

О.В. Долга, Н.Х. Погорєла, О.С. Богорад-Кобельська, Н.М. Жолобак, С.О. Заноза, С.А. Ляхов, І.С. Магура

Вплив похідних дифенілу на електрофоретичну рухомість Т-лімфоцитів селезінки миші

Методом клітинного електрофорезу досліджували ранні зміни електрофоретичної рухомості (ЕФР) Т-лімфоцитів селезінки миші, індуковані структурними аналогами аміксину дигідрохлоридом 4,4'-біс-[2-(діетиламіно)етокси]дифенілу (сполука 1) та дигідрохлоридом 2-метоксикарбоніл-4,4'-біс-[2-(діетиламіно)етокси]дифенілу (сполука 2). В інтервалі 0-2 год усі сполуки дозозалежно збільшували абсолютне значення ЕФР порівняно з контролем. Ці зміни були однотипними та відрізнялися лише кількісно. В інтервалі 2-4 год за наявності аміксину або сполуки 1 абсолютне значення ЕФР додатково збільшувалося, а за наявності сполуки 2, навпаки, зменшувалося. Показано, що протилежна спрямованість ефектів указаних сполук може бути обумовлена тим, що аміксин та сполука 1 індукують, а сполука 2 не індукує продукцію інтерферону в Т-лімфоцитах in vitro. Отримані результати важливі для розуміння механізмів імуномодулювального ефекту аміксину та його структурних аналогів.

Ключові слова: аміксин, похідні дифенілу, індуктори інтерферону, Т-лімфоцити, електрофоретична рухомість.

ВСТУП

Профілактика та лікування вірусних захворювань є одним з пріоритетних напрямів медицини. Оскільки імунна система відіграє фундаментальну роль в антивірусному та протипухлинному захисті організму, пошук сполук, що мають імуномодулювальні властивості, є актуальним завданням сучасної фармакології. Імуномодулятори, впливаючи на процеси диференціювання, міграції, кооперації імунокомпетентних клітин, а також на продукцію цитокінів згаданими клітинами, нормалізують імунну відповідь. Особливий інтерес представляють сполуки, що індукують ендогенну продукцію інтерферонів (ІФН), оскільки система ІФН залучена до реалізації антивірусної, протипухлинної та імунної відповіді [5, 19-24]. Використання інтерферогенів у клінічній практиці є не лише повноцінною заміною екзогенних ІФН, але і має ряд переваг. Зокрема, ці сполуки не мають антигенності та можуть

використовуватися впродовж тривалого часу. Вони не викликають надпродукції ІФН, оскільки його синтез збалансований і контролюється організмом. Одноразове введення індуктора забезпечує тривалу (впродовж декількох діб) циркуляцію в організмі ІФН в терапевтичній концентрації [5].

Активацію генів ІФН можна викликати різними природними та синтетичними індукторами. Серед останніх високо ефективними інтерферогенами є планарні ароматичні або гетероароматичні сполуки, які здатні до інтеркаляції між комплементарними парами азотистих основ ДНК, зокрема 2,7-біс-[2-(діетиламіно)етокси]флуорен-9-он (тилорон) [22, 28]. Ця сполука має антивірусну, інтерфероніндукувальну, імунотропну, протипухлинну і протизапальну активність [30]. Нещодавно з'явилися повідомлення про її нейротропні властивості. Показано, що тилорон є селективним агоністом $\alpha 7$ нікотинового ацетілхолінового рецептора [21], а також модулює

© О.В. Долга, Н.Х. Погорєла, О.С. Богорад-Кобельська, Н.М. Жолобак, С.О. Заноза, С.А. Ляхов, І.С. Магура

експресію NF- κ B-індукованих генів у клітинах центральної нервової системи [34].

В Україні тилорон був синтезований за розробленим Богатським і співробітниками методом [1] та впроваджений в медичну практику як препарат Аміксин ІС (ВАТ “ІнтерХім”, Україна). Цей препарат успішно використовується при лікуванні інфекційних захворювань вірусної етіології [6-9]. Проте є публікації про деякі побічні ефекти при тривалому застосуванні надвисоких доз аміксину [20, 25, 33]. В рамках вивчення механізму дії препарату отримано більш активні та менш токсичні його похідні та/або аналоги. Наприклад, *in vitro* показана антивірусна та імунomodulatory активність 9-флуоренон-4-карбоксамідів [15], β -*O*-глюкозидів 9-флуоренон-2-карбогідроксиестерів [16], 2(4)-заміщених-9-флуоренонів та їх *O*-глюкозидів [17]. В експериментах *in vivo* продемонстровано, що аналоги аміксину, які містять у своїй структурі дифенільний фрагмент замість флуоренонового, безпечніші та індукують вищий титр ІФН, порівняно із аміксином [12, 13].

Аміксин не лише запускає в клітині цілий ряд біохімічних реакцій, але й змінює фізико-хімічні властивості плазматичної мембрани, в тому числі її поверхневий заряд [23], який, відповідно до сучасних уявлень, є одним з найважливіших показників функціональної активності клітини [26]. У зв'язку з цим вивчення механізмів ендогенної і фармакологічної регуляції величини поверхневого заряду є актуальною проблемою. Особливої уваги заслуговує дослідження модулювального впливу інтерферогенів на поверхневий заряд плазматичної мембрани імункомпетентних клітин, оскільки саме на рівні мембрани здійснюється ряд молекулярних процесів, з яких складається імунна реакція [10]. Індукована інтерферогенами зміна сумарного заряду поверхні вказаних клітин може впливати на їх взаємодію в процесі презентації антигену, і, отже, мати важливе значення для регуляції імунної відповіді.

Мета нашої роботи - дослідити вплив структурних аналогів аміксину – похідних дифенілу – на електрофоретичну рухомість (ЕФР) Т-лімфоцитів селезінки миші *in vitro*.

МЕТОДИКА

Реактиви. В роботі використовували дигідрохлорид 2,7-*bis*-[2-(діетиламіно)етокси]флуорен-9-ону (аміксин) [1], а також його структурні аналоги дигідрохлорид 4,4'-*bis*-[2-(діетиламіно)етокси]дифенілу (далі сполука 1) та дигідрохлорид 2-метоксикарбоніл-4,4'-*bis*-[2-(діетиламіно)етокси]дифенілу (далі сполука 2) [12], синтезовані у Фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України. Для приготування базових розчинів вказані сполуки розчиняли в дистильованій воді до кінцевої концентрації 2 мг/мл

Виділення лімфоцитів. Лімфоцити отримували із селезінки мишей лінії СВА 8-тижневого віку (самці) [11] і розділяли на колонках з нейлоною ватою [14]. Кількість Т-лімфоцитів у збагаченій таким чином суспензії клітин була не менше ніж 80 % [4].

Обробка лімфоцитів аміксином або його структурними аналогами. Т-лімфоцити ($6,5 \cdot 10^5$ клітин/мл) інкубували за наявності аміксину або сполук 1, 2 у збалансованому сольовому розчині, що містив (ммоль/л): NaCl – 140,0, KCl – 2,5, CaCl₂ – 2,0, MgCl₂ – 1,0, тріс-НCl (рН 7,4) – 10,0, глюкоза – 5,0, впродовж вказаного часу при 37 °С. Для кожної концентрації (або експозиції) досліджених сполук готували 3 незалежні зразки. Кількість клітин з пошкодженою мембраною як в контролі, так і після інкубації з досліджуваними сполуками оцінювали за їхнім забарвленням трипановим синім методом світлової мікроскопії [11]. Після закінчення терміну інкубації лімфоцити осаджували центрифугуванням (10 хв, 400 г). Супернатант заморожували та зберігали при -25 °С.

Вимірювання електрофоретичної рухомості клітин. Осаджені лімфоцити двічі відмивали центрифугуванням (10 хв, 400 г) в розчині

такого складу (ммоль/л): $\text{KCl} - 2,5$, $\text{CaCl}_2 - 2,0$, тріс- $\text{HCl} - 10,0$ (рН 7,4), глюкоза – 280,0. ЕФР клітин визначали у тому самому розчині при 20 °С [32]. Серія експериментів включала 3 незалежні досліди, у кожному з яких вимірювали ЕФР не менше ніж 40 лімфоцитів.

Визначення титру індукованого ІФН. Активність ІФН оцінювали за результатами титрування зразків середовища, кондиціонованого Т-лімфоцитами, в культурі мишачих фібробластів L929 як описано раніше [18]. Як тест-вірус використовували вірус везикулярного стоматиту (штам Індіана). За одиницю активності ІФН приймали величину, обернену максимальному розведенню препарату, при якому спостерігали захист 50 % клітин від цитопатичної дії тест-вірусу.

Аналіз результатів. Статистичний аналіз експериментальних результатів проводили, використовуючи комп'ютерну програму Microsoft Excel та OriginPro 7.0. Розподіл значень ЕФР у наших експериментах був нормальним або близьким до нормального. Достовірність при оцінці істинного значення вимірюваної величини ЕФР становила 95 %. Результати представлені як середнє \pm помилка середнього. Для визначення достовірності відмінностей при порівнянні середніх значень використовували критерій t Стьюдента. Значення вважали достовірними при $P < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Методом клітинного електрофорезу вивчали ранні зміни ЕФР Т-лімфоцитів селезінки

миші, індуковані сполуками 1 та 2, які є структурними аналогами добре відомого індуктора ІФН аміксину, вибраного нами як препарат порівняння. Вказані сполуки відносяться до амфіфільних речовин і ефективно взаємодіють з поверхнею клітини. Відомо, що деякі амфіфільні речовини ушкоджують біологічні мембрани [31]. У зв'язку з цим у попередніх експериментах нами проведено порівняльне дослідження цитотоксичної дії аміксину та сполук 1, 2. Встановлено, що в інтервалі концентрацій 6–100 мкг/мл цитотоксичність залежить від структури сполуки і знижується у ряді аміксин > сполука 1 ~ сполука 2 (таблиця). Отримані результати свідчать про те, що похідні дифенілу менш цитотоксичні, ніж аміксин. У подальших експериментах використовували такі експозиції та концентрації досліджуваних сполук, які викликали ушкодження мембрани не більше, ніж у 10 % клітин.

Результати вимірювання ЕФР Т-лімфоцитів в перші години дії аміксину та похідних дифенілу 1, 2 (50 мкг/мл) представлені на рис. 1. Для всіх досліджуваних сполук абсолютне значення ЕФР достовірно ($P < 0,001$) збільшувалося порівняно з контролем та до кінця першої години від початку їх дії сягало стаціонарного рівня, а потім практично не змінювалося протягом наступної години. Порівняльний аналіз результатів дає змогу зробити висновок, що за ефективністю збільшення ЕФР лімфоцитів в інтервалі 0 – 2 год досліджувані сполуки можуть бути розташовані в такій послідовності: сполука 2 >

Цитотоксичність аміксину та похідних дифенілу (n = 3)

Сполука	Приріст кількості лімфоцитів з пошкодженою мембраною порівняно з контролем, %			
	концентрація, мкг/мл			
	6	25	50	100
Аміксин	2,0	5,4	10,2	27,9
Сполука 1	-	1,5	4,0	7,0
Сполука 2	-	1,0	3,7	6,0

Примітка: Т-лімфоцити інкубували з різними концентраціями аміксину або сполук 1 чи 2 впродовж 4 год при 37 °С.

сполука 1 ~ аміксин. Через 2 год від початку дії аміксіну або сполуки 1 абсолютне значення ЕФР лімфоцитів знову збільшувалося, причому при однаковій концентрації ефект аміксіну був більшим, ніж ефект сполуки 1. Навпаки, за тих самих умов ЕФР лімфоцитів у присутності сполуки 2 зменшувалася.

Індуковане досліджуваними сполуками збільшення ЕФР Т-лімфоцитів упродовж перших двох годин залежало від концентрації сполук в інтервалі 6–100 мкг/мл (див. рис. 2).

ЕФР клітин залежить від сумарного поверхневого заряду їх плазматичної мембрани. Тому на підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що аміксин і сполуки 1, 2 збільшують сумарний негативний поверхневий заряд Т-лімфоцитів. Цей ефект може мати важливе значення для міжклітинної взаємодії при реалізації імунної відповіді. Крім того, величина поверхневого заряду впливає на примембранну концентрацію іонів, дифузю, пасивний та активний транспорт [27], активність зв'язаних із мембраною рецепторів,

ферментів [2, 26] та потенціалкерованих іонних каналів [29]. Отримані експериментальні результати важливі для розуміння механізмів імуномодулювального ефекту аміксіну та його структурних аналогів.

Результати наших експериментів свідчать про те, що упродовж перших двох годин зміни ЕФР Т-лімфоцитів, індуковані аміксіном або похідними дифенілу 1, 2, були однотипними та відрізнялися лише кількісно. Однакова спрямованість ефектів згаданих сполук у цьому інтервалі часу, найімовірніше, вказує на наявність подібних механізмів їх взаємодії з плазматичною мембраною. Через 4 год після початку дії зміни ЕФР, спричинені сполукою 2, були протилежні до тих, які спостерігались після впливу на клітини аміксіну чи сполуки 1.

При аналізі отриманих результатів необхідно враховувати, що величина поверхневого заряду клітини залежить від внутрішньоклітинних метаболічних процесів. Це ускладнює оцінку ролі окремих молекулярних механізмів в модифікації сумарного

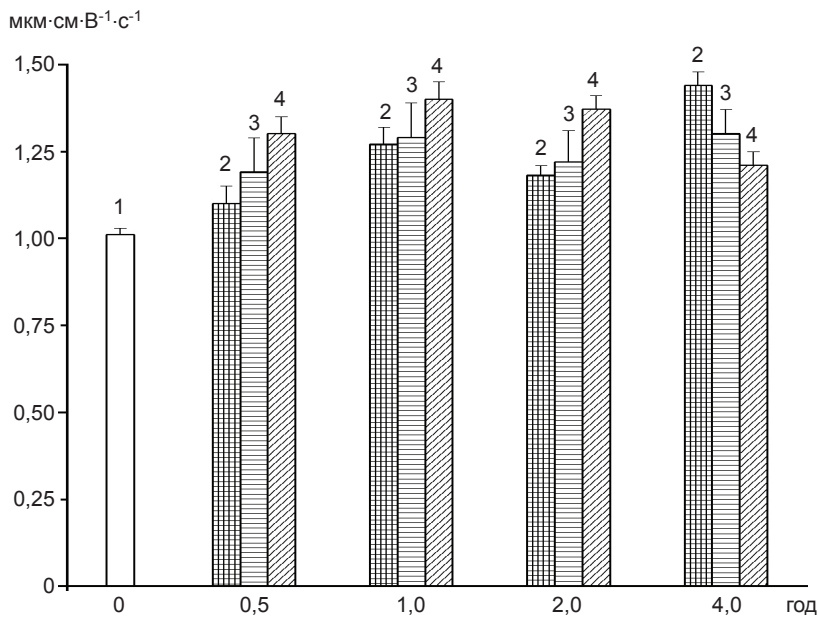


Рис. 1. Залежність електрофоретичної рухомості Т-лімфоцитів селезінки миші від тривалості дії досліджуваних сполук: 1 – контроль, 2 – аміксин, 3 – сполука 1, 4 – сполука 2. Т-лімфоцити інкубували за наявності вказаних сполук (50 мкг/мл) при 37 °С. $P < 0,001$ порівняно з контролем

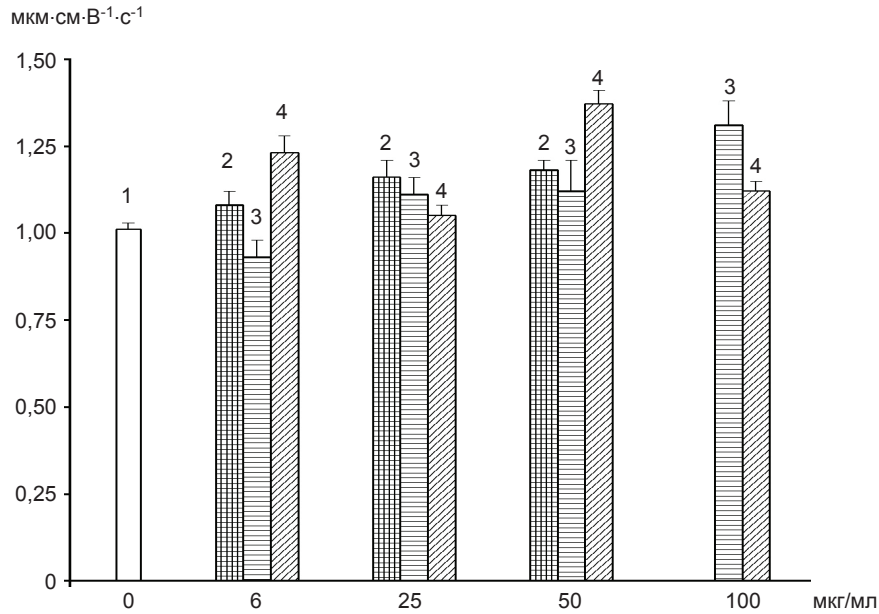


Рис. 2. Залежність електрофоретичної рухомості Т-лімфоцитів селезінки миші від концентрації досліджуваних сполук: 1 – контроль, 2 – аміксин, 3 – сполука 1, 4 – сполука 2. Т-лімфоцити інкубували за наявності вказаних сполук протягом 2 год при 37 °С. $P < 0,001$ порівняно з контролем.

поверхневого заряду. Відомо, що ІФН дозозалежно збільшує ЕФР Т-лімфоцитів селезінки миші [3]. У початковий період часу дії індуктора ІФН, коли концентрація індукваного ІФН в інкубаційному середовищі незначна, виявлене в наших експериментах збільшення ЕФР є ранньою відповіддю клітини на вплив індуктора. Зі зростанням концентрації ІФН в середовищі, додаткове збільшення ЕФР може бути зумовлене власне ним. У відповідь на індукцію різними за своєю хімічною природою сполуками продукція ІФН Т-лімфоцитами може бути різною і, відповідно, зміна ЕФР клітин під впливом індукваного ІФН також відрізнятиметься.

Враховуючи вищезазначене, ми припустили, що протилежна спрямованість ефектів сполук 1 та 2 у інтервалі 2-4 год зумовлена тим, що сполука 1 індукує, а сполука 2 не індукує синтез ІФН в Т-лімфоцитах *in vitro*. Для перевірки цього припущення визначали вміст ІФН у середовищі, в якому попередньо інкубували Т-лімфоцити з досліджуваними сполуками:

Т-лімфоцити

Титр інтерферонів в середовищі, кондиціонованому лімфоцитами, \log_2 (розведення⁻¹)

нативні (контроль)	1,0
оброблені аміксином	
6 мкг/мл	4,5
50 мкг/мл	5,0
оброблені сполукою 1	
6 мкг/мл	4,0
50 мкг/мл	8,0
оброблені сполукою 2	
6 мкг/мл	<1
50 мкг/мл	<1

Т-лімфоцити інкубували за наявності вказаної концентрації аміксіну або сполук 1 чи 2 впродовж 2 год при 37 °С (n = 3).

Слід відмітити, що аміксин та сполука 1 має, а сполука 2 не має інтерфероніндукувальної активності. Продукція ІФН Т-лімфоцитами, обробленими аміксином чи сполукою 1 у концентрації 6 мкг/мл, практично не відрі-

няється, проте значно нижча цитотоксичність є перевагою сполуки 1, завдяки чому вона може розглядатися як новий перспективний індуктор ІФН.

Нами не виявлено залежності між збільшенням ЕФР та інтерферогенною активністю досліджуваних сполук. Присутність флуоренонового фрагменту в молекулі аміксину чи дифенільного у сполуці 1 практично не впливає на їх інтерферогенні властивості, тоді як додаткове введення метоксикарбонільної групи в положення 2 дифенільного фрагменту практично унеможливує вірогідність реалізації планарної структури для сполуки 2 та супроводжується втратою здатності викликати продукцію ІФН в Т-лімфоцитах *in vitro*. Подальше вивчення взаємодії індукторів ІФН з плазматичною мембраною представляється надзвичайно важливим не лише для розуміння механізмів їх імуномодулювального ефекту, але й для впливу на ці процеси в організмі.

Е.В. Долгая, Н.Х. Погорелая, Е.С. Богорад-Кобельская, Н.М. Жолобак, С.О. Занога, С.А. Ляхов, И.С. Магура.

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ДИФЕНИЛА НА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКУЮ ПОДВИЖНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ СЕЛЕЗЕНКИ МЫШИ

Методом клеточного электрофореза исследовали ранние изменения электрофоретической подвижности (ЭФП) Т-лимфоцитов селезенки мыши, индуцированные структурными аналогами амиксина дигидрохлоридом 4,4'-бис-[2-(диэтиламино)этокси]дифенила (соединение 1) и дигидрохлоридом 2-метоксикарбонил-4,4'-бис-[2-(диэтиламино)этокси]дифенила (соединение 2). В интервале 0–2 ч все соединения дозозависимо увеличивали абсолютное значение ЭФП по сравнению с контролем. Эти изменения были однотипны, а различия носили только количественный характер. В интервале 2–4 ч в присутствии амиксина или соединения 1 абсолютное значение ЭФП вновь увеличивалось, а в присутствии соединения 2 - уменьшалось. Показано, что противоположная направленность эффектов указанных соединений обусловлена тем, что амиксин и соединение 1 индуцируют, а соединение 2 не индуцирует продукцию интерферона в Т-лимфоцитах *in vitro*. Полученные результаты важны для понимания механизмов иммуномодулирующего эффекта амиксина и его структурных аналогов.

Ключевые слова: амиксин, производные дифенила, индукторы интерферона, Т-лимфоциты, электрофоретическая подвижность.

O.V. Dolga, N.Kh. Pogorela, O.S. Bogorad-Kobelska, N.M. Zholobak, S.O. Zanoza, S.A. Lyakhov, I.S. Magura

EFFECTS OF DIPHENYL DERIVATIVES ON ELECTROPHORETIC MOBILITY OF MURINE T LYMPHOCYTES

The early changes of electrophoretic mobility (EPM) of murine T lymphocytes induced by structural analogues of amixine - dihydrochloride 4,4'-bis-[2(diethylamino)ethoxy]diphenyl (compound 1) and dihydrochloride 2-methoxycarbonyl-4,4'-bis-[2(diethylamino)ethoxy]diphenyl (compound 2) were studied by electrophoresis technique. During the interval 0-2 hours all compounds increased the absolute values of EPM in comparison with control. These changes were of the same kind - distinctions were quantitative. Amixine and compound 1 during the interval 2-4 hours additionally increased the EPM. The compound 2, on the contrary, decreased the EPM. It was shown that the opposite effects of the aforementioned compounds were caused by the fact that amixine and compound 1 induce, and compound 2 does not induce IFN production in T lymphocytes *in vitro*. The results of our experiments are important for understanding of the mechanisms of immunomodulating effect of amixine and its structural analogues.

Key words: amixine, diphenyl derivatives, interferon inducers, T lymphocytes, electrophoretic mobility.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

D.K. Zabolotny Institute of microbiology and virology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

O.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute National Academy of Sciences of Ukraine, Odesa

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Богатський О.В., Грень А.І., Литвинова Л.О., Лемпарт Г.В. Про синтез 2,7-бис-[2-(диетиламіно)етокси]-флуорен-9-ону // Доп. АН УРСР. Сер. Б. – 1976. – № 7. – С. 610–612.
2. Гринштейн С.В., Кост О.А. Структурно-функціональні особливості мембранних білків // Успехи біол. хімії. – 2001. – 41. – С. 77–104.
3. Долга О.В., Жолобак Н.М., Співак М.Я., Магура І.С. Вплив α/β -інтерферону на електрофоретичну рухомість Т-лімфоцитів миші // Фізіол. журн. – 2009. – 55, № 1. – С. 7–11.
4. Долгая Е.В., Крылова И.В., Рожманова О.М. Изменение электрофоретической подвижности Т-лимфоцитов мыши под влиянием конканавалина А // Биол. мембраны. – 1991. – 8, № 7. – С. 755–762.

5. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2005. – 368 с.
6. Ляхов С.А., Литвинова Л.А. Механизмы противовирусной активности Амиксина (обзор литературы) 1. Общая характеристика и индукция интерферона // Сучасні інфекції. – 2007. – № 4. – С. 99–105.
7. Ляхов С.А., Литвинова Л.А. Механизмы противовирусной активности Амиксина (обзор литературы) (Продолжение) // Там само. – 2008. – № 1. – С. 82–86.
8. Ляхов С.А., Литвинова Л.А. Механизмы противовирусной активности амиксина (обзор литературы) 2. Противовирусная активность и влияние на некоторые биохимические процессы // Там само. – 2008. – № 2. – С.112–116.
9. Ляхов С.А., Литвинова Л.А. Механизмы противовирусной активности амиксина (обзор литературы) 2. Противовирусная активность и влияние на некоторые биохимические процессы // Там само. – 2008. – № 3. – С. 89–95.
10. Петров Р.В., Атауллаханов Р.И. Биохимия мембран. Клеточные мембраны и иммунитет. – М.:Высш. школа, 1991. – 144 с.
11. Хант С. Выделение лимфоцитов и вспомогательных клеток. – В кн.: Лимфоциты. Методы / Ред. Дж. Клаус, пер. с англ. – М.: Мир, 1990. – С. 15–68.
12. Шай Д.С., Жолобак Н.М., Ляхов С.А., Мальцев Г.В., Фернандес де Ривас С.О., Литвинова Л.О., Андронаті С.А., Співак М.Я. Інтерферогенна активність аналогів аміксину і похідних дифенілу // Мікробіол. журн. – 2007. – **69**, № 5. – С. 59–64.
13. Шай Д.С., Жолобак Н.М., Співак М.Я. Стан системи інтерферону у мишей, оброблених аміксином та його аналогами // Імунологія та алергологія. – 2007. – № 1. – С. 22–23.
14. Эккерт Р. Разделение клеток иммунной системы. – В кн.: Иммунологические методы / Ред. Фримель Г., пер. с нем. – М.: Мир, 1987. – С. 226–253.
15. Alcaro S., Arena A., Di Bella R., Neri S., Ottana R., Ortuso F., Pavone B., Vigorita M.G. 9- fluorenon-4-carboxamides: synthesis, conformational analysis, anti-HSV-2, and immunomodulatory evaluation. Note II // ARKIVOC – 2004. – **5** – P. 334–348.
16. Alcaro S., Arena A., Di Bella R., Neri S., Ottana R., Ortuso F., Pavone B., Trincone A., Vigorita M.G. Biocatalysed synthesis of β -O-glucosides from 9-fluorenon-2-carbohydroxyesters. Part 3: IFN-inducing and anti-HSV-2 properties // Bioorganic & Med. Chem. – 2005. – **13**, № 10. – P. 3371–3378.
17. Arena A., Arena N., Ciurleo R., De Gregorio A., Maccari R., Ottana R., Pavone B., Tramice A., Trincone A., Vigorita M.G. 2/4-substituted-9-fluorenonones and their O-glucosides as potential immunomodulators and anti-herpes simplex virus-2 agents. Part 5 // Europ. J. Med. Chem. – 2008. – **43**, № 12. – P. 2656–2664.
18. Bogorad-Kobelska O.S., Zholobak N.M., Dolga O.V. Maltzev G.V., Lyakhov S.A., Andronati S.A., Spivak M.Ya. Diphenyl derivatives: cytotoxicity, antiviral and IFN-inducing activities in vitro // IJBM. – 2011. – **1**, №3. – P. 153–157.
19. Borden E.C., Sen G.C., Uze G., Silverman R.H., Ransohoff R.M., Foster G.R., Stark G.R. Interferons at age 50: past, current and future impact on biomedicine // Nature Rev. – 2007. – **6**, December. – P. 975–990.
20. Bredehorn T., Duncker G.I. Tilorone-induced functional changes in the rat retina // Klin. Monatsbl. Augenheilkd. – 2000. – **216**, № 4. – P. 219–222.
21. Briggs C.A., Schrimpf M.R., Anderson D.J., Gubbins E.J., Gronlien J.H., Hakerud M., Ween H., Thorin-Hagene K., Malysz J., Li J., Bunnelle W.H., Gopalakrishnan M., Meyer M.D. Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist properties of tilorone and related tricyclic analogues // Brit. J. Pharmacol. – 2008. – **153**, №5. – P. 1054–1061.
22. Chandra P. Tilorone hydrochloride: the drug profile // Top. Curr. Chem. – 1977. – **72**, № 1. – P. 125–148.
23. Dolga O.V., Pogorela N. Kh., Bogorad-Kobelska O.S., Andronati S.A., Magura I.S. Effect of amixine on electrophoretic mobility of murine T lymphocytes // Int. J. Physiol. Pathophysiol. – 2011. – **2**, № 4. – P. 355–360.
24. Feldmann M. Many cytokines are very useful therapeutic targets in disease // J. Clin. Invest. – 2008. – **118**, № 11. – P. 3533–3536.
25. Fischer J., Lüllmann H., Lüllmann-Rauch R. Drug-induced lysosomal storage of sulphated glycosaminoglycans // General. Pharmacol. The Vascular System. – 1996. – **7**, № 8. – P. 1317–1324.
26. Goldenberg N.M., Steinberg B.E. Surface charge: a key determinant of protein localization and function // Cancer Res. – 2010. – **70**, № 4. – P.1277–1280.
27. James A.M. Molecular aspects of biological surfaces // Chem. Soc. Rev. – 1979. – **8**, № 3. – P. 389–418.
28. Kruger R.F., Mayer G.D. Tilorone hydrochloride: an orally active antiviral agent // Science. – 1970. – **169**, № 951. – P.1213–1214.
29. Latorre R., Labarca P., Naranjo D. Surface charge effects on ion conduction in ion channels // Methods Enzymol. – 1992. – **207**. – P.471–501.
30. Levin R.H. Albrecht W.L. Tilorone and related bis-basic substituted polycyclic aromatic and heteroaromatic compounds // Prog. Med. Chem. – 1981. – № 18. – P. 135–190.
31. Maher P. Singer S.J. Structural changes in membranes produced by the binding of small amphiphilic molecules // Biochemistry. – 1984. – **23**, № 2. – P. 232–240.
32. Mironov S.L., Dolgaya E.V. Surface charge of mammalian neurones as revealed by microelectrophoresis // J. Memb. Biol. – 1985. – **86**, № 2. – P. 197–202.
33. Prokopek M. The tilorone-induced mucopolysaccharidosis in rats: Biochemical investigations // Biochem. Pharmacol. – 1991. – **42**, № 11. – P. 2187–2191.
34. Ratan R.R., Siddiq A., Aminova L., Langley B., McConoughey S., Karpisheva K., Lee H.H., Carmichael T., Kornblum H., Coppola G., Geschwind D.H., Hoke A., Smirnova N., Rink C., Roy S., Sen C., Beattie M.S., Hart

R.P., Grumet M., Sun D., Freeman R.S., Semenza G.L., Gazaryan I. Small molecule activation of adaptive gene expression: tilorone or its analogs are novel potent activa-

tors of hypoxia inducible factor-1 that provide prophylaxis against stroke and spinal cord injury // Ann. NY Acad. Sci. – 2008. – **1147** – P. 383–394.

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;
Ин-т мікробіології та вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України, Київ;
Фіз.-хім. ін-т ім. О.В. Богатського НАН України, Одеса
E-mail: dolgaya@biph.kiev.ua

Матеріал надійшов до редакції 23.10.2012