



УКРАЇНА

(19) UA (11) 80502 (13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 39/245

A61K 31/198 (2007.01)

A61K 31/4172 (2007.01)

A61K 31/787 (2007.01)

A61P 31/12 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА ПРОТИГЕРПЕТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ НА ЇЇ ОСНОВІ ТА СПОСІБ ВИКОРИСТАННЯ

1

2

(21) a200605770

(22) 20.10.2004

(24) 25.09.2007

(86) PCT/RU2004/000414, 20.10.2004

(31) 2003131814

(32) 30.10.2003

(33) RU

(31) 2004128635

(32) 27.09.2004

(33) RU

(46) 25.09.2007, Бюл. №15, 2007р.

(72) Мусаєва Аділя Рафік, RU, Барінський Ігорь
Феліксовіч, RU, Лазаренко Алла Арнольдівна, RU,
Петров Рем Вікторовіч, RU, Хайтов Рахім Мусаєвіч,
RU, Хайтов Муса Рахімовіч, RU(73) ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТ-
ВЕННОСТЬЮ "РУСГЕН", RU

(56) RU C1 2142816 20.12.1999

Ru C1 2197969 10.02.2003

Баринский И.Ф., Сидорович И.Г., Лазаренко А.А. и
др. Способность полиоксидония повышать имму-
ногенность герпесвирусных вакцин // Иммуноло-
гия. Медицина, 2001. - №2. - С. 17-20.(57) 1. Фармацевтична протигерпетична компози-
ція, яка включає віріонний вакцинний антигерпетич-
ний препарат, у якому містяться віруси простого
герпесу серотипів 1 або 2, інактивовані формалін-
ом або γ -випромінюванням, та імунокомпетентну
речовину і фізіологічне рідке середовище, яка
відрізняється тим, що композиція як імунокомпе-
тентну речовину містить поліоксидоній та додатко-
во містить валін, лізин, а також комбінацію, яка
складається не менше ніж з 2-х метаболічних амі-
нокислот, вибраних із групи: фенілаланін, лейцин,
аланін, треонін, гістидин, аргінін, метіонін, за на-
ступного співвідношення компонентів:

антигерпетичний	10^6 - 10^7 бляшкотвірних
препарат	одиниць/мл суспензії
поліоксидоній	0,03-0,06 г
валін	0,18-0,25 г
лізин	0,15-0,30 г
комбінація з 2-х ме-	0,12-0,27 г

таболічних амінокис-

лот

фізіологічне рідке

середовище

до 100мл.

2. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що
додатково містить амінокислоту ізолейцин у кіль-
кості 0,11-0,22г на 100мл композиції.3. Композиція за п. 2, яка **відрізняється** тим, що
додатково містить альбумін людський у кількості
0,22-0,24г на 100мл.4. Композиція за п. 3, яка **відрізняється** тим, що
додатково містить один або більше водо- і жиророзчинних вітамінів, вибраних із групи: тіамін, рибофлавін, нікотинамід, піридоксин, аскорбінова кислота, ретинол, токоферол, або їх суміш в загальній кількості в складі композиції від 0,05 до 3,5%.5. Композиція за п. 4, яка **відрізняється** тим, що
може бути виконана у вигляді лікарської форми, у
якій як носій використовують тверду, м'яку або
рідку речовину.6. Композиція за п. 5, яка **відрізняється** тим, що
за умови використання твердого носія кінцева форма є таблеткою, драже, гранулою, саше або порошком, поміщеним у капсулу.7. Композиція за п. 5, яка **відрізняється** тим, що
за умови використання рідкого носія кінцевий продукт є розчином, гелем, емульсією, суспензією, мікстурою, сиропом або лініментом.8. Композиція за п. 5, яка **відрізняється** тим, що
за умови використання м'якого носія кінцевий продукт є маззю, кремом, пастою, супозиторієм, імплантатом, жувальною таблеткою або пастилкою.9. Спосіб приготування супозиторія на основі фармацевтичної композиції, охарактеризованої в будь-якому з пунктів 1-4, який включає змішування за стандартною технологією активних компонентів у маслі какао як носії, який **відрізняється** тим, що як активний компонент вносять композицію, зазначену в будь-якому з пунктів 1-4, і один або кілька мікроелементів (МЕ), вибраних із групи: цинк, хром, селен та нікель.

(13) C2

(11) 80502

(19) UA

10. Спосіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що МЕ вносять у вигляді розчинних хелатних форм у кількості 0,01-0,08% на загальну масу композиції.

11. Спосіб використання фармацевтичної протигерпетичної композиції шляхом уведення її в організм, уражений вірусом герпесу, який **відрізняється** тим, що в організм вводять композицію,

охарактеризовану в будь-якому з пунктів 1-8, в ефективній дозі у вигляді придатної лікарської форми придатним шляхом, вибраним із групи: перорально, сублінгвально, інтраназально, ректально, вагінально, парентерально, субкон'юнктивально або у формі для розжовування.

Винахід відноситься до області імунології, зокрема до створення нової фармацевтичної протигерпетичної композиції, одержання лікарської форми на її основі та способу її використання.

На даний час поширені наступні хіміопрепарати проти вірусу герпесу: ацикловір, віразол, фоскарнет, відарабін та ін. [1]. Специфічну активність у відношенні вірусу герпесу мають відповідні вакцини. Ряд протигерпетичних вакцин, у тому числі на основі інактивованих віріонів, розроблено, як у Росії, так і за кордоном, наприклад, вони описані в [патентах РФ №2014084, 1994р., №2085582, 1997р., №2085583, 1997р., у патентах США №4816250, 1989р., №5215745, 1993р., №5602023, 1997р].

У самі останні роки розроблені вакцинні протигерпетичні препарати, що враховують генетичну будову герпесвірусу, які включають фрагменти ДНК та деякі інші компоненти.

Наприклад, рекомбінантна герпесвірусна вакцина, яка містить фрагменти ДНК, а також кодовані ними пептиди [патент US №6387376 від 14 травня 2002р.]. Ця вакцина може використовуватися при перитоніальній інфекції. Комплексна герпесвірусна вакцина, яка містить вірус простого герпесу, а також глікопротеїн (gp) D і деацильований монофосфат ліпиду A [заявка Кіпру, цитується за тожотою заявкою [US 2002147167] від 10.10.2002].

Вакцина, яка містить інактивовані віруси герпесу, переважно локалізовані в атеросклеротичних бляшках. Це -полівалентна вакцина, яка містить HSV-1, HSV-2, HSV-6, людський цитомегаловірус, Епштейн-Бар-вірус у комбінації з фармацевтично прийнятним носієм або розчинником [патент US 6471965 від 29.10.2002], рекомбінантну ДНК, яка кодує герпес вірусні глікопротеїни : gp50, gpII, gpIII, gpI, HSV gD, бичачий герпесвірус gI, HV gB, EB VgB, gH, людський цитомегаловірус gB [патент NL 9900034 від 1.10.2003].

Вакцина, яка містить глікопротеїн D2t, проти вірусу простого герпесу, а також ад'юванти TH-1, 3-DMPL або солі алюмінію [опублікована заявка EP 1109574 від 29.04.2003]. Відома також вакцина проти простого вірусу, яка представляє собою пептидні епітопи, характерні для HSV (опублікована заявка WO 03099860 від 27.11.2003). Одна із самих останніх розробок -жива вакцина на основі герпесвірусу-мутанта, яка працює в організмі за температури 38,5°C або вище. Придатна для тварин [патент US 2004076642 від 22.04.2004р.].

З вищесказаного випливає, що у комплексну терапію доцільне включення імунокомпетентних речовин, таких як інтерферони та антиоксиданти, як рекомендовано в наших попередніх розробках [див. наприклад патент РФ 2142816, 1999р.], де

показана також одна зі зручних для пацієнта лікарських форм (у вигляді супозиторія). Цю розробку вважаємо близьким аналогом даного винаходу.

Хіміотерапевтичні засоби не завжди досить ефективні, оскільки не діють специфічно тільки у відношенні вірусу герпесу, у принципі поліактивні і можуть бути використані при інших вірусних захворюваннях.

Перераховані вище вакцинні препарати хоча і є специфічними і виготовлені на основі інактивованих і ослаблених штамів вірусу герпесу, але не всі з них придатні для лікування людини. Для успішної боротьби з вірусом у високоорганізованого організму, особливо людини, необхідно враховувати гуморальні і клітинні фактори, стан імунної системи, ступінь ураження вірусом, стадію захворювання (латентна інфекція, загострення і т. і.).

У свій час експерименти з вірусом простого герпесу (ВПГ-1), який відноситься до підродини Alphaherpesvirinae, виявили його імунодепресивну активність. Інгібування Т-клітинної проліферації може поєднуватися з дефектом гуморальної відповіді на гетерологічний антиген. Складний характер взаємодії вірусу герпесу простого, серотип 2 (ВПГ-2) з імунною системою мишей демонструє факт посилення чутливості хазяїна до інфікування вірусом Коксаки В при збереженні нормальної відповіді на еритроцити барана. Зараження альвеолярних або перитоніальних макрофагів веде до пригнічення їхньої здатності виконувати функцію ефекторів антитілозалежної цитотоксичності. У різний час після введення вірус пригнічує фагоцитарну активність макрофагів черевної порожнини мишей. На ранніх сроках інфекції в альвеолярних макрофагах визначали тимчасове підвищення фагоцитарної активності, яка змінюється пригніченням цієї функції. Досліджували імунодепресивну активність вірусу, моделюючи цей ефект у культурі периферійних мононуклеарних клітин крові людини. Після зараження і відповідної інкубації виділяли природні кілери (ПК) і визначали їхню цитотоксичність. У ході роботи з описаною системою встановлено, що вірус пригнічує цитотоксичну функцію ПК тільки в тому випадку, коли в культурі периферійних мононуклеарних клітин знаходяться моноцити. Видалення останніх із системи перешкоджає розвитку вірусіндукованої супресії, після внесення моноцитів імунологічний дефект знову формується. Було також встановлено, що розвиток одного з типів супресії, обумовленої герпесвірусами, реалізується через моноцити. Є дані і про пряму дію герпесвірусу на регуляторні Т-клітини, яка веде до порушення синтезу і здатності взаємодіяти з інтерлейкіном-2 [2].

У такий спосіб описані механізми дії герпетичного вірусу на імунікомпетентні клітини та імунний статус у цілому наводять на думку про необхідність включення до противірусних сполук препаратів, які специфічно впливають на імунну систему, а також препаратів, які нормалізують клітинний метаболізм при ураженні організму вірусом простого герпесу, особливо при в'яло протікаючих, рецидивуючих і таких, які погано піддаються терапії, або мають тенденцію до хронізації захворювання, до яких відноситься і хронічна вірусна інфекція.

Незважаючи на значні переваги вищезгаданих вакцинних препаратів, у них не враховуються деякі важливі аспекти стану організму пацієнта, ураженого вірусом герпесу. У хворих герпесом, особливо хронічними формами, спостерігається порушення клітинного і гуморального імунітету, відбувається збільшена секреція глюкокортикоїдних гормонів, спостерігається різке порушення обміну уражених вірусом клітин і тканин.

Як показують дослідження, вибір імуномодуючого препарату та схеми його застосування на пацієнтах визначаються лікарем-імунологом залежно від ступеня тяжкості і виду основного захворювання, супроводжуючої патології, а також виявленого (іноді і прихованого) імунологічного дефекту.

При ураженні клітин моноцитарно-макрофагальної системи застосовують: поліоксидоній, лікопід. При найбільш важких формах ураження в моноцитарно-макрофагальній системі використовують препарати гранулоцитарно-макрофагальних колонієстимулюючих факторів: молграмостим (лейкомакс), філграстим (нейпоген).

При дефектах клітинної ланки імунітету застосовується один з наступних препаратів: поліоксидоній, тактивін, тимоптин, тимоген, тимолін. При порушенні синтезу антитіл В-лімфоцитами застосовують: мієлопід, поліоксидоній.

Серед препаратів з імуностимулюючими властивостями можна виділити три основні групи, що застосовуються в практичній охороні здоров'я: препарати мікробного походження (Пірогенал, Продигіозан, Рибомуніл, Нуклеінат натрію та інші), препарати ендогенного походження: препарати тимуса (Т-активін, Тималін, Тимоптин, Тимактид, Тимостимулін та ін.), препарати кістково-мозкового походження (Мієлопід), цитокіни (Молграмостин, Реаферон та ін.), хімічно чисті, синтетичні препарати: лікувальні препарати з виявленими імуномодуючими властивостями (наприклад, дицифрон та ін.), аналоги речовин ендогенного походження (Лікопід, Тимоген та ін.), власне синтетичні препарати (поліоксидоній та ін.) [3].

Відомо, що вищим живим істотам імунна система необхідна для того, щоб боротися з інфекційними хворобами, тобто з найпростішими живими організмами-патогенами: бактеріями, мікробами, грибами, вірусами, тощо. Чи є імунітет у безхребетних тварин, наприклад у комах. Пошуки відповіді на це питання привели до відкриття нового класу унікальних речовин.

Імунної системи, подібної ссавцям, у комах немає. У них виробляються речовини здатні блокувати чужорідні білки, які потрапили в організм.

Однак давно відомо, що з патогенними мікроорганізмами комах можуть боротися. У 1980 році групи дослідників під керівництвом Ханса Бомана зі Стокгольмського університету (Швеція), вдалося встановити наступне: гусені шовкопряда *Hyalphora cecropia* зробили ін'єкцію розчину, зараженого бактеріями, а потім зібрали і проаналізували речовини, які виділила інфікована гусінь. У результаті вчені одержали дві нових хімічні сполуки - пептидні молекули, які складаються з 35-39 амінокислот. Їх назвали цекропінами. Антимікробна активність цекропінів виявилася дуже високою [4].

У принципі, антимікробні речовини, які є короткими молекулами з 24-40 амінокислот, відомі давно. Більше півстоліття тому були виділені антимікробні пептиди граміцидин і нізін, які широко використовуються у фармацевтичній і харчовій промисловості. Давно описані рослинні антибактеріальні пептиди і пептиди з бджолоїної отрути. Проте відкриття Бомана викликало інтерес. По-перше, виділені пептиди на перший погляд дуже нагадували давно відому речовину мелітин, яка міститься в бджолоїній отруті, але з однією невеликою різницею - на відміну від мелітину, цекропіни убивали клітини бактерій тільки типу *Escherichia coli* (так звані грамнегативні бактерії) і зовсім не діяли ні на інші мікроорганізми, ні на клітини вищих організмів.

Серед дослідників переважала думка, що антимікробні пептиди виробляються секреторними органами тільки нижчих тварин, які не мають розвинутої імунної системи. Було показано, що і ссавці - кролики, корови і навіть люди - можуть виділяти схожі речовини. Причому відбувається це переважно в області кишківника, респіраторного тракту і сечоводів. Пептиди постійно виробляються навіть у спокійному стані організму, а при інфікуванні або ушкодженні органів відбувається сплеск їхнього синтезу.

Антимікробні пептиди, хоча й не значно поступаються антибіотикам за ефективністю, діють набагато швидше і, що саме головне, знищують бактерії, стійкі до відомих антибіотиків. Однак застосовувати в клініці як антибіотики та антигрибкові засоби можна тільки ті пептиди, які не гемолизують клітини ссавців [5].

Названі пептиди можуть «розправлятися» з вірусами різними способами. По-перше, деякі з них просто взаємодіють з вірусом безпосередньо, блокуючи його активність. У такий спосіб вони інактивують віруси наприклад, стоматиту і навіть ВІЛ. По-друге, пептиди можуть блокувати розмноження віріонів ВІЛ в інфікованому організмі. Так діють цекропіни і мелітин.

Розкриття винаходу

Технічною задачею даного винаходу є створення нового, більш ефективного і прогресивного комплексного препарату, який не тільки специфічно діяв би безпосередньо на вірус простого герпесу, але і забезпечував інтенсивний імуномодуючий вплив на організм у цілому, мобілізував би всі резервні можливості організму для боротьби з вірусом на клітинному та гуморальному рівнях.

Поставлена задача вирішується тим, що віріонний вакцинний антигерпетичний препарат, у

якому містяться віруси простого герпесу серотипів 1 чи 2, інактивовані формаліном або γ -випромінюванням, додатково містить у своїй сполуці високотехнологічний імуномодулятор поліоксидоній, а також амінокислоти валін і лізин, крім того комбінацію, яка складається не менше, ніж з 2-х амінокислот, обраних із групи: фенілаланін, лейцин, аланін, треонін, гістидин, аргінін, метіонін. Фармацевтична композиція має наступне співвідношення компонентів:

антигерпетичний препарат – 10^6 - 10^7 бляшкоутворюючих одиниць/мл суспензії

поліоксидоній	0,03-0,06г
валін	0,18-0,25г
лізин	0,15-0,30г

комбінація 32-х метаболічних амінокислот	0,12 -0,27г
фізіологічне середовище	до 100мл

Як фізіологічне середовище може бути використане, наприклад середовище Ігла для приготування вакцин.

Композиція додатково може містити людський альбумін як стабілізатор у кількості 0,22-0,24г на 100мл, а також комбінацію з 2-3-х водо- і жиророзчинних вітамінів, обраних із групи: тіамін, рибофлавін, нікотинамід, пірідоксин, аскорбінова кислота, ретинол, токоферол або їх суміші в загальній кількості в складі композиції від 0,05 до 3,5%.

У значній мірі ефективність лікування герпетичної інфекції зростає при включенні в композицію ізолейцину в порівнянні з контролем на 10-28%. Ізолейцин може входити до складу препарату в кількості 0,11-0,22г на 100 мл композиції.

Такий препарат придатний для лікування простого герпесу 1 і 2 типів, для цього підбирають

відповідну кожному виду герпесу комбінацію амінокислот і вітамінів, а дозу і кратність застосування - залежно від стану пацієнта.

Основним об'єктом винаходу є антигерпетична композиція, яка включає наступні компоненти:

Вірйонний вакцинний антигерпетичний препарат - 10^6 - 10^7 бляшкоутворюючих одиниць/мл суспензії, інактивований формаліном або γ -випромінюванням, поліоксидоній, а також амінокислоти валін і лізин, крім того комбінацію, яка складається не менше, ніж з 2-х амінокислот, обраних із групи: фенілаланін, лейцин, аланін, треонін, гістидин, аргінін, метіонін. Далі представляємо детальний опис нових компонентів і їхнє значення для нашої композиції:

Вітчизняний імуномодулятор останнього покоління - поліоксидоній (ПО)-є дуже ефективним імунокомпетентним засобом. ПО - співполімер N-окису 1,4-етиленпіперазину і (N-карбоксетилю) - 1,4-етиленпіперазиний бромід, є ліофілізованою пористою масою з жовтуватим відтінком, добре розчинною у воді, з молекулярною масою від 60000 до 100000. Крім імуномодулюючого, ПО проявляє виражений детоксикуючий, антиоксидантний і мембраностабілізуючий вплив.

Останнім часом нами розпочато ряд експериментів із застосуванням ПО одночасно з використанням антигерпетичної вакцини при спільному їх застосуванні шляхом парентерального введення. Ці експерименти дали позитивні результати на модельних інфекціях у лабораторних тварин (кєратит у кроликів, генітальний герпес у морських свинок, герпетичний менінгоенцефаліт у мишей), результати цих експериментів приведені у табл.1.

Таблиця 1

з/п	Використані герпесвірусні вакцини	Результати титрування тест-вірусів у lg ТДЦ 50/мл	Доза Поліоксидонію в мг на одну ін'єкцію	Концентрація віруснейтралізуючих антитіл в індексах нейтралізації
1	Убита вакцина проти вірусу простого герпесу 1 типу	6,5	- 0,1 0,2	2,3 3,75** 3,3*
2	Убита вакцина проти вірусу простого герпесу 1 типу	5,5	- 0,1 0,2	2,0 3,0* 2,5
3	Убита вакцина проти цитомегаловірусу людини	5,0	- 0,1 0,2	2,0 3,0** 2,5

Примітка:

Вірогідність розходження в концентрації вірус нейтралізуючих антитіл у вакцинованих тварин без застосування Поліоксидонію і з його застосуванням. ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$

Наші дослідження показали, що найкращий ефект для випробуваних з різними формами герпесу є високотехнологічний синтетичний препарат поліоксидоній (ПО).

В умовах in vivo ПО має більш складний і багатограний вплив на імунну систему. Так як розвиток будь-якої імунної відповіді починається з клітин моноцитарно-макрофагальної системи, і

тому що цитакіни, які продукуються моноцитами/макрофагами, мають плейотропний ефект, то посилення під впливом ПО їхньої функціональної активності веде до активації і клітинного, і гуморального імунітету. Так, зокрема, при введенні ПО разом з низькими дозами антигену відбувається посилення синтезу антитіл до цього антигену в 5-10 разів у порівнянні з контролем. Важливо від-

значити, що таке посилення можна спостерігати у тварин з генетично детермінованою слабкою реакцією на даний антиген. Таким чином, ПО має здатність приводити у рух усі фактори захисту організму від чужорідних агентів антигенної природи і цей рух поширюється природним шляхом так, як це відбувається при розвитку імунної відповіді в організмі. Ці спостереження дозволили нам зупинити свій вибір серед безлічі сучасних імуномодуляторів, саме на поліоксидонієві для його успішного використання в складі складної фармацевтичної антигерпетичної композиції.

Емпіричним шляхом нам удалося установити, що дуже ефективними компонентами у складі композиції є незамінні амінокислоти валін і лізин, а також ще деякі амінокислоти, які обрані нами з безлічі відомих амінокислот.

Використані нами амінокислоти мають наступні властивості крім загальновідомих:

Гістидин - входить до складу карнозину та ансерину, відіграє важливу роль в утворенні гемоглобіну, необхідний для вироблення еритроцитів. Сприяє регулюванню рівня цукру в крові і виробництву енергії.

Лейцин - необхідний для росту і заліковування кісток, м'язів. При його метаболізмі вивільняється енергія, сприяє стабілізації рівня цукру в крові. Виявлено, що його дефіцит може спровокувати в деяких випадках гіпоглікемію, затримку росту, зменшення маси тіла, зміни в нирках і щитовидній залозі.

Лізин - зміцнює імунну систему, сприяє росту кісток і утворенню колагену, поліпшує зосередженість, має пряму антигерпетичну активність. Нестача у їжі лізину призводить до порушення кровотворення (зменшується кількість еритроцитів, зменшується вміст у них гемоглобіну). Дефіцит може призвести до виснаження м'язів, порушення кальцифікації кісток, змін у печінці і легенях, особливо в пацієнтів літнього і старечого віку.

Метіонін - використовується для синтезу холіну, відомий як «ліпотропний» агент, тому що скорочує запас жирів у печінці та організмі в цілому і знижує кількість холестерину. Створює нову кісткову тканину, перешкоджає захворюванням нігтів, захищає нирки і є природним хелатуючим агентом для важких металів. Має велике значення для функцій надниркових залоз і синтезу адреналіну, що дуже важливо для регуляції обміну в уражених вірусом клітинах.

Фенілаланін - пов'язаний з функцією щитовидної залози і надниркових залоз, бере участь в утворенні ядра для синтезу тироксину - основного гормону щитовидної залози, бере участь в утворенні адреналіну. В організмі може перетворюватися в тирозин, який використовується для синтезу двох головних нейротрансмітерів, дофаміну і епінефрину, які регулюють клітинний метаболізм на нейрогуморальному рівні. Ефективний для контролю больових та свербіжних відчуттів. Крім того, завдяки виділенню холецистокиніну, фенілаланін пригнічуючи діє на апетит.

Валін - при дефіциті валіну може пошкоджуватися мієлінове покриття нервових волокон і виникати негативний водневий баланс організму, що

надзвичайно небезпечно для пацієнтів, уражених вірусною інфекцією.

Аланін - зміцнює імунну систему, бере участь у метаболізмі глюкози.

Аргінін - нестача може викликати випадання волосся, запори, хвороби печінки і повільне загоєння ран, у тому числі, викликаних ураженням вірусними токсинами.

Ізолейцин має унікальну властивість, яку у складі антивірусної вакцини використано вперше - ця амінокислота, яка надходить до організму лише ззовні (з їжею), стимулює вироблення в організмі людини (переважно в області кишківника) антимікробних пептидів, подібних до цекропінів, які здатні знищувати віруси герпесу.

Така композиція, особливо з додаванням мікроелементів, що підсилює імунну відповідь на введення препарату, дозволяє використовувати її для більш ефективної боротьби з вірусними ураженнями герпесом серотипів 1 і 2 і деяких хронічних форм цього захворювання.

Ще одним об'єктом винаходу є спосіб використання фармацевтичної протигерпетичної композиції шляхом введення її в організм, уражений вірусом герпесу, при цьому в організм вводять композицію, охарактеризовану вище, в ефективній дозі у вигляді придатної лікарської форми придатним шляхом, обраним із переліку: перорально, сублінгвально, інтраназально, ректально, вагінально, парентерально, субкон'юнктивально або у формі для розжовування.

Дія мікроелементів в імунній системі при герпесі вивчалася докладно при використанні супозиторіїв, які містять нашу композицію.

Існують наступні механізми дії мікроелементів (МЕ) в імунній системі:

1. Дія на специфічні рецептори.

На рецептори, локалізовані на цитоплазматичній мембрані: HLA-система, MHC-система (Ni, Cr, Hg).

Адгезини : селектини та інтегрини (Mn, Hg) .

Рецептори до трансферину (Al, Ga).

Рецептори, які беруть участь у ЕК-лізисі (Zn).

Рецептори цитокінів (Zn).

T - клітинний рецептор (Zn, Hg).

Рецептори до іонів кальцію і магнію (Zn, Mn, Be, Cd, Hg та ін.) .

Рецептор до імуноглобулінів (Zn).

На рецептори, локалізовані у внутрішньоклітинних компартментах: Мітохондрії (Fe, Zn), Цитоскелет LIM-білки (Zn, Se, Li) .

Внутрішньоклітинні рецептори до кальцію на мітохондріях, ендоплазматичному ретикуліумі (Cd, Zn).

2. Вплив на активність ферментів.

Багато з есенціальних МЕ є компонентами каталітичного центру ряду ферментів. Наприклад, Mn - есенціальна частина супероксиддисмутази (СОД) імуноцитів, Se - входить до каталітичного центру глутатіонпероксидази (ізофермент VI), Zn - найважливіша частина численних фінгерних білків, які регулюють рівень транскрипції інших внутрішньоклітинних білків. Існують також шляхи впливу МЕ на активність ферментів, що полягають у конкурентному інгібуванні або алостеричній активації

металоензимів. Наприклад, Zn - конкурентний інгібітор Ca^{+2} , Mд^{2+} - залежної ендонуклеази. Дана дія Zn визначила його провідну роль в імунній системі як анти-апоптичного фактора.

3. Вплив на активність гормонів. МЕ як складова частина гормонів.

Zn - ключовий компонент тимозину, гормону, які реалізує ефекти: тимуса на Т-клітинну ланку імунної системи.

МЕ і депонування гормонів.

Zn, Cr - беруть участь у депонуванні і стабілізації молекули інсуліну, який мультимодулює впливає на всі інсулін - залежні клітини організму, до яких відносяться і імуніти. Цинк забезпечує внутрішньоклітинне депонування і стабілізацію гормонів нейрогіпофіза.

Участь у деградації та елімінації гормонів.

Відомо, що ангіотензин-конвертуючий фермент є Zn-залежним. Участь у механізмі дії гормонів.

4. Вплив на білки-переносники.

Альбуміни.

Металотіонеїни, які синтезуються в мононуклеарних клітинах ретикуло-ендотеміальної системи організму.

Стресові білки, як універсальні білки синтезовані в клітинах у відповідь на стресові подразники (тепловий шок, голод, УФ-опромінення, вплив важких металів, хронічна інфекція).

5. Фізико-хімічна дія МЕ на мембрани імуніцитів.

Виявлено, що, наприклад, селен може мати антиоксидантний ефект, виступаючи як кофактор глутатіонпероксидази, яка забезпечує інактивацію вільних форм кисню, утворення яких в імунній системі забезпечує як знищення або елімінацію чужорідного агента (паразит, бактерія), так і при над-

лишковій продукції синглетного O_2 , H_2O_2 , OH викликає ушкодження мембранного апарата самих імуніцитів. Виникнення O_2 , H_2O_2 , OH пов'язане з індукцією реакцій Габер-Вейса та Фентона під впливом перехідних металів (Cu, Zn, Mn, Fe).

Таким чином, МЕ здатні при посередництві ферментативних і неферментативних механізмів перекисного окислювання ліпідів (ПОЛ), а також активації антиоксидантних механізмів регулювати фізико-хімічні властивості мембран клітин, у тому числі і властивість напівпроникності щодо різних біологічних субстратів (антигенів, інфекційних агентів, тощо).

6. Вплив на презентацію, внутрішньоклітинний процесинг і деградацію антигенів (див. пункт 1).

7. Вплив на формування імунологічної пам'яті, а також, ймовірно, при тривалому існуванні клітин-пам'яті відіграють роль антиапоптичні МЕ (Zn, Se та ін.)

8. Вплив на продукцію імуноглобулінів (Zn, Be).

9. Вплив на процеси хемотаксису, адгезії і фагоцитозу [6,7].

Численні випробовування на лабораторних тваринах дозволили вибрати найбільш ефективні мікроелементи для включення їх до складу розробленої нами лікарської форми (супозиторій): 2-3 мікроелементи, обрані із групи: цинк, хром, селен та нікель. Присутність у складі лікарської форми зазначених мікроелементів підсилює дію обраного нами імуномодулятора на 25-30% у порівнянні з контролем (без МЕ).

Нижче приводимо таблицю 2, де показаний рівень імунологічних показників в експериментальних тваринах, заражених вірусом герпесу, до і після введення до складу композиції утримуючого амінокислоти, у тому числі ізольцій, поліоксидонія.

Таблиця 2

Показники	До введення поліоксидонія	Після введення поліоксидонія
Лейкоцити (абс)	$7,6 \pm 0,2$	$7,5 \pm 0,1$ $p > 0,05$
Лімфоцити %	$31,1 \pm 1,9$	$31,8 \pm 2,3$ $p > 0,05$
CD 3+ %	$58,5 \pm 2,2$	$72,1 \pm 1,3$ $p < 0,005$
CD 4 + *	$30,5 \pm 1,1$	$41,4 \pm 1,32$ $p < 0,005$
CD 8+ %	$18,0 \pm 0,5$	$22,8 \pm 0,7$ $p < 0,005$
CD 16 %	$8,7 \pm 1,3$	$11,5 \pm 1,2$ $p < 0,05$
Ig A мг %	$250 \pm 6,5$	$265,2 \pm 6,2$ $p > 0,05$
Ig G мг %	$1502,1 \pm 31,3$	$1575,2 \pm 30,5$ $p > 0,05$
Ig M мг %	$175,7 \pm 9,6$	$182,1 \pm 7,8$ $p > 0,05$
Нейтрофільний фагоцитоз %	$52,1 \pm 2,3$	$67,3 \pm 6,1$, $p < 0,005$

З таблиці видно вплив ПО на імунологічні показники, де вірогідно збільшується клітинний імунітет і рівень імунокомпетентних білків. Необхідно відзначити, що введення до композиції амінокислот (валіну і лізину, а також ізольцій, крім того комбінації, яка складається не менше, ніж з 2-х амінокислот, обраних з групи: фенілаланін, лейцин, аланін, треонін, гістидин, аргінін, метіонін) у всіх запропонованих нами поєднаннях прискорювало реепітелізацію уражених тканин (від 15 до 36% у порівнянні з прототипом, див. вище) залежно від виду вірусу. Введення до композиції поліо-

ксидонія разом з амінокислотами не тільки активувало імунітет, що дозволило значно продовжити період ремісії, прискорити процес реепітелізації та загоєння шкіри, а в деяких випадках практично домогтися виліковування деяких хронічних форм захворювання в окремих тварин (12% з усіх піддослідних).

Композиція, охарактеризована вище, може бути виконана у вигляді 5 лікарських форм, у яких як носій використовують тверді, м'які або рідкі речовини.

Композиція за умови використання твердих носив має кінцеву форму таблетки, драже, гранул, саше або порошку, поміщеного у капсулу.

Композиція за умови використання рідких носіїв має кінцеву форму розчину, гелю, емульсії, суспензії, мікстури, сиропу або лініменту.

Композиція за умови використання м'яких носіїв є маззю, кремом, пастою, супозиторієм, імплантантом, жувальною таблеткою або пастилкою.

Одержання названих фармацевтичних форм проводилося за допомогою стандартних процедур і звичайно прийнятих у таких випадках допоміжних речовин.

Іншим об'єктом винаходу є спосіб приготування супозиторія на основі вищезгаданої фармацевтичної композиції за допомогою стандартної технології виготовлення свічок, при цьому в масу свічки на основі масла какао, додатково вносять активні компоненти вищеприписаної фармацевтичної композиції за стандартною технологією, і 2-3 мікроелементи, обрані із групи: цинк, хром, селен і нікель. Набір мікроелементів у вигляді розчинних хелатних форм вводять до складу супозиторія в кількості 0,01-0,08% до загальної маси.

Результати випробування отриманих супозиторіїв на групі з 7-6 експериментальних тварин показали, що використання нового препарату не тільки активізувало імунітет, але дозволило значно продовжити період ремісії, прискорити процес реепітелізації і загоєння шкіри і слизових тканин, а в деяких випадках практично домогтися вилікування захворювання в окремих особин (12% із усіх випробуваних хронічною формою захворювання).

На нашу думку, неабияку роль у цьому результаті зіграло включення до складу супозиторія життєво важливих інгредієнтів, які регулюють обмінні процеси на усіх рівнях, а саме: ПО, валіну і лізину, ізолейцину, який стимулює вироблення клітинами кишківника пептидів, які блокують вірус (типу цекропінів), вітамінів усіх груп, а також МЕ: цинку, хрому, селену і нікелю.

Винахід підтверджується конкретними випробуваннями на тваринах.

Основні показники ефективності (у порівнянні з близьким аналогом). Час досягнення місцевого одужання (повна реепітелізація) скоротився на 15-36%, тривалість ремісії збільшилася в середньому до 6-7 міс, відсутність вірусу в мазку (ПЦР-діагностика) у 98,7% випадків, активація протівірусного імунітету, практично повне вилікування в 12% спостережень за тваринами.

Серед піддослідних тварин (герпетичний кера-тит у кроликів, генітальний герпес у морських свинок) 52 особи були уражені вірусом простого (серотипів 1 і 2) герпесу в гострій формі, а 24 хронічною формою простого герпесу. Тварини з гострою формою були розділені на три групи: у 1-й групі проводилося лікування герпетичною вакциною, описаною в прототипі, у 2-й - новою фармацевтичною композицією, у контрольній групі тварини одержували хіміотерапію у вигляді мазей і розчинів, які містять відомі антигерпетичні препарати. Група тварин із хронічною формою одержу-

вала нові супозиторії з повним набором амінокислот, вітамінів і мікроелементів.

Результати. - У 1-й групі повна реепітелізація наставала в середньому на 6-й день лікування, у той час як у 2-й групі повна реепітелізація відзначалася в середньому вже на 4-5-й день лікування. У групі контролю повне місцеове видужання констатувалося в середньому на 7-10-й день від початку лікування. При цьому вірус у контрольних мазках не визначався в 95,2% 1-ої групи, у 97,8% 2-ої групи й у 92,5% групи контролю. Тривалість ремісії до 4-х місяців, відбулася в 92% випадків у першій групі і до 6-7 місяців у 85% випадків у другій групі. У той же час у групі контролю тривалість ремісії до 4-місяців відбулася лише в 28%. Високоінтенсивна імунна відповідь реєструвалася в 1-й групі в 92,1% випадків, тоді як у 2-й групі в 98,6% при чіткій вірогідності ($p < 0,01$). Так у сироватці крові піддослідних обох груп (у другій групі на 11-18% вище) після лікування відзначалася тенденція до збільшення процентного та абсолютного вмісту природних кілерних клітин, цитотоксичних Т-лімфоцитів фенотипів CD8+, а також виявлялася активація вірус-індукованого ІФ а (індекс фагоцитозу) мітоген-індукованого ІФ д.

Отриману фармацевтичну суспензію, узятую в кількості 20мл змішують з 0,01-0,03мл кожного з розчинів солей 2-3-х МЕ та маслом какао до загальної маси 100г, з отриманої маси виготовляють відомим способом свічки масою 0,15 - 0,20г кожна. Свічка містить ≤ 400 мкг/г білка, має залишкову вологість $\leq 2,2\%$ і фізіологічне значення pH $7,3 \pm 0,2$, нетоксична і здатна індукувати у пацієнтів синтез антитіл, які нейтралізують віруси, при індексі нейтралізації, рівному 3,0Ід ТЦД₅₀/мл за ВПГ-1 і 2,0Ід ТЦД₅₀/мл за ВПГ-2, де ТЦД₅₀ означає дозу, яка викликає цитопатичний ефект у 50% інфікованих вірусом пробірках з моношаром клітин.

Завдяки створенню нової високоімунотенної композиції, зберігаються антигенність і стабільність специфічної активності препарату, підсилюються антигерпетичні властивості окремих органів на клітинному рівні, підвищується і пролонгується опірність організму не тільки при гострій, але і при хронічній герпетичній інфекції.

Література:

1. Д.А.Харкевич «Фармакологія», ГЕОТАР-МЄД, 2002р., стор.549-550.
2. Хаїтов Р.М. «Іммуногенетика і іммунологія: резистентність к інфекції», Ташкент, 1991.
3. Петров Р.В., Хаїтов Р.М. «Вакцини нового покоління на основі синтетических поліонів: історія створення, феноменологія і механізми дійства, внедреніє в практику». International journal on immunorehabilitation. - 1999, N11, p. 13 - 36.
4. Хаїтов Р.М., Ігнат'єва Г.А., Сідоровіч І.Г., «Іммунологія», М., 2000.
5. Horwitz A.H., Williams R.E., Liu P.-S., Nadell R. «Antimicrob. Agents Chemother.», 1999, 43, 2314-2316.
6. Скальний А.В. «Мікроелементози человека (діагностика і леченіє)», Москва, 1997.
7. Хаїтов Р.М. та ін. «Екологіческая іммунологія», Москва, 1995.

