21 день	через 35 дней
Изолейцил-триптофан и серебро	самки	Титр-1:615	T-1:200	T-1:000	Титр-1:415	T-1:100	T-0:050
	самцы	Титр-1:415	T-1:327	T-1:005	Титр-1:320	T-1:150	T-0:050
	самки	Титр-1:340	T-1:255	T-1:150	Титр-1:400	T-1:200	T-1:150
	самцы	Титр-1:425	T-1:266	T-1:200	Титр-1:450	T-1:300	T-1:200

После лечения титры антител в обеих группах снизились, причем особенно заметное снижение наблюдалось в подгруппах, где использовали

комплекс дипептида (изолейцил-триптофан) и серебра. Через 35 дней после лечения титры снизились до уровня 1:000-1:5 в подгруппах с использованием комплекса, что свидетельствует о более выраженном подавлении иммунного ответа. Как следует из нашего текста, до лечения группа «А» имела более высокий титр антител, чем группа «В». После лечения титры антител в обеих группах снизились, причем особенно заметное снижение наблюдалось в подгруппах, где использовали комплекс дипептида (изолейцил-триптофан) и серебра. Через 35 дней после лечения титры снизились до уровня 1:000-1:5 в подгруппах с использованием комплекса, что свидетельствует о более выраженном подавлении иммунного ответа.

Данные клинических исследований показывают, что лейкоциты у двух обследованных групп до и после введения препарата почти не отличаются, но незначительно занижены от нормы у первой ($7,4 \pm 0,37$) и у второй ($7,2 \pm 0,27$) групп, которым введено координационное соединение и , соответственно. Эритроциты у первой группы до введения $6,2 \pm 1,8$, после введения $6,0 \pm 2,1$, у второй $5,1 \pm 1,7$ до введения и $5,0 \pm 0,09$ после введения. Как видно из данных анализов крови животных лейкоциты и эритроциты очень близки к нормам. Общий белок у первой и второй групп чуть занижен от нормы (у первой $7,1 \pm 0,3$ до введения $6,8 \pm 0,27$ после введения, у второй $7 \pm 0,2$ до и $6,9 \pm 0,18$ после введения).

Содержание эритроцитов было на нижнем пределе или чуть ниже нормы, что говорит о нарушении процессов кроветворения. Это говорит о том, что вирус агглютинирует эритроциты.

Данные биохимических анализов (таблица 35, рисунок 16) показали, что лучшая степень нормализации показателей крови отмечалась в тех подгруппах, в которых применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра. Вероятно, это связано с тем, что кроме иммуностимулирующего действия за счет дипептида, этот препарат оказывает также противовирусное действие за счет серебра.

Таблица 35. – Сравнительные биохимические показатели крови при применении изолейцил-триптофана и серебра и а

Биохимические показатели крови	Название лекарственного препарата		
		Координационные соединения изолейцил-триптофан и серебра	Норма
	Изменение параметра при применении препарата		
	абсолютные	абсолютные	
Общий белок, г/л	66	68	65–85
Холестерин, Ммоль/л	4,7	6,0	3,3–6,6
Сахар, ммоль/л	5,2	6,2	4,2–6,4
Амилаза, ед/л	12,5	13,6	12–32
Мочевина, ммоль/л	5,7	7,1	5,3–8,3
Креатинин, ммоль/л	51,6	76,1	57–97
Билирубин общий, мкмоль/л	13,1	15,6	8,0–20
Билирубин связанный, мкм/л	6,1	6,3	2–5
Билирубин свободный, мкм/л	6,4	8,7	1–17
АЛАТ, Ед/л	0,67	0,72	0,15–0,68
АСАТ, Ед/л	0,32	0,42	0,15–0,45

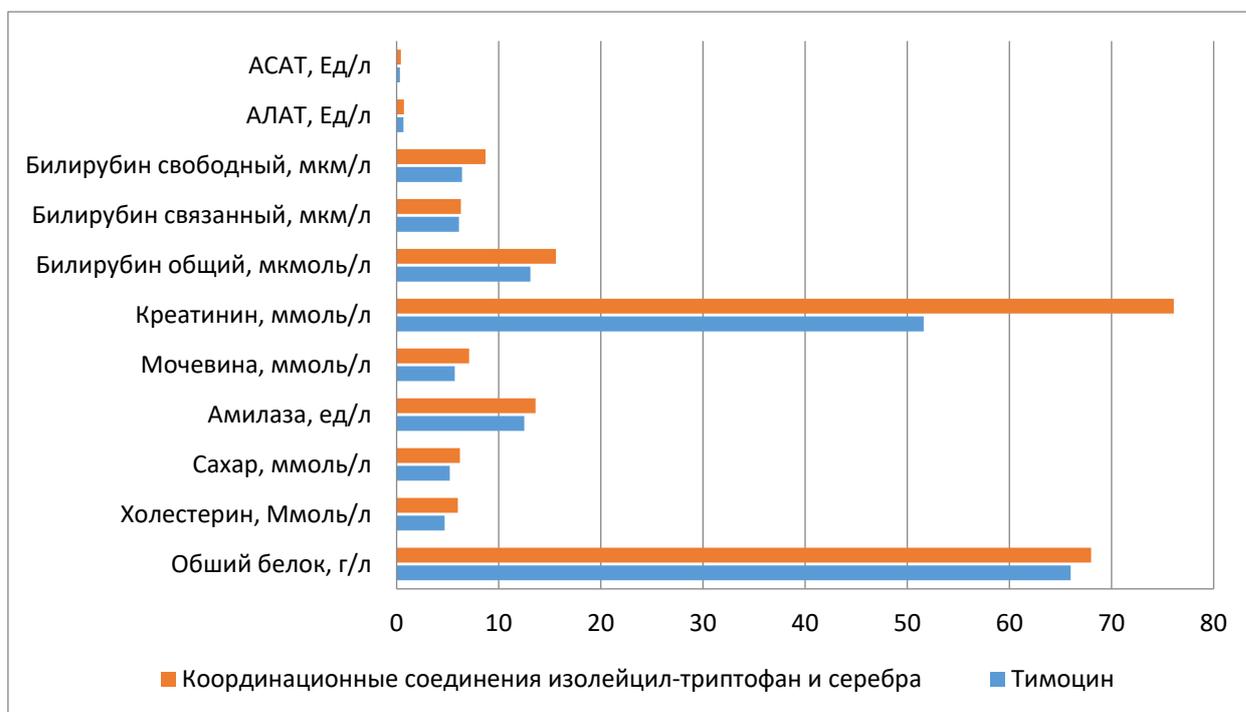


Рисунок 16. – Диаграмма сравнительных биохимических показателей крови при применении изолейцил-триптофана и серебра и а

Вакцинный вирус ИРТ, ВД-БС активизирует Т-клетки, ответственные за связывание антигена и последующее образование иммунологической памяти. Таким образом, специфическая защита против этих заболеваний получается за счет синергического взаимодействия антител, находящихся в крови и присутствующих в секретах слизистых дыхательных путей. Более напряженный иммунитет образуется после введения иммуномодуляторов.

Применение подобных комплексных препаратов восстанавливает биохимические показатели при герпесвирусной инфекции, что свидетельствует о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении изолейцил-триптофан и серебро, по сравнению с ом, более эффективно при лечении вируса герпеса.

3.8. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят

По данным ученых [18, с.5] в группе заразных болезней человека и животных вирусы типа *Herpesvirida* стоят в ряду вместе с гриппом и ОРВИ. Среди инфекционных заболеваний КРС, основная роль принадлежит альфагерпесвирусам [18, с.5], к которым относится герпесвирус *КРС 1*-го типа – возбудитель ИРТ.

Возбудитель ИРТ - герпесвирус крупного рогатого скота 1-го типа является наиболее значимым патогенным агентом для крупного рогатого скота, вызывающий возникновение у животных многих клинических признаков, например, патологии верхних дыхательных путей, конъюнктивиты, системная инфекция у молодняка, а также аборты у стельных животных.

Заболееваемость при этом заболевании составляет 30-100%, летальность достигает 15% [18, с.5].

Основной мерой профилактики является вакцинация, которая при повышенной угрозе заражения герпесвирусом типа –*I*, позволяет защитить

животных от ИРТ, что приведет к сокращению области распространения вируса [18, с.5]. Основным методом лечения является применение гипериммунной сыворотки, неспецифического глобулина или сыворотки реконвалесцентов.

Это заболевание приводит к значительным потерям сельскохозяйственных предприятий из-за резкого уменьшения мясной и молочной продуктивности и снижения показателей воспроизводства у животных.

Именно поэтому поиск новых иммуностимулирующих препаратов и введение их в состав схем вакцинации поможет разработать новые методы надежной профилактики многих заболеваний.

Данные анализов крови приведены в таблицах 36 и 37. Как видно из этих данных, показатели очень близки друг к другу и находятся в норме, что свидетельствует о хорошем состоянии животных и, что они выбраны правильно. Средние показатели приведены в таблице 38.

Таблица 36. – Показатели крови опытных животных, которых вакцинировали с ом

№	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $\times 10^9/л$	Моноциты, $\times 10^9/л$	Эозинофилы, $\% \times 10^9/л$	Лимфоциты, $\% \times 10^9/л$
1	6,2	89,5	7,2	5,1	10,3	53
2	6,4	90,3	7,4	6,8	10,9	51
3	6	88,7	7	5,9	8,6	56
4	6,4	89,9	7,4	6,1	9,8	69
5	6,6	92,5	7,6	5,2	11,3	65
6	6,4	88,3	7,4	6,9	10,5	55
7	6,9	87,1	7,9	4,7	8,1	49
8	6,6	91,3	7,6	5,1	9,9	69
9	6,4	92,2	7,4	5,8	9,7	67
10	6,2	90,5	7,2	6,2	8,5	57
11	6,4	88,7	7,4	5,9	11,1	55

Окончание таблицы 36

12	6,6	87,6	7,6	4,9	8,6	52
13	6,1	90,1	7,1	4,8	8,3	52

Таблица 37. –Показатели крови животных которых вакцинировали с ом

№	Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	Эозинофилы, % $\times 10^9/\text{л}$	Лимфоциты, % $\times 10^9/\text{л}$
1	7,0	89,3	9,7	4,9	10,0	51
2	6,9	90,1	8,7	6,6	10,7	59
3	7,4	88,5	7,3	5,7	8,9	56
4	7,1	89,7	7,8	6,3	9,9	67
5	6,8	92,8	9,7	5,4	11,3	63
6	6,2	88,9	7,1	6,7	10,8	59
7	7,8	87,3	8,5	4,9	8,1	51
8	7,5	91,1	9,1	5,1	9,5	67
9	6,6	92,4	8,5	5,6	9,6	63
10	6,9	90,2	8,9	6,0	8,8	59
11	7,1	88,5	9,1	5,7	11,2	55
12	6,2	88,6	8,6	5,2	8,9	51
13	7,0	90,6	8,8	4,9	8,7	57

Таблица 38. –Средние показатели крови животных

Показатель	Значение	
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	6,4	5,28
Гемоглобин, г/л	89,74	89,8
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	7,4	7,2
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	5,65	5,6
Эозинофилы, % $\times 10^9/\text{л}$	9,66	9,58
Лимфоциты, % $\times 10^9/\text{л}$	57,7	58,3

Как видно, что все показатели почти не отличались друг от друга и находились в пределах нормы.

По существующей методике приведенной в работе Поповой О.А. [119, с.7] животным первой группы вакцину не вводили. Животным остальных групп вакцину вводили внутримышечно в дозе 2 см³/гол, животным третьей группы дополнительно с вакциной вводили , четвертой – . Животных ревакцинировали через 20 дней после вакцинации. На 20, 60, 120 и 180 дни после первичной вакцинации у животных брали кровь для анализов. Анализы проводили согласно ГОСТ.

В таблице 39 приведены результаты изучения эффективности вакцинации телят.

Таблица 39. – Напряженность иммунитета у телят при применении коммерческой вакцины (M±m), n=20

Группа животных	Срок исследования			
	20 день	60 дней	120 дней	180 дней
	Титр антител в РН на ИРТ, (log ₂)			
1 группа	0,4±0,13	0,4±0,224	0,2±0,23	0,2±0,207
2 группа	3±0,61	5,40±0,43	4,10±0,42	2,90±0,41
3 группа	5,20±0,57	9,60±0,76	7,40±0,64	5,20±0,48
4 группа	5,10±0,49	9,30±0,77	7,20±0,69	5,10±0,53

Как видно из таблицы 39, до вакцинации антител против инфекционного ринотрахеита в крови животных почти не было. Через 20 дней после первичной вакцинации титр антител составил во второй группе 2,80±0,21 log₂, в третьей – в 1,8 раза выше, в четвертой – в 1,75 раза выше, чем во второй. Через 60 дней после первичной вакцинации и через 40 дней после вторичной, титр антител увеличился во второй группе в 1,86 раза по сравнению с таковым через 20 дней после первичной вакцинации, в третьей – в 1,88, в четвертой – в 1,86 раз эти показатели соответствует данным, полученной в работе О.А. Поповой.

После чего наблюдалось уменьшение титра антител по сравнению с титром антител через 60 дней: во второй группе – в 1,27 раза, в третьей группе – в 1,27 раза, в четвертой – в 1,26 раза.

Спустя 180 дней после первичной вакцинации титр антител незначительно (3,5 – 4,1%) превышал таковой через 20 дней.

Таким образом, применение тимоцина и тимоарга при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в 1,8 и 1,75 раза. Иммуностимулирующая активность препаратов была почти одинаковой и полученные нами результаты соответствуют показателям работы О.А. Поповой [39, с.297].

Данные анализов крови животных через 60 дней после вакцинации приведены в таблицах 40 и 41. В таблице 42 приведены средние показатели крови животных.

Таблица 40. –Показатели крови животных которых вакцинировали с ом через 60 дней после вакцинации

№	Эритроциты, x10 ¹² /л	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, x10 ⁹ /л	Моноциты, x10 ⁹ /л	Эозинофилы, %x10 ⁹ /л	Лимфоциты, %x10 ⁹ /л
1	6,1	89,5	8,8	5,1	10,3	53
2	5,8	89,9	8,6	5,8	9,9	51
3	6,9	85,9	7,4	5,9	8,6	56
4	7,2	89,9	5,1	5,1	8,8	69
5	6,8	92,5	8,2	5,2	10,1	65
6	6,1	87,3	7,3	4,9	9,5	55
7	5,9	87,1	8,3	4,7	8,1	49
8	7,6	91,3	8,1	5,1	9,9	69
9	6,5	92,2	8,3	5,8	9,7	67
10	6,8	90,5	8,7	5,2	8,5	57
11	7,1	88,7	8,2	5,9	9,1	55
12	6,2	87,6	8,4	4,9	8,6	52
13	7	90,1	8,6	4,8	8,3	52

Таблица 41. – Показатели крови животных которых вакцинировали с ом через 60 дней после вакцинации

№	Эритроциты, x10 ¹² /л	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, x10 ⁹ /л	Моноциты, x10 ⁹ /л	Эозинофилы, %x10 ⁹ /л	Лимфоциты, %x10 ⁹ /л
1	7,0	89,3	9,7	4,9	10,0	51
2	6,9	90,1	8,7	6,6	10,7	59
3	7,4	88,5	7,3	5,7	8,9	56
4	7,1	89,7	7,8	6,3	9,9	67
5	6,8	92,8	9,7	5,4	11,3	63
6	6,2	88,9	7,1	6,7	10,8	59
7	7,8	87,3	8,5	4,9	8,1	51
8	7,5	91,1	9,1	5,1	9,5	67
9	6,6	92,4	8,5	5,6	9,6	63
10	6,9	90,2	8,9	6,0	8,8	59
11	7,1	88,5	9,1	5,7	11,2	55
12	6,2	88,6	8,6	5,2	8,9	51
13	7,0	90,6	8,8	4,9	8,7	57

Таблица 42. – Средние значения показателей крови животных через 60 дней после вакцинации

Показатель	Значение	
	До вакцинации	После вакцинации
Эритроциты, x10 ¹² /л	6,6	6,96
Гемоглобин, г/л	89,4	89,84
Лейкоциты, x10 ⁹ /л	8,0	8,6
Моноциты, x10 ⁹ /л	5,26	5,61
Эозинофилы, %x10 ⁹ /л	9,18	9,72
Лимфоциты, %x10 ⁹ /л	7	58,31

Как видно из таблицы 42, все показатели находятся в пределах нормы, хотя и были измененными. Вакцинация в присутствии иммуностимуляторов

положительно влияет на став крови животных, что способствует улучшению их самочувствия.

Еще одним аспектом борьбы с ИРТ является разработка эффективных схем лечения.

Иногда герпесвирусы находятся в организме животных и птиц с присутствием других возбудителей, что дает определенные осложнения болезни.

В связи с этим разработка новых эффективных препаратов и создание комплекса лечебных мероприятий становятся актуальными и для медицины, и для ветеринарии.

Целью данной части работы являлось изучение эффективности лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в зависимости от применения тимоцина и тимоарга.

Результаты сравнительной оценки влияния комплекса дипептида изолейцил-триптофан и серебра и тимоцина на показатели крови приведены в таблицах 43 и 44.

Таблица 43. –Влияние на сравнительный показатель титр герпесвирусов первой группы (А) и второй группы (В)

Название лекарственных средств		Группа (А)			Группа (В)		
		до лечения и обследования	через 21 день	через 35 дней	до лечения и обследования	через 21 день	через 35 дней
Изолейцил-триптофан и серебро	самки	Титр-1:615	Т-1:200	Т-1:000	Титр-1:415	Т-1:100	Т-0:050
	самцы	Титр-1:415	Т-1:327	Т-1:005	Титр-1:320	Т-1:150	Т-0:050
	самки	Титр-1:340	Т-1:255	Т-1:150	Титр-1:400	Т-1:200	Т-1:150

Окончание таблицы 43

	самцы	Титр-1:425	Т- 1:266	Т- 1:200	Титр-1:450	Т- 1:300	т-1:200
--	-------	------------	-------------	-------------	------------	-------------	---------

Как видно из таблицы 43, до лечения титр антител в группе (А) был выше, чем в группе (В). Титры антител после лечения в обеих группах снижались более сильно в тех подгруппах, где применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра: через 35 дней после лечения они снизились до уровня 1:000-1: 50.

Данные клинических исследований при увеличении от двух до четырех кратного увеличения концентрации препаратов показатели лейкоцитов у обоих обследованных групп до и после введения препарата почти не отличаются, но незначительно повышены от нормы у первой ($7,6 \pm 0,38$) и второй ($7,4 \pm 0,29$) групп, которым введено координационное соединение и , соответственно. Кроме того, эритроциты практически как у первой группы до введения $6,4 \pm 1,8$, после введения $6,1 \pm 2,3$, у второй $5,4 \pm 1,8$ до введения и $5,5 \pm 0,21$ после введения. Как видно, из данных клинического и биохимического исследования крови животных, количество лейкоцитов и эритроцитов очень мало отличается от нормы, это отличие можно считать пределом ошибки эксперимента. Общий белок у первой и второй групп чуть повышен от нормы (у первой $7,1 \pm 0,3$ до введения и $7,4 \pm 0,32$ после введения, у второй $7 \pm 0,2$ до и $7,1 \pm 0,23$ после введения). Таким образом можно сделать вывод о том, что количество препаратов не влияет на показатели крови. Эти результаты еще раз доказывают наличие иммуномодулирующих свойств у полученных препаратов.

На основании приведенных информации в работе Беляева Е.В. «вирус способен агглютинировать эритроциты мыши, хомяка, морской свинки, крысы и человека, что обусловлено наличием мажорного гликопротеина VP90, расположенного в шипиках вирионов».

Было обосновано, «что вирус способен адсорбироваться на поверхности лейкоцитов». «Последние, являясь достаточно подвижными

клетками, активно распространяют возбудителя по всему организму. Так, вирус, адсорбируясь на клетках лимфоидного ряда, первоначально попадает в регионарные места поражая лимфатические узлы, из них через некоторое время проникает в кровь, а далее разносится по всему организму и наблюдаются признаки вирусемии, который приводится в исследованиях *Беляева Е.В.*».

Данные биохимические показатели (таблица 44 и рисунок 17) при двукратном увеличении концентрации практически не изменились по сравнению с ранее полученными результатами и показали, что лучшая степень нормализации показателей крови отмечалась в тех подгруппах, в которых применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра, это говорит о том, что влияние препаратов от дозы не зависит. Вероятно, это связано с тем, что кроме иммуностимулирующего действия за счет дипептида, этот препарат оказывает также противовирусное действие за счет серебра.

Таблица 44. – Сравнительные биохимические показатели крови при применении изолейцил-триптофана и серебра и тимоцина

Биохимические показатели крови	Изменение параметра при применении препарата		
	тимоцин	тимоарг	Название лекарственного препарата
	Абсолютные	Абсолютные	
Общий белок, г/л	67	69	65-85г/л
Холестерин, Ммоль/л	4,8	6,1	3,3-6,6мм/л
Сахар, ммоль/л	5,2	6,2	4,2-6,4мм/л
Амилаза, ед/л	13,1	14,1	12-32е/л
Мочевина, ммоль/л	5,6	7,0	5,3-8,3мм/л
Креатинин, ммоль/л	51,8	76,3	57-97мм/л
Билирубин общий, мкмоль/л	12,5	15,1	8,0-20мкм/л
Билирубин связанный, мкм/л	6,2	6,4	2-5мкм/л
Билирубин свободный, мкм/л	6,4	8,7	1-17мкм/л
АЛАТ, Ед/л	0,67	0,72	0,15-0,68е/л
АСАТ, Ед/л	0,33	0,43	0,15-0,45е/л

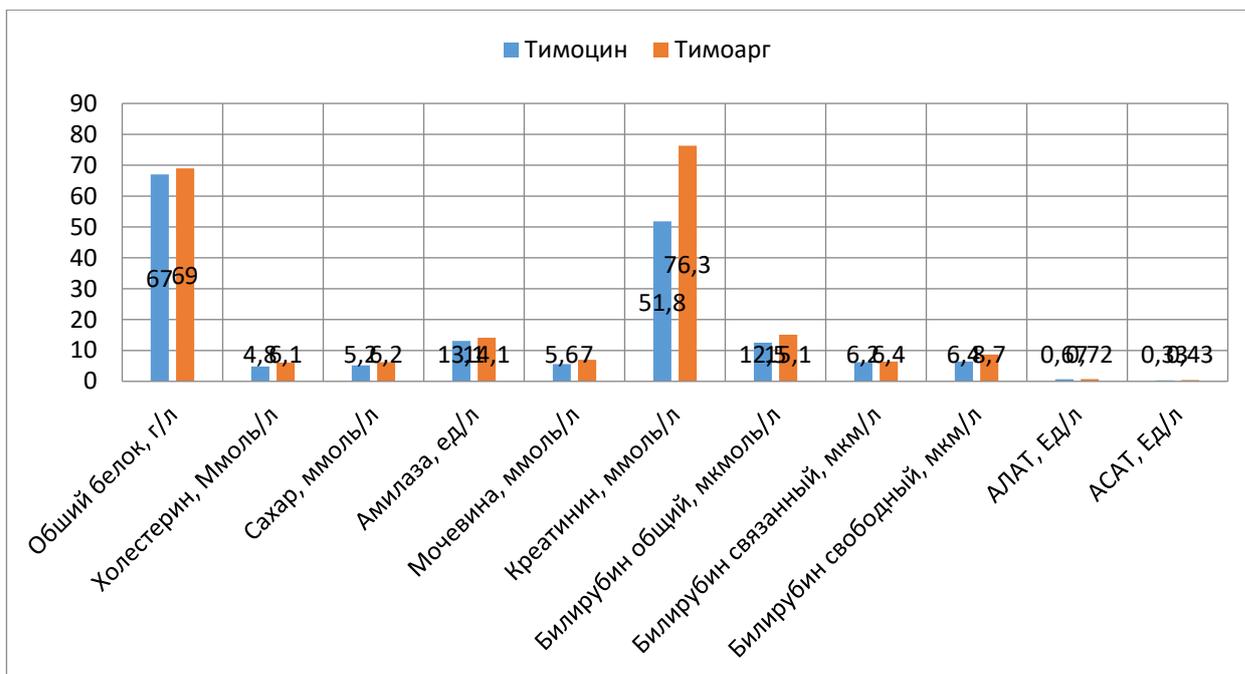


Рисунок 17. – Диаграмма сравнительных биохимических показателей крови при применении изолейцил-триптофана и серебра и тимоцина

Применение тимоцина и тимоарга при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в 1,8 и 1,75 раза. Иммуностимулирующая активность препаратов была почти одинаковой.

Применение а и а нормализует биохимические показатели при ИРТ, что свидетельствуют о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении изолейцил-триптофана и серебра, по сравнению с ом, более эффективно при лечении ИРТ.

3.9. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность лечения телят при диарее

Разработка новых, более эффективных лечебных препаратов является важным направлением в животноводстве, так как это способствует не только улучшению здоровья животных, но и увеличению производства высококачественной продукции животноводства, что, в свою очередь, оказывает положительное влияние на экономику сельского хозяйства. Это особенно актуально для животноводческих предприятий, которые работают с

высокопродуктивными и здоровыми животными, поскольку поддержание их здоровья является ключевым фактором для поддержания высокой продуктивности и качества продукции.

Одной из основных проблем, с которой сталкиваются животноводческие хозяйства в развитых странах, является заболеваемость молодняка крупного рогатого скота (КРС) заболеваниями желудочно-кишечного тракта. В частности, вирусная диарея телят является одним из самых распространенных заболеваний среди молодняка, которое может привести к значительным потерям в поголовье и существенно снизить продуктивность животных. Это заболевание, как правило, протекает с характерными симптомами, такими как понос, снижение аппетита, обезвоживание, а также ухудшение общего состояния животных. Все эти факторы оказывают негативное влияние на рост и развитие молодняка, что ставит под угрозу рентабельность всего животноводческого производства.

В лечении диареи у телят традиционно используются противомикробные препараты, которые оказывают положительное воздействие на снижение бактериальной нагрузки в желудочно-кишечном тракте и помогают в борьбе с инфекцией. Однако длительное применение этих препаратов может вызвать дисбактериоз в кишечнике, что, в свою очередь, снижает уровень естественной резистентности организма больных животных. Нарушение нормальной микрофлоры кишечника может привести к ухудшению пищеварения и всасывания питательных веществ, что ухудшает общее состояние здоровья животных и замедляет процесс выздоровления. Такой дисбаланс может способствовать возникновению вторичных инфекций и осложнений, что затрудняет лечение и повышает затраты на ветеринарное обслуживание.

В связи с этим важным направлением в лечении диареи телят является использование иммуномодулирующих препаратов, таких как и , которые направлены на восстановление и поддержание нормальной функции иммунной системы животных, а также на нормализацию микрофлоры

желудочно-кишечного тракта. Эти препараты оказывают благоприятное влияние на общий иммунный статус организма, способствуют повышению резистентности к инфекционным агентам и помогают ускорить процесс выздоровления, не вызывая побочных эффектов, таких как дисбактериоз.

Таким образом, внедрение новых препаратов, таких как тимоцин и тимоарг, в схему лечения вирусной диареи у телят, может стать значительным шагом вперед в борьбе с этим заболеванием, обеспечивая эффективное лечение без нарушений микробиоты кишечника и других осложнений. Сравнительное изучение этих препаратов позволит выявить их преимущества и определить оптимальные условия для их применения, что приведет к улучшению состояния здоровья молодняка и повышению общей продуктивности животноводства.

До настоящего времени не удаётся достигнуть 100% сохранности поголовья телят. Одним из факторов этого считают острые желудочно-кишечные расстройства, способствующие возникновению иммунодефицитных состояний. Анализируя вышесказанное, нам предстояло выполнить исследование по влиянию а и тимоцина на эффективность лечения телят при диарее. Результаты клинического обследования телят в начале эксперимента приведены в таблице 45.

Таблица 45. – Физиологические и клинические показатели животных до эксперимента

Показатель	Группа животных				
	1	2	3	4	Норма
Температура тела, С	39,6	41,4	41,5	41,7	38,7–40,7
Удары сердца, мин	105,2	113,2	114,2	115,2	99,2–108,2
Дыхание в минутах	54,2	64,2	62,2	65,2	50,2–56,2
Аппетит	Есть	Отс.	Отс.	Отс.	Есть
Диарея	Отс.	Есть	Есть	Есть	Отс.

Окончание таблицы 45

Фекалии	Норма	водянистые, с примесью слизи	водянистые, с примесью слизи	водянистые, с примесью слизи	Норма
Потеря в весе	Отс.	Есть	Есть	Есть	Отс.
Истечения из носа	Норма	серозные, слизистые и слизисто- гнойные +	серозные, слизистые и слизисто- гнойные	серозные, слизистые и слизисто- гнойные	Норма
Слизистая оболочка глаз	Норма	Гиперемирова на	Гиперемирова на	Гиперемиров ана	Норма

Клиническое обследование телят первой группы не выявило явных отклонений от физиологической нормы. Основные показатели (температура тела, частота дыхания, количество пульса) находились в пределах нормы. У телят остальных групп отмечались клинические признаки заболевания.

Окончательный диагноз устанавливали на основании результатов лабораторных исследований. Живая масса и сохранность телят приведены в таблице 46 и на рисунке 18.

Таблица 46. – Показатели живой массы и сохранности телят

Группа	Живая масса, кг		Среднесуточный привес, г	Сохранность животных	
	1 день	60 день		гол	%
1	30,3	66	595,2	5,2	100,2
2	27,7	65,3	627,2	4,2	80,2
3	26,9	67,1	670,2	5,2	100,2
4	26,8	67,3	675,2	5,2	100,2

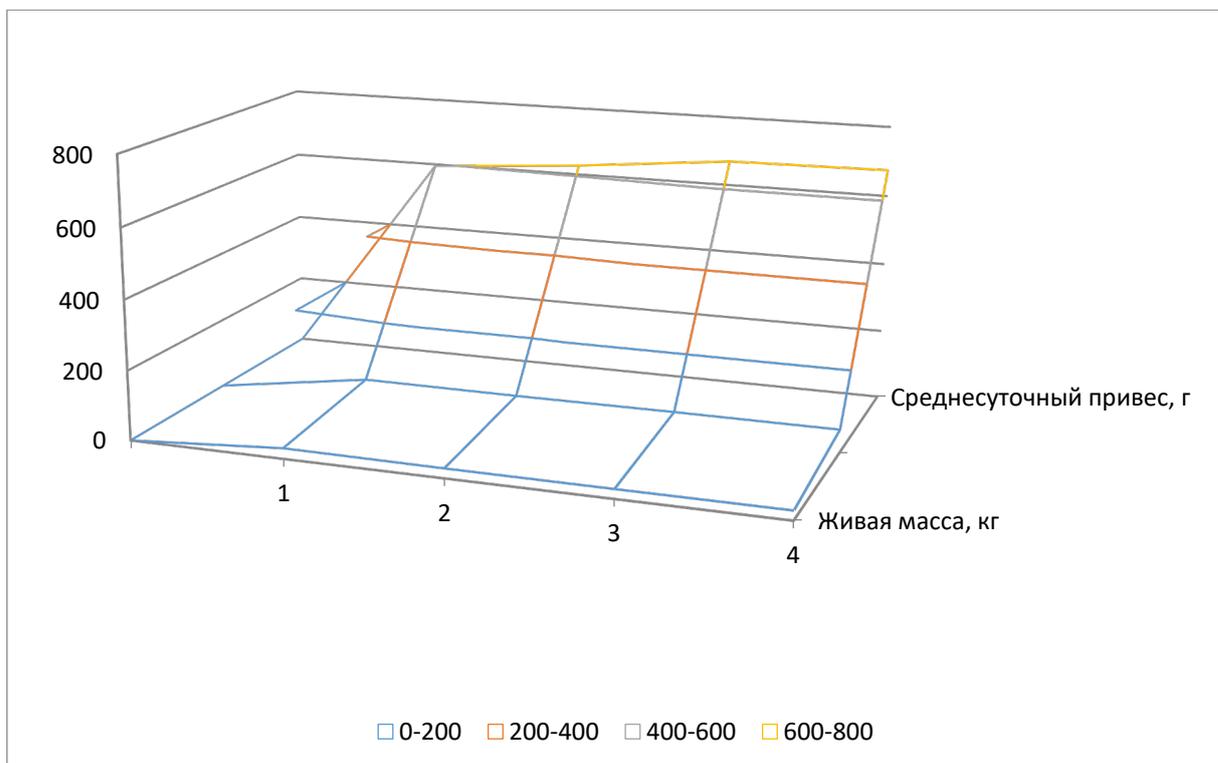


Рисунок 18. – Диаграмма показателей живой массы и сохранности телят

Масса телят до начала опыта находилась в пределах от 26,6 до 30,1 кг. У животных первой контрольной группы к концу опыта он составлял 65,8 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,2 раза. Среднесуточный привес за время эксперимента составил 595 г, сохранность телят – 100%. Средний вес телят второй группы составил 65,1 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,37 раза, среднесуточный привес – 627 г, сохранность животных – 80%, Падёж произошёл в 7 – суточном возрасте. У животных третьей группы средний вес к концу опыта составил 66,9 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,51 раза, средний привес – 670 г, сохранность – 100%. Телята четвертой группы в среднем весили 67,1 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,52 раза, средний привес составил 675 г, сохранность – 100%.

Клинические показатели крови телят в начале эксперимента приведены в таблице 47. Как видно из этих данных, отмечалось снижение количества эритроцитов и лейкоцитов, снижение содержания гемоглобина, снижение СОЭ.

Таблица 47. – Клинические показатели крови телят в начале эксперимента

Показатель	Группа животных				
	1	2	3	4	Норма
Эритроциты, млн/мкл	4,31	3,45	3,74	4,06	5 – 10
Лейкоциты, тыс/мкл	7,52	7,31	7,23	7,19	4–12
Гемоглобин, г/л	101,5	96,6	93,3	92,7	80–150
СОЭ, мм/час	1,5	1,4	1,4	1,3	1–6

Динамика клинических показателей крови приведена в таблице 48.

Таблица 48. – Динамика клинических показателей крови

Дни	Группа				
	1	2	3	4	Норма
Эритроциты, млн/мкл					
1	4,31	3,5	4	3,95	5-10
20	4,40	4,30	5,40	5,50	5-10
30	4,72	4,60	5,30	5,35	5-10
60	4,45	4,40	5,40	5,50	5-10
Лейкоциты, тыс/мкл					
1	7,52	7,31	7,23	7,19	4-12
20	7,60	7,41	7,40	7,30	
30	7,63	7,50	7,80	7,70	
60	7,68	7,60	7,90	7,80	
Гемоглобин, г/л					
1	101,5	96,6	93,3	92,7	80-150
20	103,6	104,7	108,1	108,5	
30	107	108,4	110,9	112,6	
60	106,7	108,1	112,7	114,1	
СОЭ, мм/час					
1	1,5	1,4	1,4	1,3	1-6
20					
30					
60					

Как видно из таблицы 48, к концу эксперимента клинические показатели улучшались. Лучшая динамика отмечалась у животных тех групп, которым в качестве иммуномодулирующих препаратов применяли тимоцин и тимоарг.

Как видно из таблицы 49, до лечения у животных отмечалось повышение содержания билирубина и глобулинов, снижение содержания кальция, общего белка и альбуминов, бактерицидной активности сыворотки крови и фагоцитарной активности нейтрофилов.

Таблица 49. – Иммунобиохимические показатели крови телят в начале эксперимента

Показатель	Группа			
	1	2	3	4
Билирубин, мкмоль/л	4,45±0,94	10,31±2,0	10,1±1,9	10,42±2,1

Окончание таблицы 49

Кальций, ммоль/л	3,04±0,25	2,53±0,24	2,49±0,28	2,51±0,25
Общий белок, г/л	62,9±3,05	54,5±2,4	55,1±2,6	55,3±2,6
Альбумины, %	45,0±1,31	38,72±2,34	39,32±2,29	39,15±2,75
Глобулины, %	56,12±2,25	62,68±2,64	62,18±2,71	61,1±2,6
БАСК, %	47,5±3,62	39,45±3,01	39,15±3,05	38,45±2,81
ФАН	64,5±5,05	52,34±4,9	53,3±5,1	53,1±5,05

Как показывают данные таблицы 50, после лечения иммунобиохимические показатели крови телят приближались к показателям крови здоровых животных, причем наиболее близкими были показатели животных третьей и четвертой групп, в которых применяли тимоцин и тимоарг.

Подобная динамика показателей крови отмечалась при применении в качестве иммуномодулирующего препарата миксоферон.

Таблица 50. – Иммунобиохимические показатели крови телят после лечения

Показатель	Группа			
	1	2	3	4
Билирубин, мкмоль/л	4,45±0,94	10,31±2,00	10,10±1,90	10,42±2,10
Кальций, ммоль/л	3,04±0,25	2,53±0,24	2,49±0,28	2,51±0,25
Общий белок, г/л	62,90±3,05	54,50±2,40	55,10±2,60	55,30±2,60
Альбумины, %	45,00±1,31	38,72±2,34	39,32±2,29	39,15±2,75
Глобулины, %	56,12±2,25	62,68±2,64	62,18±2,71	61,10±2,60
БАСК, %	47,50±3,62	39,45±3,01	39,15±3,05	38,45±2,81
ФАН	64,50±5,05	52,34±4,90	53,30±5,10	53,10±5,05

Применение при лечении диареи телят иммуномодулирующих препаратов тимоцина и тимоарга приводит к повышению эффективности лечения и сохранности животных.

Выводы по третьей главе

Координационные соединения цинка (II) были получены двумя методами: соединения 1-4 получали взаимодействием соответствующей

аминокислоты с водной суспензией гидроксида цинка (метод I), а соединения 5 и 6 – взаимодействием натриевой соли соответствующей аминокислоты хлоридом цинка (II) в воде (Метод II). Для выбора данного вещества послужили свойства данного соединения и эти показатели являются основанием. Следует отметить, что любой метод выполнялся во избежание наличия противоионов, таких как Cl^- или NO_3^- , в конечных комплексах цинка (II).

Комплексные соединения цинка (II) являясь водорастворимыми и содержащими аминокислоты L-Glu, Gly, L-His и L-Pro (1–4), были получены согласно подтвержденной методике, приведенной в разделе «Материалы и методы» для получения Zn(II). Комплекс с метионином. Метод основан на добавлении водного раствора соответствующей аминокислоты (АК) к водной суспензии гидроксида цинка в мольном соотношении 2:1.

Метод I:



Во первых был получен гидроксид цинка $\text{Zn}(\text{OH})_2$ при взаимодействии хлорида цинка (II) с 1M NaOH в мольном соотношении 1:2.

Взвесь $\text{Zn}(\text{OH})_2$ полностью исчезала при получении комплексов Zn(II) 1–4, т.е. с Glu, Gly, His и Pro. Синтезированные комплексы выделяли из реакционной смеси или путем частичного концентрирования на ротаторном испарителе, или путем медленного испарения растворителя при 25°C.

Что касается метода II, то комплексы Zn(II) с метионином и триптофаном (5-6) были получены следующим способом согласно приведенной реакции:



AA = Met и Trp

Сначала было проведено получение натриевой соли аминокислоты.

Оба метода были использованы для получения малорастворимого в воде соединения 5 – Zn(II) с метионином. Хотя полученные продукты имели одинаковую структуру, метод II дал более высокий выход. Комплекс,

полученный методом I, охарактеризован рентгеноструктурным и элементным анализом.

Метод II, начиная с $ZnCl_2$ и натриевой соли AA, не подходил для синтеза водорастворимых комплексов (от 1 до 4), поскольку было бы трудно удалить водорастворимый побочный продукт NaCl. Однако метод II может быть использован для получения комплексов Zn(II) 5 и 6. Эти соединения осаждаются непосредственно из реакционных смесей и легко отделяются от водорастворимого побочного хлорида натрия.

Хотя синтез $[Zn(Pro)_2]$ (4) уже был описан в литературе, стратегия отличалась от той, которую мы использовали. Его осуществляли взаимодействием ацетата цинка с пролином в присутствии триметиламина, используя в качестве растворителя метанол. Полученное таким образом соединение использовалось в качестве катализатора некоторых органических реакций.

Комплексы цинка(II) (1-6) охарактеризованы методами элементного анализа.

Все полученные комплексы цинка (II), кроме одного, являются пятичленными хелатами, где каждая аминогруппа координирована с ионом цинка через атом азота и атом кислорода депротонированной карбоксильной группы. Комплекс Zn-гистидин, напротив, образует шестичленное хелатное кольцо за счет координации с двумя атомами N гистидинового фрагмента, а именно группа $-NH_2$ и N имидазольного кольца. Ни один из образовавшихся комплексов не содержит противоионов; это соответствует процессу синтеза катионов Zn^{2+} с аминокислотами с депротонированной карбоксильной группой.

Антибактериальная активность. Была определена антибактериальная активность всех полученных координационных соединений в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и сравнена с активностью 2-пирролидин-5-карбоксилата цинка (ZnPCA).

Результаты показали, что один из протестированных комплексов продемонстрировал активность, аналогичную ZnPCA, а два других продемонстрировали лучшие антибактериальные свойства.

Комплекс (5) $[\text{Zn}(\text{Met})_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ проявляет обладает более высокими антимикробными свойствами, чем использованный в работе стандарт. В дозе 200 мг/л $[\text{Zn}(\text{Met})_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ замедлял рост *S. Aureus* на 45%; также было найдено, что его минимальная ингибирующая концентрация (МПК) составляет 100 мг/л для *S. Epidermidis* и 200 мг/л для *S. pyogenes*, причем оба показателя ниже, чем для ZnPCA. Комплекс (5) также проявлял лучшую противомикробную активность против *E. coli*, чем ZnPCA. При самой высокой протестированной концентрации наблюдалось 60%-ное замедление роста бактерий по сравнению с контролем.

Комплекс (2) $[\text{Zn}(\text{Gly})_2]$ также проявил большую антимикробную активность, чем ZnPCA. В дозе 200 мг/л $[\text{Zn}(\text{Gly})_2]$ к культурам *S. Aureus* и *S. Pyogenes* ограничивал рост бактерий на 60% и 90% соответственно. В аналогичных образцах, содержащих ZnPCA, устойчивость к *S. Aureus* составляла 50%, а ингибирование роста *S. Pyogenes* достигало значения 75%. Комплекс $[\text{Zn}(\text{Gly})_2]$ также проявлял более сильную антимикробную активность в отношении *P. aeruginosa*, чем ZnPCA.

Комплекс (6), $[\text{Zn}(\text{Trp})_2]$, показал сравнимую антимикробную активность с ZnPCA, причем оба соединения продемонстрировали значения МПК 200 мг/л для *S. Epidermidis* и 300 мг/л для *S. Pyogenes*.

Снижение эффективности существующих антибиотиков и быстрый рост антибиотикоустойчивости среди большинства бактерий дала толчок к поиску новых, более эффективных противомикробных препаратов. Данные литературы говорят, что некоторые координационные соединения металлов (медь, кобальт и цинк) с аминокислотами и их производными хорошую антимикробную активность, превышающую таковую некоторых применяемых сегодня стандартов. Наши результаты показывают, что координационные соединения цинка с аминокислотами показали

антибактериальную активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий, а два из них обладают более сильными антибактериальными свойствами, чем ZnPCA, который используется в косметических продуктах в качестве антибактериального средства. Премлата и др. показали, что смешанные комплексы цинка (II) с 2-замещенными бензотиазолами и аминокислотами обладают более сильными антибактериальными свойствами по сравнению с использованными стандартами.

Результаты наших исследований показали, что в образцах, содержащих 500 мг/л комплексов, ингибирование роста тестируемых грамотрицательных микроорганизмов находится в пределах от 20% до 80%. Исследуемые соединения показали более высокую антимикробную активность в отношении грамположительных, чем грамотрицательных бактерий. Аналогичные результаты были получены при изучении антимикробных свойств координационных соединений аспарагиновой кислоты. Аналогично, комплексы аминокислот меди и кобальта также проявляют более низкую антибактериальную активность в отношении грамотрицательных бактерий. Такие различия в чувствительности грамположительных и грамотрицательных бактерий к тестируемым комплексам могут быть связаны с различиями в строении клеточных мембран.

Были синтезированы и трипептиды AgGlyVal, AgGlyIle, AgGlyLeu, AgGlyTrp, AgGlyPhe, AgGlyTyr и AgGlyGlu и получены комплексы серебра с этими ди- и трипептидами. Было показано, что они обладают антибактериальной активностью, не обладают острой и хронической токсичностью и проявляют антиоксидантную активность.

Целью данного этапа исследований было изучение эффективности а в комплексном лечении больных псориазом.

Результаты лечения показали преимущество комплексного метода с использованием а, по сравнению с традиционным.

В основной группе прекращение распространение поражения кожи, уменьшение воспалительных явлений у большинства больных отмечалось на 2-4 дня раньше, чем в контрольной. Клиническое выздоровление (полное рассасывание псориазических высыпаний) к концу комбинированного курса лечения наблюдалось в 53,3% случаев в основной группе, значительное улучшение (полный регресс 75% высыпаний и более) – в 23,4%, улучшение (регресс 50-75% высыпаний) – в 13,3% случаев. При лечении эффекта от препарата не было обнаружено у 3 (10%) больных с тяжелыми распространенными наследственно обусловленными крупнобляшечными, бляшечными формами псориаза.

У больных, получавших традиционное лечение, клиническое выздоровление было достигнуто в 26,7%, значительное улучшение – в 30%, улучшение – в 26,7% случаев, эффект от терапии обычными средствами не достигнут в 16,7% случаев.

Полное исчезновение псориазических высыпаний происходило в основной группе за $22,3 \pm 1,1$ дня; в контрольной – за $26,2 \pm 1,2$ дня ($P < 0,05$). Применение тимоцина сократило сроки пребывания больных в стационаре до $27,1 \pm 0,9$ дней против $30,5 \pm 1,1$ ($P < 0,05$) в контрольной группе.

У больных отмечалось значительное снижение активности лимфоцитов, снижении количества Е-РОК, Т-супрессоров, повышая соотношение Т-хелперов к Т-супрессорам. У больных псориазом определяется повышение активности гуморального иммунитета в виде увеличения уровней ЕАС-РОК и сывороточных IgM и IgG (соответственно в 1,4 и 1,5 раза). Содержание ЦИК у больных псориазом было почти в 1,4 раза выше, чем у здоровых людей.

Снижение функциональной активности нейтрофилов, которое выражалось в снижении их фагоцитарной активности и фагоцитарного числа, позволяет сделать вывод о нарушении неспецифических факторов защиты.

У больных с относительно тяжелыми формами псориаза на протяжении

более 10 лет иммунологические нарушения были более выраженными.

Применение тимоцина способствовало нормализации всех нарушенных иммунологических показателей, кроме ЦИК. При традиционном лечении большинство иммунологических показателей (6 из 9) оставались нарушенными.

Целью второго этапа исследований было изучение влияния тимоцина на биохимические показатели крови животных при экспериментальном токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом.

При введении четыреххлористого углерода у кроликов были вызваны признаки токсического гепатита: повышение содержания билирубина, активности АЛАТ и АСАТ, креатинина и сахара. На остальные показатели, четыреххлористый углерод не оказал отрицательного действия.

Применение тимоцина способствовало положительной динамике биохимических показателей: снижению содержания связанного и свободного билирубина, активности АЛАТ, АСАТ, сахара и холестерина до значений физиологической нормы. Изменения показателей были статистически достоверными ($P < 0,05$).

Таким образом, применение тимоцина способствовало нормализации биохимических показателей функционирования печени, что свидетельствует о наличии у него гепатопротекторных свойств.

Целью данного этапа работы является поиск новых эффективных лекарственных средств, основанных на комплексных соединениях потенциально иммуноактивных пептидов, аминокислот с ионами биоактивных металлов для лечения заболеваний глаз крупного рогатого скота.

Сначала изучали токсикологические характеристики выбранных комплексных соединений.

При исследовании острой токсичности комплексов на белых мышах за период наблюдения общее состояние и поведение подопытных животных не отличались от таковых животных контрольных групп.

По результатам наших исследований видно, что при дозе 5000 мг/кг не было обнаружено летального исхода, то по ГОСТ 12.1.007-76 комплексы могут быть отнесены к 6 классу опасности (относительно безвредно) и при дозе 10000 мг/кг [Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76.2]. Наши полученные результаты показывают, что как при дозе 5000 мг/кг, так и при дозе 10000 мг/кг дают одинаковые результаты, то есть не являются токсичными.

Как видно из полученных результатов, определение антибактериальной активности комплекса А *in vitro* показало, что интервал МБсК для грамположительных бактерий равен 1,56-6,26 мкг/мл. Наибольшую реакцию к комплексу показывали *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus epidermidis*, имеющих МБсК 1,61-3,14 мкг/мл. Для стандартных и полевых культур *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus cowan* МБсК комплекса А находилась не только в пределах 3,14-6,26 мкг/мл, даже при увеличении дозы МБсК комплекса А обнаружено практически не отличающихся результатов.

Опыты по определению оптимальной дозы применяемого комплекса показали, что таковой является доза в 0,03 мл (2 капли). Учитывая схожесть природы составов комплексов с ионами меди и серебра для комплекса В приняли такую же терапевтическую дозу.

Как показывают данные, основные гематологические показатели коров животноводческой фермы при лечении катарального конъюнктивита, находясь в пределах физиологических норм, имеют значительные изменения при применении комплекса А.

При использовании комплекса А для лечения катарального конъюнктивита снижение признаков заболевания происходит с 4-5 суток после начала лечения. На 13-15 сутки гиперемия конъюнктивы, отек век, слизисто-гнойные истечения, а также поверхностная инфильтрация роговицы стали незначительными. На 15-16 сутки от начала лечения общее состояние животных нормализовалось.

Также было проведено лечение животных, больных гнойным конъюнктивитом, комплексами *A* и *B*, и измерены гематологические, биохимические и иммунологические показатели крови животных в результате которых аналогично с предыдущими данными комплексы *A* и *B* показали нормализующие действия.

Выздоровление больных животных острым катаральным конъюнктивитом отмечалось: при лечении комплексом *A* 4-5 дней, а комплексом *B* на 6-7-й дни после начала лечения, а больных гнойным конъюнктивитом: комплексом *A* на 18-20 дни после лечения, а комплексом *B* – на 20-21 день. Здесь необходимо отметить, что при традиционном лечении острого катарального конъюнктивита лечение длится 1.5-2 недели, а при гнойном конъюнктивите – месяц-полтора.

Таким образом, применение препаратов на основе вышеназванных иммуномодулирующих комплексов аргинина с ионами меди и серебра, препарата тимогар с ионами меди и серебра для лечения конъюнктивита животных не только является эффективным, но и позволяет значительно сократить сроки лечения по сравнению с традиционными методами и приводит биохимические показатели крови животных к норме.

Результаты исследований показали, что применение тимоцина и тимоарга способствовало нормализации показателей функционирования печени, что свидетельствует о наличии у а и а гепатопротекторных свойств.

В инфекционной патологии КРС ведущая роль принадлежит ряду альфагерпесвирусов. К их числу относится герпесвирус КРС 1-го типа – возбудитель ИРТ.

Целью данного этапа исследования является изучение эффективности применения координационных соединений серебра и дипептида *H-Ile-Trp-OH* (изолейцил-триптофан) при лечении герпесвирусной инфекции у крупного рогатого скота.

До лечения титр антител в группе (А) был выше, чем в группе (В). Титры антител после лечения в обеих группах снижались более сильно в тех

подгруппах, где применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра: через 35 дней после лечения они снизились до уровня 1:000-1: 50.

Результаты исследований показали, что применение препаратов, содержащих координационные соединения дипептида изолейцин-триптофан с ионами серебра и цинка нормализует биохимические показатели при герпесвирусной инфекции, что свидетельствует о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении комплекса изолейцил-триптофана с серебром, по сравнению с тимочином, более эффективно при лечении вируса герпеса.

Заболеваемость животных при ИРТ составляет 30-100%, летальность достигает 15%.

Основной мерой профилактики ИРТ является вакцинация, что в условиях повышенной угрозы заражения герпесвирусом типа –I, способствует защите животных от заболевания ИРТ и сократить его область распространения. Больных животных отделяют и лечат с применением гипериммунной сыворотки, неспецифического глобулина или сыворотки реконвалесцентов.

До вакцинации антител против инфекционного ринотрахеита в крови животных почти не было. Через 20 дней после первичной вакцинации титр антител во второй группе составил $2,80 \pm 0,21 \log_2$, в третьей – в 1,8 раза выше, в четвертой – в 1,75 раза выше, чем во второй. Через 60 дней после первичной вакцинации и через 40 дней после вторичной, титр антител увеличился во второй группе в 1,86 раза по сравнению с таковым через 20 дней после первичной вакцинации, в третьей – в 1,88, в четвертой – в 1,86 раза.

Затем отмечалось снижение титра антител по сравнению с титром антител через 60 дней: во второй группе – в 1,27 раза, в третьей группе – в 1,27 раза, в четвертой – в 1,26 раза.

Через 180 дней после первичной вакцинации титр антител незначительно (3,5-4,1%) превышал таковой через 20 дней.

Таким образом, применение тимоцина и тимоарга при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в 1,8 и 1,75 раза. Иммуностимулирующая активность препаратов была почти одинаковой.

Еще одним аспектом борьбы с ИРТ является разработка эффективных схем лечения.

Целью данного исследования является изучение эффективности лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота при применении тимоцина и тимоарга.

Результаты исследований показали, что применение препаратов на основе координационных соединений дипептида изолейцин-триптофан с ионами серебра и цинка нормализует биохимические показатели при ИРТ, что свидетельствует о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении комплекса изолейцил-триптофана с серебром, по сравнению с тимоцином, более эффективно при лечении ИРТ.

Применение а и а при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в 1,8 и 1,75 раза. Иммуностимулирующая активность препаратов была почти одинаковой.

Применение препаратов, содержащих координационные соединения дипептида изолейцин-триптофан с ионами серебра и цинка нормализует биохимические показатели при ИРТ, что свидетельствует о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении изолейцил-триптофан и серебро, по сравнению с ом, более эффективно при лечении ИРТ.

Желудочно-кишечные болезни молодняка крупного рогатого скота являются одной из основных проблем животноводства всех развитых стран.

Одним из таких заболеваний считается вирусная диарея телят. Часто противомикробные препараты, применяемые для лечения диареи молодняка КРС, при длительном и бесконтрольном применении вызывают дисбактериоз

в желудочно-кишечном тракте, что отрицательно сказывается на уровне естественной резистентности организма больных и провоцирует возникновение заболевания.

В связи с вышеизложенным перед нами была поставлена задача изучить влияние а и а на эффективность лечения телят при диарее.

Вес телят к началу опыта был в пределах от 26,6 до 30,1 кг. У животных первой контрольной группк концу опыта он составлял 65,8 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,2 раза. Среднесуточный привес за время эксперимента составил 595 г, сохранность телят – 100%. Средний вес телят второй группы составил 65,1 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,37 раза, среднесуточный привес – 627 г, сохранность животных – 80%, Падёж произошёл в 7-суточном возрасте. У животных третьей группы средний вес к концу опыта составил 66,9 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,51 раза средний привес – 670 г, сохранность – 100%. Телята четвертой группы в среднем весили 67,1 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,52 раза средний привес составил 675 г, сохранность – 100%.

При лечении лучшая динамика показателей крови отмечалась у животных тех групп, которым в качестве иммуномодулирующих препаратов применяли тимоцин и тимоарг.

После лечения иммунобиохимические показатели крови телят приближались к показателям крови здоровых животных, причем наиболее близкими были показатели животных третьей и четвертой групп, в которых применяли тимоцин и тимоарг.

Подобная динамика показателей крови отмечалась при применении в качестве иммуномодулирующего препарата миксоферон.

Применение при лечении диареи телят иммуномодулирующих препаратов а и а приводит к повышению эффективности лечения и сохранности животных.

Выводы

1. В результате оценки влияния координационных соединений на биохимические показатели при лечении псориаза установлено, что их применение оказывает положительное воздействие на основные биохимические и иммунологические параметры, способствует улучшению общего состояния пациентов, сокращению сроков клинического выздоровления и пребывания в стационаре по сравнению с традиционными методами терапии [13-А; 12-А; 9-А; 15-А; 14-А].
2. Изучение эффективности применения координационных соединений при кожных заболеваниях показало, что их включение в комплексную терапию псориаза обеспечивает более высокую клиническую результативность лечения, что проявляется в увеличении доли случаев клинического выздоровления и значительного улучшения состояния больных [11-А; 10-А; 7-А; 8-А; 5-А; 6-А; 15-А].
3. В ходе определения биологической активности новых комплексных соединений иммуноактивных аминокислот и пептидов (аргинина и дипептида изолейцил-триптофан) с ионами серебра и меди (II) при различных заболеваниях животных установлено, что данные соединения обладают выраженной антимикробной, антиоксидантной, иммуномодулирующей и гепатопротекторной активностью и не проявляют токсичности в рекомендованных дозах [13-А; 12-А; 11-А; 10-А; 7-А; 9-А; 5-А; 6-А].
4. Сравнительный анализ активности препаратов на основе координационных соединений аминокислот с ионами серебра, меди (II) и цинка показал, что комплексы изолейцил-триптофана с ионами серебра и цинка характеризуются более высокой терапевтической эффективностью при лечении вирусных инфекций и заболеваний животных, включая герпесвирусную инфекцию и конъюнктивит, по сравнению с рядом традиционных иммуномодуляторов [11-А; 10-А; 8-А; 5-А; 6-А; 17-А; 18-А; 16-А].

Рекомендации по практическому применению результатов

1. В медицине:

- рекомендовать применение а для лечения псориаза, включая комплексную терапию.

2. В ветеринарии:

- применять и при вакцинопрофилактике и лечении инфекционного ринотрахеита (ИРТ) у крупного рогатого скота.
- использовать данные препараты для лечения диареи телят, вызванной вирусами.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бобиев, Г. М.* Иммуноактивные пептиды и их координационные соединения в медицине: Учебное пособие [Текст] / Г.М. Бобиев, Н.Д. Бунятян – Москва: «Русский врач», 2009. – 239 с.
2. *Бобизода Г.М. Раджабов Ф.Ф., Кодиров М.* Результаты применения комплексов металлов при терапии воспалительных глазных заболеваний // Наука и инновация. – 2024. - №1. – С.72-75
3. *Боковой, А. Г.* Герпес вирусные инфекции у детей: Учебное пособие [Текст] / А.Г. Боковой – Москва: «МАКС Пресс», 2008. – 142 с.
4. *Е. В. Бондарев, С. Ю. Штрыголь.* Экспериментальный анализ роли адрено и холинорецепторов во фригопротекторном действии глюкозамина гидрохлорида // Вестник фармации. – 2015. - №1 (67). – С.78-82.
5. *Бунятян, Н.Д., Бобиев, Г.М.* Исследование координации иммуноактивных пептидов с ионами металлов как основы для разработки инновационных лекарственных препаратов // Фармация и фармакология. – 2014. - № 2. – С.66-75
6. *Быкова, В. П.* Морфофункциональная организация лимфоэпителиальных органов глотки человека [Текст] / В.П. Быкова, Г.П. Сатдыкова // Серия биологическая. «Росс. АН». – 2002. – №4. – С. 28-33.
7. *Васильев, С. А.* Адгезивные гликопротеины в патогенезе и лечении иммунокомплексной патологии: автореф. дис. ... док. мед. наук: [Текст] / С.А. Васильев. Москва, 1996. – 46 с.
8. *Вольский Н.Н., Селедцов В.И., Любимов Г.Ю.* Иммуномодулирующие свойства препаратов коллоидного серебра // Коллоидное серебро. Физико-химические свойства. Применение в медицине / Новосибирск: Ин-т катализа им. Г. К. Борескова Сиб. отд. РАН, 1992. – С. 31–52.
9. *Земскова, А. М.* Клиническая иммунология: Учебное пособие [Текст] / А.М. Земскова – Москва: «ГЭОТАР-Медиа», 2005. – 320 с.

10. Игнатов Игнат, Мосин Олег Викторович Методы получения мелкодисперстных наночастиц коллоидного серебра // Интернет-журнал «НАУКОВЕДЕНИЕ». Выпуск 3, май – июнь 2014. – С.1-19
11. Клиническая фармакология тимогена / Ред. В.С. Смирнов. – СПб: , 2003. – С.106
12. Ковалев, С. П. Основные синдромы внутренних болезней животных Монография [Текст] / С.П. Ковалев, А.П. Курдеко, Ю.К. Коваленок – Санкт-Петербург: «ГАВМ», 2013. – 48 с.
13. Коненков, В. И. Протективная система в поддержании постоянства внутренней среды организма [Текст] / В.И. Коненков // Материалы X Международная конференция «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии». – Новосибирск, 2011. – С. 169-172.
14. Коненков, В. И. Протективные функции лимфатической системы// Бюллетень СО РАМН 2007. – №2 (124).- С. 60-64
15. Созаева, Д.И., Бережанская, С.Б. Основные механизмы взаимодействия нервной и иммунной систем. Клинико-экспериментальные данные // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. - № 3 (145) – С.145-150
16. Корнева, Е. А. Пути взаимодействия нервной и иммунной систем: история и современность, клиническое применение [Текст] / Е.А. Корнева // Медицинская иммунология. – 2020. – №3. – С. 405-418.
17. Косарев, В.В. Бабанов, С.А. Профессиональные заболевания кожи // дерматология. – 2010. - №1. – С.18-22.
18. Магдеева, Э. А. Биологические свойства инактивированной липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота: дис. ... канд. мед. наук: [Текст] / Э.А. Магдеева. – Казань, 2016. – 117 с.
19. Мазина, Н. М. Генетика псориаза: обзор литературы [Текст] /Н.М. Мазина // Журнал дермато-венер. и косметолог. – 1993. – №1. – С. 17-19.

20. Генетические факторы этиологии и патогенеза псориаза Н.В. Кунгуров, Н.Н. Филимонкова, В.И. Голубцов, С.А. Корхмазова // *Vestn Dermatol Venerol.* – 2011. - № 1. – С. 23–27
21. *Методические указания по отбору, испытаниям и оценке противовирусных и антибактериальных химиопрепаратов среди соединений различных химических классов. Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Часть IV.* – Москва, 2008. – С. 465-488.
22. *Мирзоев М.Ш., Холназаров Б.М., Шакиров М.Н. и др. Состояние иммунной системы у больных гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области // Доклады Академии наук Республики Таджикистан.* – 2011. - Т.54. - № 5. – С.397-401.
23. *Мирзоева, Д.С., Зикирходжаев, А.Д., Бобизода, Г.М. Влияние иммуномодулирующей терапии на процесс кроветворения у больных с диссеминированным раком молочной железы // Научно-медицинский журнал «Вестник Авиценны». №3, ИЮЛЬ-СЕНТЯБРЬ 2016 г. – С.42-46*
24. *Мищенко, В. А. Экологические особенности герпес вируса крупного рогатого скота типа 5 [Текст] / В.А. Мищенко // В.А. Мищенко, А.В. Мищенко, В.В. Думова // Ветеринария Кубани. – 2015. – №2. – С. 19-22.*
25. *Морозов, В. Г. Пептидные тимомиметики: Учебное пособие [Текст] / В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин – СПб.: «Наука», 2000. – 158 с.*
26. *Обухов, А. В. Влияние колларгола на иммунные реакции in vitro [Текст] / А.В. Обухов // Коллоидное серебро. Физико-химические свойства. Применение в медицине. Институт катализа имени Борескова Г.К. «РАН». – Новосибирск, 1992. – С. 53-54.*
27. *Обухов, А. В. Перспективы применения препаратов серебра для лечения ВИЧ-инфекции [Текст] / А.В. Обухов // Применение препаратов серебра в медицине. Препринт N3. Институт клинической иммунологии «РАМН». – Новосибирск, 1994. – С. 6-12.*

28. *Огурцов П.П., Мазурчик Н.В.* Курс клинической гепатологии: Учеб. пособие. – М.: РУДН, 2008. – 178 с
29. *Огурцов П.П., Мазурчик Н.В.* Курс клинической гепатологии: Учеб. пособие. – М.: РУДН, 2008. – 178 с
30. *Одегов, Е. С.* Герпетическая инфекция у крупного рогатого скота. Современные проблемы в патогенезе острых респираторных вирусных инфекций (обзор иностранной литературы) [Текст] / Е.С. Одегов, О.Г. Петрова // Аграрный вестник Урала. – 2016. – №05 (147). – С.31-36.
31. *Одегов, Е.С., Петрова О.Г.* Герпетическая инфекция у крупного рогатого скота. Современные проблемы в патогенезе острых респираторных вирусных инфекций (обзор иностранной литературы) // Аграрный вестник Урала. – 2016. - № 05 (147). – С. 31-36
32. *Оковитый, С. В.* Иммунные механизмы реализации гепатопротекторных эффектов этомерзола и тимогена [Текст] / С.В. Оковитый, В.В. Гайворонская // «Экспериментальная и клиническая фармакология». – 2002. – №3. – С. 233-237.
33. *Петренко, В. М.* Лимфология как медико-биологическая наука: современные представления в России и история их формирования [Текст] / В.М. Петренко // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2016. – №2. – С. 84-90.
34. *Петренко, В. М.* О структурно-функциональной организации иммунитета: лимфоидная и циркуляторная системы [Текст] / В.М. Петренко // Бюллетень науки и практики – bulletin of science and practice научный журнал (scientific journal). – 2016. – №10. – С. 115-123.
35. *Петренко, В. М.* Функциональная анатомия лимфатической системы: современные представления и направления исследований [Текст] / В.М. Петренко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – №11. – С. 94-97.

36. *Петренко Е. В.* Лимфоидная система и ее место в современной науке // Бюллетень науки и практики. Электрон. журн. – 2017. - №9 (22). – С. 26-50.
37. *Петренко, В. М.* О конституции иммунной (лимфоидной) системы (обзор литературы) / В. М. Петренко // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2019. – № 2 (50). – С. 89–99..
38. *Попова, О. А.* Разработка фармацевтической композиции на основе низкомолекулярных иммуноактивных пептидов и ферулы вонючей [Текст]: диссертация ... кандидата фармацевтических наук: 3.4.2. / Попова, Ольга Анатольевна. – 2022. – 133 с.
39. *Попова, О.И.* Разработка фармацевтической композиции на основе пептидов и лекарственного растительного сырья / О.А. Попова, Н.Д. Бунятян, И.П. Ремезова// 5 Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021»: тезисы докладов. - Волгоград, 2021. – С. 297.
40. *Простой герпес (ПГ) у взрослых.* Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения РФ. Год утверждения (частота пересмотра): 2016
41. *Радченко, В. Г.* Основы клинической гепатологии. Заболевания печени и билиарной системы: Учебное пособие [Текст] / В.Г. Радченко, А. Шабров, Е.Н. Зиновьева. – СПб.: «Диалект»; Москва: «БИНОМ», 2005. – 864 с.
42. *Северьянова, Л. А.* Механизмы действия аминокислоты L-аргинина на нервную и иммунную регуляторные системы [Текст] /Л.А. Северьянова, И.И. Бобынцев // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2006. – №3. – С.60-75.
43. *Скрипкин, Ю. К.* Современные проблемы дерматовенерологии [Текст] / Ю.К. Скрипкин, В.А. Самсонов // Вестник дерматолог и венеролог. – 1997. – №6. – С. 4-8.

44. *Суфиев, Т.Д.* Биологические свойства координационных соединений серебра и триптофана. Автореф. Дисс.канд.биол. наук. - Душанбе, 2009. – 24 с.
45. *Файзуллоева, М.М.* Влияние некоторых пептидов и их координационных соединений с биоактивными металлами на биохимические и иммунологические процессы. Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Душанбе, 2018. – 25 с.
46. *Холназаров Б.М., Г.М. Бобиев, Н.Д. Бунятян* Разработка нового иммуномодулирующего препарата тимофер // Фармация и фармакология. – 2014. - № 2. – С.88-97
47. *Б.М. Холназаров, Н. Д. Бунятян, Ю. В. Олефир, Г. М. Бобизода, А. Б. Прокофьев* Токсические и иммуномодулирующие свойства координационного соединения дипептида изолейцил-триптофана с ионом железа (II) // химико-фармацевтический журнал. – 2017.- Том 51, № 6. – С.26-28.
48. *Цветкова, Г. М.* Пат морфология болезней кожи: руководство для врачей: Учебное пособие [Текст] / Г.М.Цветкова, В.В. Мордовцева, А.М. Вавилов Москва: «Медицина», 2003. – 496 с.
49. *Циглер, Ю.* Вирус простого герпеса 1 типа [Текст] / Ю. Циглер // Вирусология. – 2005. – №79. – С. 13047–13059.
50. *Черешнев, В. А.* Морфологические изменения в центральных и периферических органах иммуногенеза при моделировании токсической гемолитической анемии на фоне острого холодового стресса [Текст] / В.А. Черешнев, Е.И. Самоделкин, П.В. Косарева, Л.В. Сивакова, Е.Ю. Шилов, О.В. Федык, В.П. Хоринко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2017. – №3. – С. 46-51.
51. *Черешнев, В. А.* Экспериментальные модели в патологии: Учебное пособие [Текст] / В.А. Черешнев, Ю.И. Шилов, М.В. Черешнева, Е.И. Самоделкин, Т.В. Гаврилова, Е.Ю. Гусев, И.Л. Гуляева – «Пермь», 2014. – 256 с.

52. *А.Н. Шахматов, Дж.С. Лангариева, Ф.Ш.Талбов, Г.М. Бобиев* О возможной причине повышения иммунологической активности триптофансодержащих дипептидов при образовании солей и комплексообразовании // «Паёми Сино» («Вестник Авиценны») Таджикского государственного медицинского университета имени Абуали ибни Сино, №3, июль-сентябрь 2008 г
53. *Шилов, Д. Ю.* Иммуномодулирующее действие соталола гидрохлорида при остром стрессе [Текст] / Д.Ю. Шилов, Ю.И. Шилов // ActaBiomedicaScientifica. – 2012. – №3-2 (85). – С. 337-342.
54. *Шилов, Ю. И.* Адренергическая регуляция иммунного ответа при экспериментальном тиреотоксикозе у крыс [Текст] / Ю.И. Шилов, А.П. Годовалов // Бюллетень Восточно Сибирского научного центра Сибирского отдела Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 3-2 (85). – С 348-354.
55. *Шуляк, А. Ф.* Инфекционный ринотрахеит у племенных быков на племпредприятиях [Текст] / А.Ф. Шуляк, Г.Н. Величко // Ветеринария. – 2016. – №11. – С. 7-11.
56. *Экспериментальные модели хронической патологии животных для оценки рисков здоровью чувствительных групп населения / Е.В. Дроздова, С.И. Сычик, В.А. Грынчак, С.Н. Рябцева* // Анализ риска здоровью. – 2022. – № 2. – С. 185–195. DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.17
57. *Юров, К. П.* Острые и персистентные герпес - и пест вирусные инфекции крупного рогатого скота: риск распространения при оплодотворении [Текст] / К.П. Юров // Российский ветеринарный журнал. – 2019. – №2. – С. 5-9.
58. *Ялалетдинова, Л.Р.* Морфологическая характеристика структур тимуса лабораторных мышей при введении хорионического гонадотропина [Текст]: диссертация ... кандидата медицинских наук: 03.03.04. / Ялалетдинова Лейсан Рамиловна. – 2015. – 155 с.

59. *Постовалова Е.А., Макарова О.В., Косырева А.М., Михайлова Л.П.* Морфология тимуса и особенности его клеточного состава при экспериментальном остром и хроническом язвенном колите // Журнал «Архив патологии». – 2019. - № 81(5). – С. 53-63
60. *Ширшев, С.В., Кеворков Н.Н.* Зависимость иммуномодулирующих эффектов хорионического гонадотропина от исходной функциональной активности спленоцитов, реализующих адаптивный иммунный ответ // проблемы эндокринологии. – 1993. - Том 39, № 1. – С.54-57
61. *Ялалетдинова, Л. Р.* Нейро-иммуномодулирующие свойства хорионического гонадотропина: Учебное пособие [Текст] / Л.Р. Ялалетдинова, В.С. Гордова, С.А. Ястребова, В.Е. Сергеева – Чебоксары: «Чуваш», 2016. – 148 с.
62. *Addison, A.W.* Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper (II) compounds containing nitrogen-sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua [1,7-bis (N-methylbenzimidazol-2'-yl) - 2,6 - dithiaheptane] copper(II) perchlorate [Text] /A.W. Addison, T.N. Rao, J.Reedijk, J. Rijn, G.C.Verschoor //J. Chem. Soc. Dalton Trans. –1984. – №7. – P. 1349-1356.
63. *Baruch, K.* Breaking immune tolerance by targeting Foxp3(+) regulatory T cells mitigates Alzheimer's disease pathology [Text] / K. Baruch, N. Rosenzweig, A. Kertser, A. Deczkowska, A.M. Sharif, A. Spinrad // Nat Commun. – 2015. – №6. – P. 79-87.
64. *Brand-Williams, W.* Use of free radical method to evaluate anti oxidant activity, / W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset, // Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie – 1995. – P. 25-30.
65. *Brangoulo, H. L.* Assay of the antioxidant capacity of foods using an iron(II)-catalysed lipid peroxidation model for greater nutritional relevance / H. L. Brangoulo, P. C. Molan, // Food Chemistry – 2010. – Vol.125(3) – P. 1126-1130.

66. *Browne, T. C.* IFN-gamma Production by amyloid beta-specific Th1 cells promotes microglial activation and increases plaque burden in a mouse model of Alzheimer's disease [Text] / T.C. Browne, K. McQuillan, R.M. McManus, J.A. O'Reilly, K.H. Mills, M.A. Lynch // *J Immunol.* – 2013. – №190 (5). – P. 2241-2251.
67. *Clarke, G.* High correlation of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolics content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the Malaysian rainforest, / Garry Clarke, Kang Nee Ting, Christophe Wiart, J. Fry, // *Antioxidants* – 2013. – P. 1-10.
68. *György, Csaba.* The Immunoendocrine Thymus as a Pacemaker of Lifespan *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* [Text] / Csaba György // *Issue Volume.* – 2016. – №632. – P. 139-158
69. *Csaba, G.* The immunoendocrine thymus as a pacemaker of lifespan // *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica.* – 2016. – Vol. 63 (2). – P.139–158.
70. *Comprehensive Review of the Safety and Efficacy of Thymosin Alpha 1 in Human Clinical Trials* Elliot Dinetz, MD; Edwin Lee, MD // *Alternative therapies*, January. – 2024. – Vol. 30(1). – P. 6-12
71. *Fulop T, Larbi A, Dupuis G, Le Page A, Frost EH, Cohen AA, Witkowski JM and Franceschi C* Immunosenescence and Inflamm-Aging As Two Sides of the Same Coin: Friends or Foes? *Front. Immunol.* 2018 8:1960.
72. *Goyani P., Christodoulou R., Vassiou E.* Immunosenescence: Aging and immune system decline // *Vaccines.* 2024. 12(12). 1314
73. *Gupta, M.* Zinc Therapy in Dermatology: A Review [Text] /M. Gupta, V.K. Mahajan, K.S. Mehta, P.S.Chauhan// *Dermatol. Res. Pract.* –2014. – №11. – P. 109-115.
74. *Aryal E., Bhattarai E., Bhattarai S.* Zinc therapy in dermatology: A Review and Update // *Nepal Journal of Dermatology, Venereology & Leprology.* – 2021. – Vol.19(1). – P. 3-8.

75. *Hadjer, F.* Antioxidant and Antimicrobial Activity of Some Transition Metal Complexes with Non-natural Amino Acids Used as Ligand [Text] /F. Hadjer, B. Tahar, A.D. Eddine, D. Sofiane //J. Mater. Environ. Sci. –2018. – №7. –P. 2153-2157.
76. *Kidambi, S. S.* Interaction of Cd and Zn with biologically important ligands characterized using solid-state NMR and ab initio calculations. Inorg [Text] /S.S. Kidambi, D.K. Lee, A. Ramamoorthy // Chem. –2003. – №42. – P. 3142-3151.
77. *Kousa, A.I., Jahn, L., Zhao, K. et al.* Age-related epithelial defects limit thymic function and regeneration // *Nat Immunol.* – 2024. – Vol.25, – P. 1593–1606.
78. *Kuraitis, B.D.* Decolonization of Staphylococcus aureus in Healthcare: A Dermatology Perspective [Text] /B.D. Kuraitis, L.Williams // J. Healthc. Eng. –2018. – №65. – P. 238-242.
79. *Kurd, N.* T-cell selection in the thymus: a spatial and temporal perspective [Text] / N. Kurd, E.A. Robey // *Immunol Rev.* – 2016. – №271 (1). – P. 114-126.
80. *Labunets, I.* Immune-neuroendocrine interactions involving thymus and pineal gland in stem cell therapy of age-related diseases [Text] / I. Labunets // *Immunol End Met Agents Med Chem.* – 2015. – №15. – P. 101-120.
81. *Linkova, N. S.* Characteristics of the pineal gland and thymus relationship in aging [Text] / N.S. Linkova, V.O. Poliakova, I.M. Kvetnoi, A.V. Trofimov, N.N. Sevostianova // *Adv Gerontol.* – 2011. – №24. – P. 38-42.
82. *Macrae, C.F.* New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures [Text] /C.F. Macrae, I.J. Bruno, J.A. Chisholm, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. Streek, P.A. Wood //J. Appl. Crystallogr. –2008. – №41. – P. 466-470.
83. *Mocchegiani, E.* Is there a possible single mediator in modulating neuroendocrine-thymus interaction in ageing [Text] / E. Mocchegiani, M.

- Malavolta, L. Costarelli, R. Giacconi, F. Piacenza, F. Lattanzio, A. Basso // *Curr Aging Sci.* – 2013. – Vol.6. – P. 99–107.
84. S. F. .I.Ohigashi The role of thymic epithelium in thymus development and age-related thymic involution // *The Journal of Medical Investigation* Vol. 71 2024. P.29-39
85. *Donald B. Palmer* The effect of age on thymic function // *Front. Immunol.*, Volume 4 – 2013
86. *Piquero-Casals, J.* Non-Pharmacological Treatment for Facial Seborrheic Topical Dermatitis [Text] /J. Piquero-Casals, D. Hexsel, J. Francisco Mir-Bonafé, E. Rozas-Muñoz, //*Dermatol. Ther.* – 2019. – №9. – P. 469-477.
87. *Premlata, S.* Synthesis and Antibacterial Activity of Zn (II) Complexes with 2-substituted Benzothiazoles and Amino Acids [Text] /S.Premlata, G.Verma, //*J. Chem. Pharm. Res.* –2012. – №4. –P. 1327-1331.
88. *Qi, Q.* Mechanisms shaping the naive T cell repertoire in the elderly - thymic involution or peripheral homeostatic proliferation [Text] / Q. Qi, DW. Zhang, CM. Weyand, JJ Goronzy // *Exp Gerontol.* – 2014. – №54. – P. 71-74.
89. *Rajan, T.* Bidirectional communication between the neuroendocrine system and the immune system [Text] / T. Rajan, S. Privanka, H.P. Ann Neurosci // *Relevance to health and diseases.* – 2012. – №19. – P. 40-46.
90. *Savino, W.* Hormonal control of T-cell development in health and disease [Text] / W. Savino, D.A. Mendes-da-Cruz, A. Lepletier, M. Dardenne // *Nat Rev Endocrinol.* – 2016. – №12 (2). – P. 77-89.
91. *Silva, A. B.* Evidence of conserved neuroendocrine interactions in the thymus: Intrathymic expression of neuropeptides in mammalian and non-mammalian vertebrates [Text] / A.B. Silva, D.B. Palmer // *Neuro-immunomodulation.* – 2011. – №18. – P. 264-270.
92. *Sim T.C.* Aging and Immunity: Challenges, Insights and Breakthrough Solutions // *Journal of Medicine, UST* 2025, 9, 1; p.1665-1679

93. *Su, S.* Effects of GnRH immunization on the reproductive axis and thymulin [Text] / S. Su, X. Sun, X. Zhou, F. Fang, Y. Li. // J Endocrinol. – 2015. – №226. – P. 93-102.
94. *Takeuchi, Y.* Roles of regulatory T cells in cancer immunity [Text] / Y. Takeuchi, H. Nishikawa // Int Immunol. – 2016. – №28 (8). – P. 401-409.
95. *Talabér, G.* Extra-adrenal glucocorticoid synthesis: Immune regulation and aspects on local organ homeostasis [Text] / G. Talaber, M. Jondal, S. Okret // Mol Cell Endocrinol. – 2013. – №380. – P. 89-98.
96. *Talaber, G.* ACTH controls thymocyte homeostasis independent of glucocorticoids [Text] / G. Talaber, J.P. Tuckerman, S. Okret // FASEB J. – 2015. – №29. – P. 2526–2534.
97. *Tan, D. Y.* Progress in prolactin receptor research Peng [Text] / D.Y. Tan, X.P. Sheng // Li Ke Xue Jin Zhan. – 2012. – №43. – P. 17-23.
98. *Tan, J.* Clinical efficacy of thymosin with cisplatin in the treatment of malignant pleural effusion [Text] / J. Tan, H. Yu, W. Xiong // China Foreign Med Treat. – 2013. – №32 (23). – P. 105-107.
99. *Rachel T., Weikan Wang, Dong-Ming Su.* Contributions of Age-Related Thymic Involution to Immunosenescence and Inflammaging // Immunity & Ageing. -2020. – Vol.17(2). – P.1-17.
100. *R.Thomas, Dong-Ming Su* Age-Related Thymic Atrophy: Mechanisms and Outcomes // Thymus. Edited by Nima Rezaei 2019
101. *R. Thomas, W.Wang, Dong-Ming Su* Contributions of Age-Related Thymic Involution to Immunosenescence and Inflammaging // Immunity & Ageing (2020) 17:2
102. *Trzaskowski, B.* A theoretical study of zinc (II) interactions with amino acid models and peptide fragments [Text] /B. Trzaskowski, L. Adamowicz, P.A. Deymier // Inorg. Chem. – 2008. – №13. – P. 133-137.
103. *Turner, M.J.*Crystal Explorer 17[Text] /M.J. Turner, J.J. McKinnon, S.K. Wolff, D.J. Grimwood, P.R. Spackman, D. Jayatilaka, M.A. Spackman,

- University of Western Australia. 2017. Available online: Analysis. Cryst Eng Comm. – 2009. – №11. – P. 19-32.
104. *Van der Weerd, K.* Endocrine regulation of T-cell development and peripheral T-cell maturation: Scholastic allowance [Text] / K. Van der Weerd – Doctor Theses, Erasmus Universitat: «Rotterdam», 2013. – 213 p.
 105. *Vuppalanchi, R.* Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management [Text] / R. Vuppalanchi, N. Chalasani // *Hepatology*. – 2009. – №49. – P. 306-317.
 106. *Wang, Z.* Effects of thymes peptide combined with oxaliplatin on clinical efficacy, serum inflammatory factors and T lymphocyte in patients with malignant pleural effusion of lung cancer [Text] / Z. Wang, L. Fang, M. Jiang, X. Yi // *North Sichuan Med Coll*. – 2018.– №33 (1). – P. 94-104.
 107. *Williams, J. E.* Rejuvenate Your Thymus Gland. A healthy thymus enhances immunity to beat infections, prevent cancer, and extend lifespan [Text] / J.E. Williams // *Ann NY Acad Sci*. – 2012. – №12 (61). – P. 88-93.
 108. *Williams, J. E.* Rejuvenate Your Thymus Gland. A healthy thymus enhances immunity to beat infections, prevent cancer, and extend lifespan [Text] / J.E. Williams // *Ann NY Acad Sci*. – 2012. – №12 (61). – P. 88-93.
 109. *Wilson, R.B.* Structural characterization of bis (L-methionato) zinc (II), Zn (L-met) 2. Inorg [Text] /R.B. Wilson, P. Meester, D.J. Hodgson // *Chem*. –1977. – №16. –P. 1498-1502.
 110. *Wu, D.C.* Pseudomonas skin infection: Clinical features, epidemiology, and management [Text] /D.C. Wu, W.W. Chan, A.I. Metelitsa, L. Fiorillo, A.N. Lin // *Am. J. Clin. Dermatol.*–2011. – №12. –P. 157-169.
 111. *Wu, Z.* Clinical efficacy of thyroxin with cisplatin in malignant pleural effusion [Text] / Z. Wu // *J. Chin Clin Rational Drug Use*. – 2012. – №5 (35). – P. 86-86.
 112. *Yang, H.* Systemic transplantation of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells-educated T regulatory cells improved the impaired

- cognition in AbetaPPswe [Text] / H. Yang, Z. Xie, L. Wei, J. Bi // PS1dE9 transgenic mice PLoS One. – 2013. – №8 (7). – P. 69-29.
113. *Yang, M.* Clinical observation of oxaliplatin combined with thymosin in the treatment of lung cancer with malignant pleural effusion [Text] / M. Yang, Z. Ren // China Pharm. – 2016. – №27 (27). – P. 3767-3770.
114. *Ying, Y.* Therapeutic effect of oxaliplatin combined with thyroxin in treatment of lung cancer complicated with malignant pleural effusion [Text] / Y. Ying, J. Chin Biochem Pharm. – 2017. – №37 (12). – P. 68-69.
115. *Yoon, D. W.* Predictors of survival in patients who underwent video-assisted thoracic surgery talc pleurodesis for malignant pleural effusion [Text] / DW. Yoon, JH. Cho, YS. Choi, J. Kim, HK. Kim, JI. Zo, YM. Shim // Thorac Cancer. – 2016. – №7(4). – P. 393-398.
116. *Yu P-C, Liu D, Han Z-X, Liang F, Hao C-Y, Lei Y-T, Guo C-R, Wang W-H, Li X-H, Yang X-N, Li C-Z, Yu Y and Fan Y-Z ()* Thymopentin Mediated Inhibition of Cancer Stem Cell Stemness Enhances the Cytotoxic Effect of Oxaliplatin on Colon Cancer Cells. *Front. Pharmacol.* 2022. 13:779715. doi: 10.3389/fphar.2022.779715
117. *Yu, G.* Clinical efficacy of thymic peptide with oxaliplatin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer [Text] / G. Yu // China rural 2023
118. *Yu, H.T.* T cell senescence and cardiovascular diseases [Text] / H.T. Yu, S. Park, E.C. Shin, W.W. Lee // Clin Exp Med. – 2016. – №16 (3). – P. 257-263
119. *Zenaro, E.* The blood-brain barrier in Alzheimer's disease [Text] / E. Zenaro, G. Piacentino, G. Constantin // Neurobiol Dis. – 2017. – №107. – P. 41-56.
120. *Alkanifa E, N.F.FI-Ghraiyyah, J.Odun et al.* Blood brain barrier breakdown Alzheimer disease: mechanism and targeted strategies // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol.24. – P.16288-16320.
121. *Zeng, F. L.* Clinical efficacy and safety of synthetic thymic peptides with chemotherapy for non-small cell lung cancer in China [Text] / F.L. Zeng, Z. Xiao, CQ. Wang, Y. Jiang, JL. Shan, SS. Hu, XR. Huang, YH. Tang, XS.

- Yao, T. Zhang // A systematic review and meta-analysis of 27 randomized controlled trials following the PRISMA guidelines. *Int Immunopharmacol.* – 2019. – №75. – P. 105-747.
122. *Fen-Lian Zeng, Zheng Xiao, Cheng-Qiong Wang, Yuan Jiang, Jing-Li Shan, Shan-Shan Hu, Xiao-Rong Huang, Yu-Hong Tang, Xing-Sheng Yao, Tao Zhang, Xian-Tao Zeng, Ji-Hong Feng, Xue Xiao* Clinical efficacy and safety of synthetic thymic peptides with chemotherapy for non-small cell lung cancer in China: A systematic review and meta-analysis of 27 randomized controlled trials following the PRISMA guidelines // *International Immunopharmacology* Volume 75, October 2019, 105747
123. *Zhang, J.* Th17 cell-mediated neuro-inflammation is involved in neurodegeneration of abeta1-42-induced Alzheimer's disease model rats [Text] / *J. Zhang, K.F. Ke, Z. Liu, Y.H. Qiu, Y.P. Peng* // *PLoS One.* – 2013. – №8 (10). – P. 75-86.
124. *Zhang, X.* Clinical study of cisplatin and thymopentin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer by intrapleural infusion [Text] / *X. Zhang, Y, Chen* // *Chin J Pract Med.* – 2012. – №39 (14). – P. 84-85.
125. *Zhao, J.* Curative effect of thymes peptide combined with lobaplatin in patients with malignant pleural effusion of lung cancer and effect on the serum inammatory factor and T lymphocytes [Text] / *J. Zhao* // *Systems Med.* – 2018. – №3 (10). – P. 121-123.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

I. Учебные пособия, рекомендованные и опубликованные ГОУ

«Бохтарский государственный университет имени Носира Хусрава»

- [1-А]. *Бобиев, F.M.* Атлас (маҷмӯи зарраҳои хурдтарин дар дурдаи пешоб) [Матн] / *F.M. Бобиев, Ф.Ф. Раҷабов.* – Душанбе: «Ирфон», 2020. – 146 с.
- [2-А]. *Болтаев, М. А.* Практикуми химияи биологӣ [Матн] / *М.А. Болтаев, У.А. Нуров, Б.А. Гафуров, Ф.Ф. Раҷабов.* – Бохтар: ҚДММ «Матбаа» 2019. – 176 с.

- [3-А]. *Болтаев, М.А.* Химияи биологӣ. Витаминҳо ва дигар пайвастаҳои фаъоли биологӣ. (қисмӣ 2). [Матн] / М.А. Болтаев, **Ф.Ф. Рачабов**, У.А. Нуров. – Қўрғонтеппа: ҶДММ «Матбаа», 2013. – 148 с.
- [4-А]. *Болтаев, М.А.* Химияи биологӣ. Витаминҳо ва дигар пайвастаҳои фаъоли биологӣ. (қисмӣ 1). [Матн] / М.А. Болтаев, **Ф.Ф. Рачабов**, У.А. Нуров. – Қўрғонтеппа: ҶДММ «Матбаа», 2012. – 112 с.

II. Статии, опубликованные в изданиях ведущих рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Президенте Республики Таджикистан

- [5-А]. *Раджабов, Ф.Ф.* Комплексы серебра с дипептидами и трипептидами [Текст] / Ф.Ф. Раджабов, Г.М. Бобизода // Вестник Дангаринского государственного университета. – 2024. – №4(30). – С. 102-113. – ISSN 2410-4221.
- [6-А]. *Бобизода, Г.М.* Результаты применения комплексов металлов при терапии воспалительных глазных заболеваний [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов**, М. Кодиров // Журнал Наука и инновации. – 2024. – №1. – С. 72-75-161. – ISSN: 2312-3648.
- [7-А]. *Раджабов, Ф.Ф.* Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят [Текст] / Ф.Ф. Раджабов // Вестник Бохтарского государственного университета имени Носира Хусрава. – 2021. – №2. – С. 83-87. – ISSN: 2663-5534.
- [8-А]. *Бобизода, Г. М.* Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность лечения телят при диарее [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Вестник Бохтарского государственного университета имени Носира Хусрава. – 2021. – №2. – С. 65-69. – ISSN: 2663-5534.
- [9-А]. *Раджабов, Ф.Ф.* Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на биохимические показатели крови лабораторных животных // Наука и инновация. – 2021. – №1. – С. 30-36.

- [10-А]. **Раджабов, Ф.Ф.** Терапевтические свойства комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесовирусной инфекции крупного рогатого скота [Текст] / Ф.Ф. Раджабов // Журнал Наука и инновации. – 2020. – №1. – С. 156-161. – ISSN: 2312-3648.
- [11-А]. **Бобизода, Г.М.** Изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты арганина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Известия Академии наук Республики Таджикистан. – 2019. – №1 (204). – С. 69-76. – ISSN: 0002-3477.
- [12-А]. **Раджабов, Ф. Ф.** Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите [Текст] / Ф.Ф. Раджабов, К.И. Мирazorов, Г.М. Бобизода // Вестник Таджикского национального университета. – 2016. – №1/4 (216). – С. 265-268. – ISSN: 2413-452X.
- [13-А]. **Раджабов, Ф.Ф.** Влияния тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите [Текст] / Ф.Ф. Раджабов, А.Н. Шахматов, Г.М. Бобиев, Б. Худойдодов // Вестник Педагогического университета. – 2015. – №2 (63-1). – С. 38-41. – ISSN: 2219-5408.

III. Научные работы и статьи, опубликованные в других журналах и изданиях:

- [14-А]. **Раджабов, Ф. Ф.** Изменение биохимических показателей крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите под действием тимоцина. [Текст] / Ф.Ф. Раджабов, А.Н. Шахматов, Б. Худойдодов // Вестник Института последиplomного образования в сфере здравоохранения. – 2015. – №3. – С. – 51-54. – ISSN: 2307-6461.
- [15-А]. **Касымов, О. И.** Эффективность применения тимоцина при псориазе [Текст] / О.И. Касымов, **Ф.Ф. Раджабов**, А.Н. Шахматов, Г.М. Бобиев

// Научно-практический журнал Таджикского института следипломной подготовки медицинских-кадров. – 2014. – №1. – С. – 18-23. – ISSN: 2307-6461.

IV. Список работ в материалах международных конференций

[16-А]. *Бобизода, Г. М.* Терапевтические свойства комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Сборник статей II международной научно-практической конференции на тему «Современные проблемы химии, применение и их перспективы», посвященная 60-летию кафедры органической химии и памяти д.х.н., профессора Халикова Ширинбека Халиковича. Душанбе. – 2021. – С. 303-307.

[17-А]. *Бобизода, Г. М.* Изучение токсических и фармакологических препаратов при конъюнктивите крупного рогатого скота [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Сборник научных статей по итогам национальной научно-практической конференции.«Научное пространство России: генезис и трансформация в условиях реализации целей устойчивого развития», Санкт-Петербург. Центр системного анализа. – 2020. – С. 10-12.

[18-А].*Бобизода, Г. М.* Терапевтические свойства при лечении герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Международный научно-практический журнал «VIII – глобальная наука и инновации 2020: Центральная Азия», Нур-Султан. Казахстан. – 2020. – №3(1). – С. 102-103.

V. Список работ в материалах республиканских конференций

[19-А]. *Бобизода, Г. М.* Определение оптимальных условий экстракции и качественный анализ биологических веществ в мяте перечной [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Материалы конференции XXXI ежегодная научно-практическая конференция «Единство науки

и образования как инструмент повышения качества медицинской помощи». Душанбе. – 14 ноября 2025. – С. 264-266.

VI. Патенты

Бобизода Г.М., Раджабов Ф.Ф. Способ лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота у телят. Малый патент Республики Таджикистан №1310. Зарегистрировано 28 октября 2022 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ

<p>ҶУМҲУРИИ ТОҶИКИСТОН</p>		<p>ИДОРАИ ПАТЕНТӢ</p>
<p>НАХУСТПАТЕНТ</p>		
<p>№ ТҶ 1310</p>		
<p>БА ИХТИРОИ</p>		
<p><i>Тарзи табобати ринотрахеити сироятии чорвои калони шохдор дар гусолаҳо</i></p>		
<p>Дорандаи нахустпатент</p>	<p>Бобизода Ғ.М., Раҷабов Ф.Ф.</p>	
<p>Сарзамин</p>	<p>Ҷумҳурии Тоҷикистон</p>	
<p>Муаллиф(он)</p>	<p>Бобизода Ғ.М., Раҷабов Ф.Ф.</p>	
<p>Аввалияти ихтироъ</p>	<p>19.11.2021</p>	
<p>Таърихи рузи пешниҳоди ариза</p>	<p>19.11.2021</p>	
<p>Аризаи</p>	<p>№ 2101606</p>	
<p>Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои</p>	<p>Ҷумҳурии Тоҷикистон 28 октябри с. 2022 ба кайд гирифта шуд</p>	
<p>Нахустпатент</p>	<p>эътибор дорад аз 19 ноябри с. 2021 то 19 ноябри с. 2031</p>	
	<p>ДИРЕКТОР</p>	 <p>Исмоилзода М.</p>

РЕСПУБЛИКА ТАДЖИКИСТАН

ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

МАЛЫЙ ПАТЕНТ

№ TJ 1310

на изобретение

Способ лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота у телят

Патентообладатель Бобизода Г.М., Раджабов Ф.Ф.

Страна Республика Таджикистан

Автор (ы) Бобизода Г.М., Раджабов Ф.Ф.

Приоритет изобретения 19.11.2021

Дата подачи заявки 19.11.2021

Заявление № 2101606

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан

28 октября 2022

Малый патент действителен с 19 ноября 2021 г. по 19 ноября 2031 г.



ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ПАТЕНТӢ

ШАҲОДАТНОМА

Шахрванд Рачабов Ф.Ф.

муаллифи ихтирои *Тарзи табобати ринотрахеити сироятии чорвои калони
шоҳдор дар тусолаҳо*

Ба ихтироъ
нахустпатенти № ТҶ 1310 дода шудааст.

Дорандаи
нахустпатент Бобизода Ғ.М., Рачабов Ф.Ф.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон
Ҳаммуаллиф(он) Бобизода Ғ.М.

Аввалияти ихтироъ 19.11.2021

Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 19.11.2021

Аризаи № 2101606

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои Ҷумҳурии Тоҷикистон

28 октябри с. 2022 ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент

этибор дорад аз 19 ноябри с. 2021 то 19 ноябри 2031 с.

Ин шаҳодатнома ҳангоми амали гардонидани ҳукуку
имтиёзҳое, ки барои муаллифони ихтироот бо конунгузории
ҷорӣ муқаррар гардидаанд, нишон дода мешавад

ДИРЕКТОР

Исмоилзода М.



РЕСПУБЛИКА ТАДЖИКИСТАН
ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Гражданин **Раджабов Ф.Ф.**

Является автором изобретения **Способ лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота у телят**

На изобретение выдан малый патент №TJ **1310**

Патентообладатель **Бобизода Г.М., Раджабов Ф.Ф.**

Страна **Республика Таджикистан**

Соавторы **Бобизода Г.М.**

Приоритет изобретения **19.11.2021**

Дата подачи заявления **19.11.2021**

Заявление № **2101606**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан

28 октября 2022

Малый действителен с **19 ноября 2021** г. по **19 ноября 2031** г.
Патент

Настоящее удостоверение предъявляется при реализации прав и льгот, установленных действующим законодательством



ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ПАТЕНТӢ

ШАҲОДАТНОМА

Шахрванд Бобизода Ғ.М.

муаллифи ихтирои *Тарзи табобати ринотрахеити сироятии чорвои калони
шоҳдор дар гусолаҳо*

Ба ихтироъ
нахустпатенти № ТҶ 1310 дода шудааст.

Доранди
нахустпатент Бобизода Ғ.М., Раҷабов Ф.Ф.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон
Ҳаммуаллиф(он) Раҷабов Ф.Ф.

Аввалияти ихтироъ 19.11.2021

Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 19.11.2021

Аризаи № 2101606

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои Ҷумҳурии Тоҷикистон

28 октябри с. 2022 ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент

этибор дорад аз 19 ноябри с. 2021 то 19 ноябри 2031 с.

Ин шаҳодатнома ҳангоми амали гардонидани ҳукуку
имтиёзҳои, ки барои муаллифони ихтироот бо қонунгузори
ҷорӣ муқаррар гардидаанд, нишон дода мешавад

ДИРЕКТОР

Исмоилзода М.

