



К фармакодинамике производных флуорена – тилорона и ингината – на основе ингибирования N-ацетилтрансфераз и продукции цитокинов

В.Н. Каркищенко, М.С. Дуля, Д.В. Хвостов, Р.А. Агельдинов

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, Московская область

Контактная информация: Дуля Максим Сергеевич, mdulya@gmail.com

Получены экспериментальные данные о биологическом действии препаратов – производных флуорена – тилорона и ингината. Препараты выступают как эффективные ингибиторы N-ацетилтрансферазы (NAT) и оказывают иммуномодулирующее действие по продукции ИФН- γ и ФНО- α . Данные наблюдения могут быть использованы для поиска производных флуорена как перспективных средств в моделировании противовирусных молекул-кандидатов и иммуностимуляторов.

На основе полученных данных *in vitro* эксперимента по ферментативной активности установлено эффективное ингибирующее действие производных флуорена (тилорона и ингината) по ферменту N-ацетилтрансферазы NAT2 человека.

Для выбранных ингибиторов изучена концентрационная зависимость ферментативной активности и определено значение концентрации полумаксимального ингибирования IC_{50} .

Сущность действия производных флуорена заключается в ингибировании процессов ацетилирования через ферменты N-ацетилтрансфераз (NAT1, NAT2 и др.), а также посредством иммуномодулирующего воздействия на цитокиновый иммунный статус мышей.

Ключевые слова: N-ацетилтрансфераза, флуорен, тилорон, ингинат, ацетилирование, гуманизированная линия мышей NAT2hom, ингибирование, цитокины, интерфероны, фактор некроза опухолей.

Введение

Большинство лекарственных средств метаболизируются с участием ферментов I и II фазы биотрансформации и обладают как индуцирующими, так и ингибирующими свойствами [5]. Многие индукторы и ингибиторы II фазы биотрансформации проявляют канцерогенную активность, если их применять в высоких дозах и достаточно долго.

Ранее нами установлена ключевая роль ацетилирования в метаболизме ци-

тостатиков ряда цисплатина и производных флуорена [2].

Ингибирующее действие на ферментативные клеточные системы служит одним из основных выраженных проявлений воздействия лиганда на мишень. Так, например, среди широко применяемых в настоящее время средств с прямым противовирусным действием ингибиторами нейраминидазы являются занамивир и осельтамивир, а ингибиторами M2 белка выступает римантадин.

Помимо применения препаратов прямого противовирусного действия, большие перспективы в профилактике респираторных и других вирусных инфекций имеет использование индукторов интерферона (ИФН). Индукторы стимулируют выработку собственных ИФН, не обладающих антигенностью. При этом их синтез находится под контролем интерлейкинов и белков-репрессоров и не достигает уровня, способного оказать повреждающее действие на организм.

Важно, что при применении индукторов ИФН не наблюдается побочных эффектов, характерных для рекомбинантных ИФН. Способностью индуцировать синтез ИФН обладают разные по химической природе вещества, причем каждый индуктор стимулирует синтез ИФН в определенных клетках, имеющих соответствующие рецепторы. ИФН – это цитокины, которые играют важную роль в обеспечении естественной защиты организма от чужеродных антигенов, в т.ч. от вирусных инфекций. I тип – ИФН- α и - β – характеризуются выраженным противовирусным действием, обеспечивают противовирусную защиту неинфицированных клеток, сохраняя их устойчивость к инфицирующему агенту, препятствует размножению вирусов в инфицированных клетках [12].

ИФН- α продуцируется всеми ядерными клетками, лейкоцитами и лимфоцитами периферической крови (лейкоцитарный и лимфобластоидный ИФН соответственно). ИФН- β продуцируется преимущественно фибробластами (фибробластный). Индукторами образования ИФН I типа являются вирусы, природные и синтетические нуклеиновые кислоты, низко- и высокомолеку-

лярные соединения (полифенолы и др.). Ко II типу относится ИФН- γ , обладающий антипролиферативной, более выраженной по сравнению с ИФН I типа, иммуномодулирующей активностью, вовлекая клетки иммунной системы (естественные киллеры – НК, макрофаги, гранулоциты) в регуляцию иммунного гомеостаза организма в норме и при различных патологических состояниях. ИФН- γ в основном продуцируется Т-лимфоцитами, его синтез может быть индуцирован инфекционными агентами и митогенами.

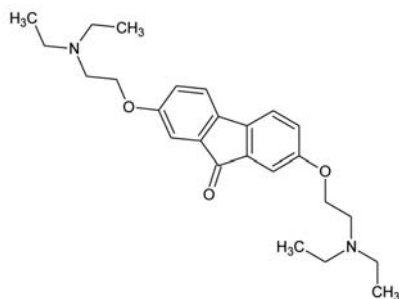
Тилорон – синтетическое низкомолекулярное соединение ароматического ряда, обладающее противовирусными свойствами и способностью индуцировать интерферон при пероральном введении.

Химическое название тилорона – 2,7-бис-[2-(диэтиламино)этокси]флуорен-9-он. Химическая формула тилорона – $C_{25}H_{34}N_2O_3$, химическая структура представлена на рис. 1.

Химическое название ингината – N-(ацетилокси)-N-9Н-флуорен-2-илацетамид. Химическая формула ингината – $C_{17}H_{15}NO_3$, химическая структура представлена на рис. 2.

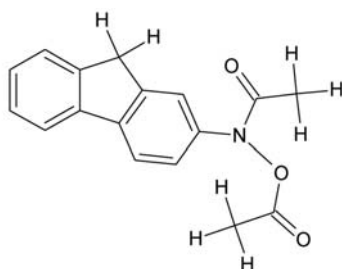
Тилорон обладает иммуностимулирующим эффектом. Он стимулирует стволовые клетки костного мозга, усиливает антителообразование, уменьшает степень иммунодепрессии, вызванной введением канцерогена, осуществляет коррекцию соотношения Т-супрессоров и Т-хелперов, повышает активность ЕК-клеток [1].

К действию тилорона чувствительны гепатно-, герпес-, микровирусы. Тилорон применяется в комплексной терапии герпеса, инфекционно-аллерги-



Молекулярная формула = $C_{25}H_{34}N_2O_3$
 Мол. вес = 410,54906
 Состав = C (73,14%) H (8,35%) N (6,82%)
 O (11,69%)
 Коэф. рефракции = $121,05 \pm 0,3 \text{ см}^3$
 Молярный объём = $372,4 \pm 3,0 \text{ см}^3$
 Плотность = $1,102 \pm 0,06 \text{ г/см}^3$
 Поляризуемость = $47,98 \pm 0,5 \times 10^{-24} \text{ см}^3$
 Моноизотопная масса = 410,25694 Да
 Номинальная масса = 410 Да
 Средняя масса = 410,5491 Да

Рис. 1. Структурная формула и физико-химические свойства тилорона (2,7-бис-[2-(диэтиламино)этокси]флуорен-9-он).



Молекулярная формула = $C_{17}H_{15}NO_3$
 Мол. вес = 281,3059
 Состав = C (72,58%) H (5,37%) N (4,98%)
 O (17,06%)
 Коэф. рефракции = $79,17 \pm 0,3 \text{ см}^3$
 Молярный объём = $219,9 \pm 3,0 \text{ см}^3$
 Плотность = $1,279 \pm 0,06 \text{ г/см}^3$
 Поляризуемость = $31,38 \pm 0,5 \times 10^{-24} \text{ см}^3$
 Моноизотопная масса = 281,10519 Да
 Номинальная масса = 281 Да
 Средняя масса = 281,3059 Да

Рис. 2. Структурная формула и физико-химические свойства ингната (N-(ацетиокси)-N-9Н-флуорен-2-илацетамид).

ческих и вирусных энцефаломиелитов (рассеянный склероз, лейкоэнцефалиты, увеэнцефалиты и др.), по лечебной схеме при гепатитах и энтеровирусных инфекциях, а также для профилактики гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций.

Тилорон считается первым синтетическим низкомолекулярным индуктором интерферона (ИФН), эффективным при пероральном применении. Ранее установлено, что однократная доза тилорона вызывает образование у животных ИФН 1-го типа, титры которого в определенных пределах пропорциональны концентрации тилорона [11].

При пероральном поступлении тилорона уже через 3 ч появляется ИФН в тонком кишечнике, а максимальные титры ИФН наблюдаются через 18-24 ч и достигают 5000 ЕД/мл [13]. При этом в сыворотке уровень ИФН составляет только 320-640 ЕД/мл. После внутрибрюшинного введения тилорона максимальные концентрации ИФН (~5000 ЕД/мл) обнаруживаются в структурах ЦНС. ИФН образуется также в лимфоидных органах – в частности, в селезенке и лимфоузлах. После однократного введения тилорона ИФН определяют в сыворотке крови в течение 48-72 ч, в связи с чем тилорон относят к индукторам

«позднего» ИФН [14], что и обуславливает его длительное терапевтическое последствие.

Тилорон также индуцирует синтез ИФН- γ Т-лимфоцитами и NK-клетками. В культуре лимфоцитов периферической крови человека тилорон активирует синтез ИФН- α и ИФН- γ в соотношении 3:1. Исследования, проведенные на группе здоровых добровольцев, показали, что уже через сутки после первого приема тилорона уровень ИФН в сыворотке крови возрастает более чем втрое.

Кроме способности индуцировать образование эндогенного интерферона и оказывать иммуномодулирующее действие, проведенные исследования обнаружили широкий спектр фармакологической активности тилорона.

Авторами ранних исследований [8] сообщается о противоопухолевой и противирусной активности данного соединения.

Тилорон оказывает стимулирующее действие на первичный и вторичный гуморальный ответ, повышая продукцию иммуноглобулинов разных классов (M, G, A), даже после однократного введения накануне или одновременно с иммунизацией [14, 8].

Целью исследования явилось определение ферментативной активности и ингибирующего действия производных флуорена – ингината и тилорона – по ферменту N-ацетилтрансферазы NAT2 человека на гомогенатах печени гуманизированных трансгенных мышей NAT2hom (впервые получены в НЦБМТ ФМБА России) *in vitro* [3, 4].

Для выбранных ингибиторов необходимо изучить концентрационные зависимости ферментативной активности и

определить значение концентрации полумаксимального ингибирования IC_{50} .

Задачей второго этапа исследования являлось профилирование цитокинового статуса тестируемой линии мышей C57Bl6/Y после введения изучаемых препаратов (тилорона и ингината) по продукции ИФН- γ и ФНО- α методом мультиплексного ИФА на магнитных частицах.

Материалы и методы

Нами выбраны два производных флуорена, наиболее реакционноспособных с молекулярной мишенью – N-ацетилтрансферазой, – тилорон и ингинат.

Тилорон использовали в таблетированной форме (125 мг). Отмечая его невысокую водорастворимость, введение препарата животным выполняли в виде суспензии.

Ингинат представляет собой ацетилированное производное флуорена с улучшенными физико-химическими свойствами (растворимостью, чистотой).

Синтез и очистку ингината проводили в соответствии с ранее разработанной в НЦБМТ ФМБА России методологией.

Задачи *in vitro* исследования состояли в применении методики оценки фенотипа ацетилирующей способности (активности ферментов N-ацетилтрансфераз тестируемых животных) и оценке ингибирующего действия выбранных препаратов (ингината и тилорона) на ткани печени трансгенной линии лабораторных мышей NAT2hom (НЦБМТ ФМБА России).

Разработанная ранее методика [2] была применена нами для оценки остаточной ацетилирующей способности NAT в биомоделировании регуляции процессов ацетилирования в гомогена-

тах тканей лабораторных животных и определения ингибирующего действия тилорона и ингината в экспериментах *in vitro*.

Биологический материал тканей лабораторных животных (печень) подвергался пробоподготовке и выделению белковой лизосомальной фракции.

Основное лабораторное оборудование, применяемое при определении активности N-ацетилтрансферазы-2, позволяет выполнять все необходимые этапы: введения испытуемых молекул лабораторным животным, забора и подготовки биоматериалов (печени, плазмы крови) к исследованию, пробоподготовки гомогенатов образцов в буфере для гомогенизации, определения общего содержания белка в полученных гомогенатах печени.

Перечень основного оборудования и материалов:

1) спектрофотометр 96-луночный Multiscan GO («Thermo Scientific») или аналог с программным обеспечением для обработки, хранения и визуализации данных;

2) высокоскоростной гомогенизатор SilentCrusher («Heidolph») или аналогичный;

3) холодильник с охлаждением до -80°C ;

4) одноразовые полипропиленовые конические центрифужные пробирки с плотнозакрывающимися крышками объемом 5 мл.

Исследование проводили в два этапа. В ходе первого этапа выполняли введение рассчитанного объема р-ров ингибиторов и деионизованной воды (в качестве контроля) тестируемым животным указанной линии. Количество животных в группе – 5-10 особей.

На втором этапе определяли уровни ферментативной ацетилирующей способности N-ацетилтрансферазы у интактных животных и ферментативную активность NAT в ответ на токсическое воздействие ингибиторами.

Доза ингибиторов в тесте на ингибирующее действие выбрана в диапазоне $1/5 - 1/10$ от LD_{50} и составила концентрации для оценки остаточной ацетилирующей способности и общего ингибирующего действия 10-50 мг/кг.

В качестве контроля использовалась деионизованная вода.

Пробы гомогенатов тканей готовили свежими и сохраняли в условиях глубокой заморозки (-80°C) до стадии пробоподготовки гомогената, не допуская процессов разложения биоматериала.

Исследуемый материал – ткани животных (печень) для оценки ферментативной активности цитозольной фракции, содержащей N-ацетилтрансферазу.

Определение проводили в соответствии с методикой спектрофотометрического кинетического метода (по Элману). После инкубации в течение 5 мин при 37°C проводили серию считываний с интервалом 30 с на протяжении 60 мин. Результаты реакции учитывали, измеряя светопоглощение при 405 и 412 нм. Дальнейшую обработку данных выполняли в пакете Microsoft Office Excel.

Оценку активности проводили исходя из полученных значений оптической плотности за вычетом бланковых значений (без кофермента 4-нитрофенилацетата PNPA, субстрата и гомогената в соответствующих лунках при дизайне 96-луночного планшета).

Для определения удельной ферментативной активности величину активности, выраженную в нМ/мин, соотносили

с долей белка (мг) в каждом из изучаемых образцов (p-рах белковых гомогенатов).

Содержание белковой фракции в тестируемых образцах тканей определяли флуориметрически по свежей калибровке в соответствии с протоколом использования (Qubit 3.0, «Life Technology»).

Цитокиновый профиль определяли с помощью мультиплексного анализа на установке Bio-Plex Magpix («Bio-Rad», США). Данный метод представляет собой мультиплексную иммунную реакцию, протекающую на магнитных микрочастицах, с их последующим проточным флуоресцентным анализом и одновременным определением содержания специфических регуляторных белков-цитокинов. Содержание цитокинов ИФН-γ и ФНО-α определяли в плазме крови лабораторных животных.

Производство цитокинов оценивали после внутрижелудочного введения препаратов в двух дозах – 10 и 50 мг/мышь для тилорона и ингината соответственно. Анализ проводили через 2 ч после введения препаратов.

Пользовались стандартной коммерчески доступной панелью на цитокины (Bio-Plex Pro™ Mouse Cytokine 23-plex Assay, #M60009RDPD). Плазму крови, стабилизированную ЭДТА, вносили в лунки планшета. Дальнейшие операции выполняли в соответствии с протоколом по инструкции производителя.

Результаты и их обсуждение

Ингибирующее действие

Ранее проведенные исследования продемонстрировали, что под воздействием субстратов N-ариламингидрокси-производных (на примере N-гидрокси-4-аминобифенила, а также ряде других

структурно подобных N-арилгидрокси-мов) ферментативная система дезактивируется и функционирует в связанном с необратимыми субстратами состоянии, т.е. практически ингибирована.

Наряду с основным процессом детоксикации ксенобиотиков, некоторые из них в ходе этих реакций активируются, превращаясь в непосредственные канцерогены – высокореактивные производные, ковалентно связывающиеся с клеточными белками и нуклеиновыми кислотами [9, 10].

Электрофильные метаболиты образуются на первом этапе окисления проканцерогена микросомальными монооксигеназами, которые локализованы, главным образом, в эндоплазматическом ретикулуме и имеют в качестве терминального звена цитохром P-450.

Нужно отметить, что в канцерогенном действии одного и того же соединения могут принимать участие несколько механизмов.

Остаточный уровень активности ацетилирования гомогената печени различен и демонстрирует разную ингибирующую способность действия изучаемых молекул.

Данные кинетического эксперимента пересчитывали автоматически в активность A (нмоль/мин/мг) с учетом доли общего белка для каждой пробы (рис. 3).

Анализ и обработку данных выполняли в пакете Microsoft Office Excel 2010 с применением модуля факторного анализа.

Концентрация полумаксимального ингибирования IC₅₀ выбрана нами как показатель эффективности лиганда при ингибирующем биохимическом или биологическом взаимодействии. IC₅₀ является количественным индикатором,

который показывает, сколько нужно лиганда-ингибитора для ингибирования биологического процесса на 50%. Этот показатель используется нами в качестве индикатора активности вещества-кандидата в фармакологических исследованиях. IC50 является показателем концентрации лекарственного вещества, необходимого для 50% ингибирования тестовой реакции *in vitro*.

Показатель IC50 не является непосредственным индикатором аффинности, но является связанной с ней величиной.

В определениях ингибирующей способности тилорона установлено, что с ростом его концентрации в постановках на активность N-ацетилтрансферазы наблюдается равномерный спад удельной активности во всей области изучаемых концентраций (0,10-1,50 мМ).

Значение IC50, установленное для тилорона, специфично на NAT2 человека (из гомогената печени) составило 0,32 мМ.

Уровень IC50, установленный для ингината совместно с NAT2-селективным субстратом (сульфаметазинном), составил 0,14 мМ (0,04 мг/лунку), что в 2,2 раза меньше, чем установленный уровень IC50 в индивидуальном определении ингибирующей способности тилорона.

Анализ уровня продукции цитокинов

Цитокины, хемокины и факторы роста представляют собой значимые регуляторные белки сигнальных систем клеток и выделяются многими типами клеток, включая те, которые относятся к иммунной системе. Белки сигнальной системы клетки взаимодействуют со специфическими рецепторами клеток-



Рис. 3. Сравнительный анализ ингибирования процесса ацетилирования для линии гуманизированных мышей NAT2hom («сверхбыстрого» типа ацетилирования) под воздействием ингибиторов – тилорона и ингината (50 мг/кг, гомогенат печени).

мишеней, устанавливая важные физиологические реакции – например, рост, иммунитет, воспаление и кроветворение.

Для определения продукции цитокинов и анализа их профиля получали калибровочную зависимость для каждого из них. Диапазон калибровки для ИФН- γ составил 1,84-30164 пг/мл и 5,8-59626 пг/мл – для ФНО- α (рис. 4).

Анализ (прочтение лунок) проводили в двух независимых постановках и при двух повторах считывания каждой экспериментальной точки.

В ходе анализов получены данные количественного содержания ИФН- γ и ФНО- α в плазме крови мышей линии C57Bl6/Y после введения тилорона и ингината в одинаковой дозе 50 мг/кг (рис. 5, 6).

Существуют три основных направления действия ФНО: цитотоксическое, направленное на клетки опухоли либо клетки, пораженные вирусами; иммуномодулирующее и противовоспалительное, вызываемое активацией макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов и эндотелиальных клеток; влияние на метаболизм, способное привести к гипергликемии, резорбции кости и увеличению мышечного гликогенолиза, т.е. кахексии, наблюдаемой при некоторых паразитарных инфекциях [6].

В результате высвобождения ФНО повышается проницаемость капилляров, повреждается эндотелий сосудов, возникает внутрисосудистый тромбоз. Концентрация циркулирующего ФНО- α обычно очень низка (<5 пг/мл), однако она

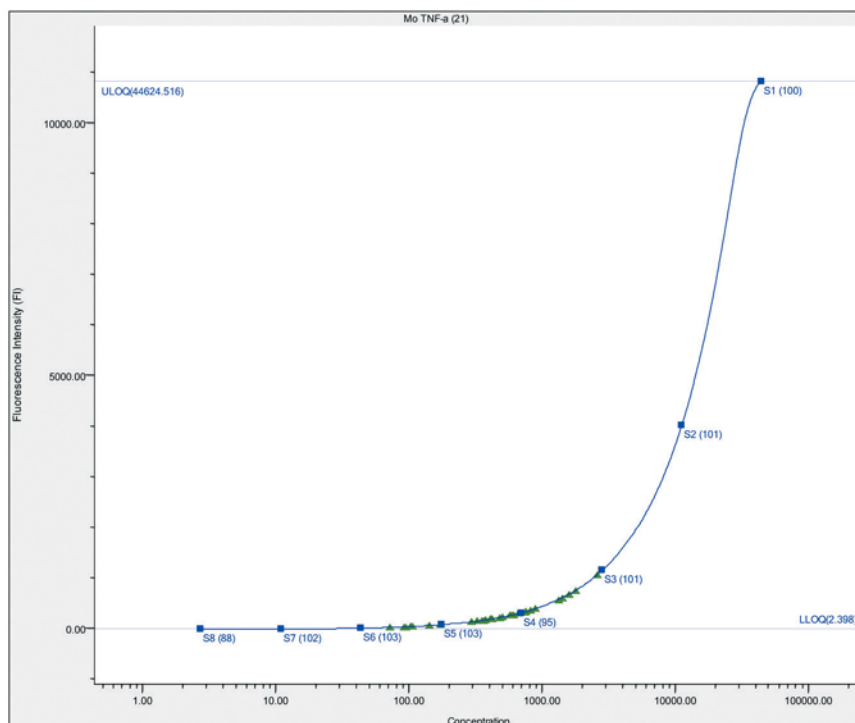


Рис. 4. Типичный вид концентрационной калибровочной кривой фактора некроза опухоли ФНО- α .

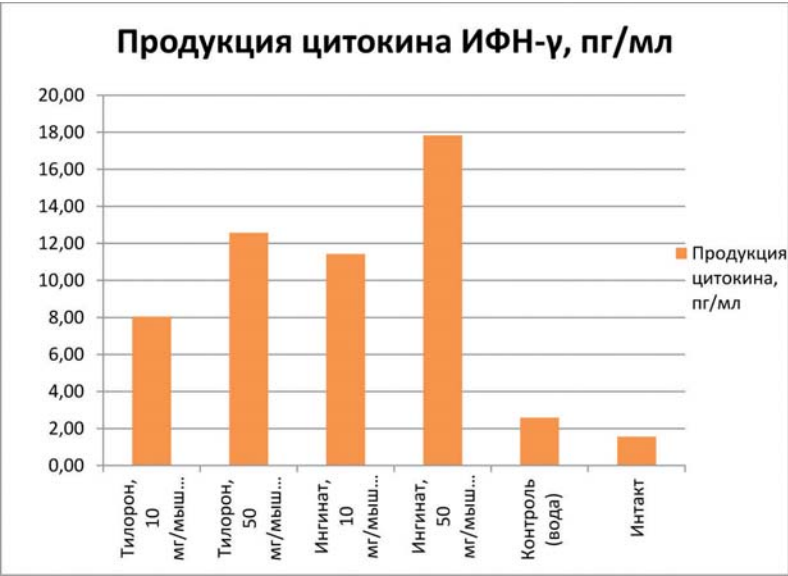


Рис. 5. Продукция цитокина ИФН-γ после внутрижелудочного введения тилорона и ингината в дозах 10 и 50 мг/мышь. Линия мышей C57Bl6/Y.

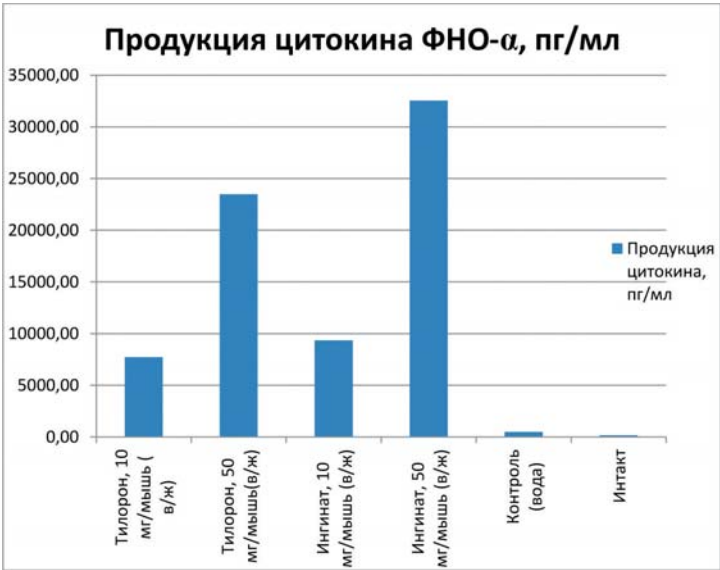


Рис. 6. Продукция цитокина ФНО-α после внутрижелудочного введения тилорона и ингината в дозах 10 и 50 мг/мышь. Линия мышей C57Bl6/Y.

резко возрастает (максимум за 90 мин) после введения липополисахарида и возвращается к норме в течение 4-х ч. Высокие уровни ФНО-α (>300 пг/мл) обнаруживают во время септического шока. Сохранение высоких уровней указывает на возможность возникновения нежелательных последствий. Было

показано, что у ВИЧ-инфицированных лиц в начальный период заболевания значительно увеличиваются концентрации ФНО- α и IFN- γ . Повышенный уровень ФНО- α при СПИДе индуцирует репликацию вируса в инфицированных клетках по ауто- или паракринному пути. Кроме того, ФНО, осуществляя киллинг клеток, пораженных вирусом, вызывает вирусемию и заражение новых лимфоцитов [7].

Выводы

Полученные экспериментальные данные иллюстрируют, что изучаемые препараты – производные флуорена (тилорон и ингинат) выступают как эффективные ингибиторы NAT и оказывают иммуномодулирующее действие по уровню продукции ИФН- γ и ФНО- α .

Проведенные исследования производных флуорена – тилорона и ингината – указывают на ингибирование NAT-системы ацетилирования в процессе биотрансформации обоими препаратами. При этом ингибирующее действие ингината превышает таковое тилорона в 2,2 раза.

Индущирующее действие исследуемых веществ выражено в увеличенной продукции ИФН- γ и ФНО- α . Наибольшая продукция цитокинов установлена для препарата ингинат, превышающая по продукции ИФН- γ в 1,5 раза, а по продукции ФНО- α – в 1,35 раза содержание этих цитокинов по сравнению с индукцией тилороном в дозах 10 и 50 мг/мышь.

Данные наблюдения могут быть использованы для поиска производных флуорена как перспективных средств в моделировании противовирусных молекул-кандидатов и иммуностимуляторов.

На основании результатов исследования могут быть созданы модели состояний развития противоопухолевого иммунитета, на основе которых возможны поиск, синтез, испытание и конструирование иммунокорректирующих средств – индукторов интерферона с базисной молекулой флуорена.

Список литературы

1. *Ермольева З.В., Корнеева Л.Е., Балежина Т.И., Николаева О.В., Гвазава И.С.* Тилорон как индуктор интерферона // Антибиотики. – 1973. – Т. 18. – № 6. – С. 517-520.
2. *Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Хвостов Д.В., Петрова Н.В., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Ревякин А.О.* Регуляция активности систем ацетилирования в процессах канцерогенеза: от фенотипа к эпигенетике // Биомедицина. – 2016. – № 4. – С. 4-21.
3. *Каркищенко В.Н., Мартынов В.В.* Фармакология, генополиморфизм и клонирование генов NAT у человека и животных-моделей // Биомедицина. – 2006. – № 4. – С. 85-87.
4. *Каркищенко Н.Н., Рябых В.П., Каркищенко В.Н., Колоскова Е.М.* Создание гуманизированных мышей для фармакотоксикологических исследований (успехи, неудачи и перспективы) // Биомедицина. – 2014. – № 3. – С. 4-22.
5. *Кукес В.Г., Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатев И.В.* Фармакогенетика системы биотрансформации и транспортеров лекарственных средств: от теории к практике // Биомедицина. – 2007. – № 6. – С. 29-47.
6. *Филиппова Т.О., Головенко Н.Я.* Тилорон: профиль биологической активности. Фармакологические свойства // Интерактивная антропология. – 2006. – № 1(7). – С. 18-23; № 2(8). – С. 36-40.
7. *Хаитов Р.М., Пащенко М.В., Пинегин Б.В.* Биология рецепторов врожденной иммунной системы // Физиология и патология иммунной системы. – 2008. – Т. 12. – С. 3-28.
8. *Chandra P., Wright G.J.* Tilorone hydrochloride: the drug profile // Top. Curr. Chem. – 1977. – Vol. 72. – No. 1. – Pp. 125-148.
9. *Hanna P.E.* N-acetyltransferases, O-acetyltransferases, and N, O-acetyltransferases: enzymology and bioactivation // Adv. Pharmacol. – 1994. – No. 27. – Pp. 401-430.

10. **Hein D.W.** Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis // *Mutation Research*. – 2002. – No. 506-507. – Pp. 65-77.
11. **Katz E., Margalith E., Winer B.** The effect of tilorone hydrochloride on the growth of several animal viruses in tissue cultures // *J. Gen. Virol.* – 1976. – Vol. 31. – No. 1. – Pp. 125-129.
12. **Kaufman H.E., Centifanto Y.M., Ellison E.D., Brown D.C.** Tilorone hydrochloride: human toxicity and interferon stimulation // *Proc. soc. exp. biol. and med.* – 1971. – No. 1. Pp. 357-360. PMID 5581674.
13. **Pindak F.F., Schmidt J.P., Giron D.J., Allen P.T.** Interferon levels and resistance to viral infections associated with selected interferon inducers // *Proc. soc. exp. biol. and med.* – 1971. – Vol. 138. – No. 1. – P. 317-321.
14. **Raychaudhuri A., Megel H.** The effect of tilorone on immunoglobulin bearing lymphocytes (B cells) in peripheral blood and spleens of mice // *J. Reticuloendothel. Soc.* – 1976. – Vol. 20. – No. 2. – Pp. 127-134.

References

1. **Ermol'eva Z.V., Korneeva L.E., Balezina T.I., Nikolaeva O.V., Gvazava I.S.** Tiloron kak induktor interferona [Tyloron as an inducer of interferon]. *Antibiotiki [Antibiotics]*. 1973. T. 18. No. 6. Pp. 517-520. (In Russian).
2. **Karkischenko V.N., Dulya M.S., Khvostov D.V., Petrova N.V., Pronina G.I., Koryagina N.Yu., Revyakin A.O.** Regulyatsiya aktivnosti sistem atsetilirovaniya v protsessakh kantserogeneza: ot fenotipa k epigenetike [Regulation of the activity of acetylation systems in the processes of carcinogenesis: from phenotype to epigenetics]. *Biomedicine*. 2016. No. 4. Pp. 4-21. (In Russian).
3. **Karkischenko V.N., Martynov V.V.** Farmakologiya, genopolimorfizm i klonirovaniye genov NAT u cheloveka i zhivotnykh-modeley [Pharmacology, gene polymorphism and cloning of NAT genes in humans and animal models]. *Biomedicine*. 2006. No. 4. Pp. 85-87. (In Russian).
4. **Karkischenko N.N., Ryabykh V.P., Karkischenko V.N., Koloskova E.M.** Sozdaniye gumanizirovannykh myshey dlya farmakotoksikologicheskikh issledovaniy (uspekhi, neudachi i perspektivy) [Creation of humanized mice for pharmacotoxicological studies (successes, failures and perspectives)]. *Biomedicine*. 2014. No. 3. Pp. 4-22. (In Russian).
5. **Kukes V.G., Sychev D.A., Ramenskaya G.V., Ignatyev I.V.** Farmakogenetika sistemy biotransformatsii i transporterov lekarstvennykh sredstv: ot teorii k praktike [Pharmacogenetics of biotransformation and drug transporters: from theory to practice]. *Biomedicine*. 2007. No. 6. Pp. 29-47. (In Russian).
6. **Filippova T.O., Golovenko N.Ya.** Tiloron: profil' biologicheskoy aktivnosti. Farmakologicheskiye svoystva [Tyloron: a profile of biological activity. Pharmacological properties]. *Interaktivnaya antropologiya [Interactive anthropology]*. 2006. No. 1(7). Pp. 18-23; No. 2(8). Pp. 36-40. (In Russian).
7. **Khaitov R.M., Paschenkov M.V., Pinegin B.V.** Biologiya retseptorov vrozhdennoy immunnnoy sistemy [Biology of receptors of the congenital immune system]. *Fiziologiya i patologiya immunnnoy sistemy [Physiology and pathology of immune system]*. 2008. T. 12. Pp. 3-28. (In Russian).
8. **Chandra P., Wright G.J.** Tilorone hydrochloride: the drug profile. *Top. Curr. Chem.* 1977. Vol. 72. No. 1. Pp. 125-148.
9. **Hanna P.E.** N-acetyltransferases, O-acetyltransferases, and N, O-acetyltransferases: enzymology and bioactivation. *Adv. Pharmacol.* 1994. No. 27. Pp. 401-430.
10. **Hein D.W.** Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis. *Mutation Research*. 2002. No. 506-507. Pp. 65-77.
11. **Katz E., Margalith E., Winer B.** The effect of tilorone hydrochloride on the growth of several animal viruses in tissue cultures. *J. Gen. Virol.* 1976. Vol. 31. No. 1. Pp. 125-129.
12. **Kaufman H.E., Centifanto Y.M., Ellison E.D., Brown D.C.** Tilorone hydrochloride: human toxicity and interferon stimulation. *Proc. soc. exp. biol. and med.* 1971. No. 1. Pp. 357-360. PMID 5581674.
13. **Pindak F.F., Schmidt J.P., Giron D.J., Allen P.T.** Interferon levels and resistance to viral infections associated with selected interferon inducers. *Proc. soc. exp. biol. and med.* 1971. Vol. 138. No. 1. Pp. 317-321.
14. **Raychaudhuri A., Megel H.** The effect of tilorone on immunoglobulin bearing lymphocytes (B cells) in peripheral blood and spleens of mice. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1976. Vol. 20. No. 2. Pp. 127-134.

To the pharmacodynamics of derivative fluorine – tilorone and inhinate – on the basis of inhibition of N-acetyltransferase and cytokine production

V.N. Karkischenko, M.S. Dulya, D.V. Khvostov, R.A. Ageldinov

Experimental data on the biological effects of drugs – derivatives of fluorene: tilorone and inhinate. Drugs act as effective inhibitors of NAT and have immunomodulatory effects about the production of IFN-gamma and TNF-alpha. Monitoring data can be used to find derivatives fluorene as promising tools in the simulation of antiviral molecules-candidates and adjuvants.

Based on the data obtained in vitro experiment on enzyme activity with an effective inhibitory effect derived fluorene (tilorone and inhinate) by the enzyme N-acetyltransferase NAT2 person.

For selected inhibitors studied concentration dependence of the enzymatic activity and determined the concentration value premaxillae inhibition IC₅₀.

The essence of the act fluorene derivatives to inhibit acetylation via the enzyme N-acetyltransferase (NAT1, NAT2, etc.) and through immunomodulatory effects on cytokine immune status of mice.

Key words: N-acetyltransferase, fluoren, tilorone, inhinate, acetylation, mouse humanized line NAT2hom, inhibition, cytokines, interferons, tumor necrosis factor.