



УКРАЇНА

(19) UA (11) 57416 (13) U
(51) МПК
A61K 33/28 (2011.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЛІКАРСЬКИЙ ПРЕПАРАТ "МЕРКУРИД" - МОДУЛЯТОР АПОПТОЗУ, ЩО МАЄ ПРОТИПУХЛИННУ, ПРОТИВІРУСНУ, ПРОТИПАРАЗИТАРНУ ТА ІМУНОМОДУЛЮЮЧУ ДІЮ

1

2

(21) u201009884

(22) 09.08.2010

(24) 25.02.2011

(46) 25.02.2011, Бюл.№ 4, 2011 р.

(72) ГУСЄВ СЕРГІЙ МИКОЛАЙОВИЧ, ГУСЄВ РУСЛАН СЕРГІЙОВИЧ, ГРАММА ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ

(73) ГУСЄВ СЕРГІЙ МИКОЛАЙОВИЧ, ГУСЄВ РУСЛАН СЕРГІЙОВИЧ, ГРАММА ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ

(57) 1. Лікарський препарат - модулятор апоптозу, що має протипухлинну, протівірусну, імуномодулюючу і протипаразитарну дію, що містить комплекс ртуті з цистеїном або метіоніном і дистильовану воду, який **відрізняється** тим, що як

комплекс ртуті з цистеїном або метіоніном він містить хелатний комплекс ртуті з цистеїном формули $C_6H_{13}O_4N_2S_2HgCl$ або з метіоніном формули $C_{10}H_{21}O_4N_2S_2HgCl$ при наступному співвідношенні вказаних компонентів, мас. %:

хелатний комплекс ртуті з цистеїном або метіоніном	0,38-0,52
дистильована вода	решта.

2. Лікарський препарат за п. 1, який **відрізняється** тим, що хелатний комплекс ртуті з цистеїном він містить у кількості 0,38-0,49 мас. %.

3. Лікарський препарат за п. 1, який **відрізняється** тим, що хелатний комплекс ртуті з метіоніном він містить у кількості 0,4-0,52 мас. %.

Корисна модель відноситься до експериментальної медицини, конкретно до лікарського препарату "МЕРКУРИД", який є модулятором апоптозу і має протипухлинну, протівірусну, імуномодулюючу і протипаразитарну дію.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється є патент України на винахід №55308, в якому наведений засіб, що має імуномодулюючу, протівірусну, протипухлинну і протиалергічну дію, який містить комплекс ртуті з цистеїном формули $Hg(C_3H_6O_2SN)_2$ або з метіоніном формули $Hg(C_5H_{10}O_2SN)_2$ і розчинник - дистильовану воду або безалкогольний бальзам "ВИН-ВИТА", при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

комплекс ртуті з цистеїном або метіоніном	0,048-0,066
дистильована вода або безалкогольний бальзам "ВИН-ВИТА"	до 100.

Прототип і корисна модель, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- комплекс ртуті з цистеїном або метіоніном;
- дистильована вода.

Засіб, описаний в патенті України №55308, має імуномодулюючу, протівірусну, протипухлинну і протиалергічну дію, проте він не має протипа-

разитарної дії. Він також не проявляє властивостей модулятора апоптозу. Внаслідок цього він не сприяє уповільненню процесу старіння організму.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити новий лікарський препарат - модулятор апоптозу, що має протипухлинну, протівірусну, імуномодулюючу і протипаразитарну дію.

Поставлена задача вирішена лікарським препаратом "МЕРКУРИД" - модулятором апоптозу, що має протипухлинну, протівірусну, імуномодулюючу і протипаразитарну дію, що містить комплекс ртуті з цистеїном або метіоніном і дистильовану воду, тим, що як комплекс він містить хелатний комплекс ртуті з цистеїном формули $C_6H_{13}O_4N_2S_2HgCl$ або з метіоніном формули $C_{10}H_{21}O_4N_2S_2HgCl$ при наступному співвідношенні вказаних компонентів, мас. %:

хелатний комплекс ртуті з цистеїном або метіоніном	0,38-0,52
дистильована вода	решта.

При цьому хелатний комплекс ртуті з цистеїном лікарський препарат містить у кількості 0,38-0,49 мас.%, а з метіоніном - у кількості 0,4-0,52 мас. %.

Отримані хелатні комплекси принципово відрі-

(13) U
(11) 57416
(19) UA

зняються від комплексів за патентом України №55308 та інших сполук аналогічного призначення тим, що:

а) мають інші структуру, хімічний склад і молекулярну масу;

б) мають подвійну хімічну природу, так як, будучи носієм іона Hg^{2+} , вони одночасно зберігають властивості сірковмісних амінокислот.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, і результатом, який досягається, можна пояснити наступним.

Схильність цистеїну до окислення, що призводить до втрати ним біологічної активності, зумовила необхідність створення нових терапевтичних форм, які мають більшу стійкість. Такими препаратами виявилися змішані солі цистеїну, отримані шляхом збільшення металів (Mg, Ca) до водного розчину цієї амінокислоти. Розчини цих солей мають вищу біологічну активність, ніж цистеїн. Цистеїн застосовується у фармацевтичній промисловості, він використовується для поліпшення властивостей ряду лікарських препаратів і служить як їх стабілізатор (М.С. Садовникова, В.М. Беликов, 1977). Ця задача була сформульована ще в 1977 році.

Цистеїн є попередником з'єднань, що містять сірку, в організмі людини і джерелом сірки в процесах детоксикації. Очевидно, що безпосередня участь цієї амінокислоти в процесах детоксикації організму є важливою передумовою для обґрунтування її застосування при отриманні різних ртутновмісних препаратів і має істотне значення для забезпечення нешкідливості цих препаратів для організму.

Метіонін - незамінна сірковмісна амінокислота необхідна для росту в розвитку молодого організму, підтримання маси тіла і азотистої рівноваги дорослих особин. При порушенні живлення відсутність метіоніну є однією з перших причин порушення процесів синтезу білку в організмі. При білковій недостатності у експериментальних тварин введення метіоніну швидко усуває порушення азотистого обміну. Особлива роль метіоніну в обміні речовин пов'язана з тим, що в його молекулі знаходиться рухлива метильна група, яка може передаватися на інші сполуки в процесі переметильовування. Так, метіонін забезпечує метильні групи для ендogenous синтезу холіну. Він входить до складу молекули лецитину. З цією здатністю метіоніну пов'язаний його ліпотропний ефект. Метіонін не лише бере участь в синтезі білків і фосфоліпідів, він служить джерелом метильних груп при синтезі цистеїну, холіну, адреналіну, креатину, саркозину, ансерину. З цієї амінокислоти в гепатоцитах синтезується таурин, таурохолеві кислоти. Метіонін сприяє синтезу глутатіону в печінці. Метіонін, цистин і цистеїн є попередниками усіх з'єднань, що містять сірку в організмі і джерелами сірки в процесах детоксикації.

Ртуть і її сполуки здатні здійснювати багатогранну коригуючу дію на різні системи організму, що обумовлює її роль в підтримці гомеостазу. Іони ртуті (Hg^{2+}) мають найвищу з усіх елементів здатність до комплексоутворення з органічними речовинами, особливо у випадках, коли в ролі ліганда

виступає макромолекула, що зв'язується з металом по декількох донорних групах (утворення хелатних комплексів). Комплекс ртуті з амінокислотами є хелатним. Для нормального функціонування організму мікроелементний склад має бути постійним, тобто повинен підтримуватися мікроелементний гомеостаз. Звичайні мікроелементи, коли їх концентрація в організмі перевищує біотичну концентрацію, проявляють токсичну дію на організм. Токсичні елементи при дуже малих концентраціях не роблять шкідливої дії на рослини і тварин. Наприклад, миш'як при мікроконцентраціях чинить біостимулюючу дію. Таким чином, до токсичних елементів відносяться хімічні елементи, що чинять негативний вплив на живі організми, який проявляється тільки досягши деякої концентрації, яка визначається природою організму. Максимальну токсичність проявляють найбільш хімічно активні частки, координаційно ненасичені іони, до яких слід віднести іони вільних металів. Зниження електрофільних властивостей іона відповідно призводить до зниження його токсичної дії на організм. Хелатрування вільних іонів металу полідентатними лігандами перетворює їх на стійкі, більш координаційно насичені частки, не здатні зруйнувати біокомплекси, а, отже, малотоксичні. Вони мембранопроникні, здатні до транспортування і виведення з організму. Таким чином, токсичність елементу визначається його природою, дозою і молекулярною формою у складі якої знаходиться елемент.

Різносторонній характер дії ртуті на організм, регуляція найважливіших біохімічних процесів вказує на перспективність розробки на основі її з'єднань нових ефективних лікарських препаратів. У гомеопатичній літературі описаний ряд випадків, в яких саме препарати ртуті допомагали у важких випадках патології, що носить хронічний характер, який не піддається лікуванню. *Mercurius vivis i solubilis*, "*dulcis*", "*corrosivus*", "*aceticus*", "*protojodatus*", "*bidjodatus*", "*cyanatus*", *Cinnabaris Mercurius sulphuricus* - ось неповний перелік гомеопатичних препаратів ртуті. Як впливає з вищесказаного, застосування ртуті є важливою частиною практики продовження життя, підтримка гомеостазу. Тому цілком закономірний інтерес до цього елементу і його сполук як до лікарських засобів у наш час, в умовах погіршення екологічної обстановки і появи нових небезпечних видів інфекції, що ставлять людство на межу виживання. Ртуть постійно присутня в організмі, її введення в кількостях, відповідних фізіологічній концентрації, виявляє стимулюючу дію на процеси життєдіяльності. Біотичний ефект ртуті визначається її здатністю вступати в оборотні реакції з функціонально активними групами біомолекул (пептидів, білків), причому активність цих груп в реакціях з ртуттю зменшується в ряду: $-SH > -CONH_2 > -NH_2 > -COOH > PO_4$.

Максимальна спорідненість ртуті до $-SH$ (тіоловим, сульфгідрильним) групам обумовлює пріоритетний характер їх взаємодії. Тіолові групи є найважливішими функціональними групами білків, вони беруть участь у формуванні їх просторової структури і, відповідно, активних центрів шляхом

утворення дисульфідних зв'язків (-S-S-) між залишками цистеїну в різних ділянках одного пептидного ланцюга або в окремих пептидних ланцюгах білкової молекули. В той же час, іони ртуті (Hg^{2+}) мають найвищу з усіх елементів здатність до комплексоутворення з органічними речовинами, а комплекси перехідних елементів, як відомо з вищесказаного, є джерелами мікроелементів в біологічно активній формі, що володіють високою мембранопроникністю і ферментативною активністю.

Як вказувалося вище, ученими різних країн створений ряд препаратів, в яких знайшли застосування корисні властивості сполук ртуті. Тому дослідження, спрямовані на отримання комплексів ртуті, що мають виражену протипухлинну, анальгетичну, імунomodуючу і протівірусну дію, відрізняються в той же час стабільністю складу і, через це, високою передбачуваністю застосування в медицині, залишаються актуальними.

Безперечний інтерес в цьому сенсі представляють комплекси ртуті з сірковмісними α -амінокислотами, оскільки вони, будучи елементами структури складних молекул білків, і у вигляді індивідуальних речовин мають значну біологічну активність, що дозволяє чекати комплексного терапевтичного ефекту при застосуванні препаратів на їх основі.

Приклади здійснення винаходу.

Приклад 1. Отримання хелатного комплексу ртуті з метіоніном.

До 40 мл водного розчину 0,02 моля метіоніну підливають 50 мл водного розчину 2,71 г дихлориду ртуті і при інтенсивному перемішуванні магнітною мішалкою витримують при температурі 35°C протягом 90 хвилин. Осад випадає після охолодження розчину до температури $18-20^{\circ}\text{C}$, і при цій температурі реакційну суміш залишають на добу.

Потім осад промивають крижаною водою обробляють ацетоном і сушать при кімнатній температурі до постійної маси. Осад білого кольору, дрібнокристалічний, майже аморфний.

Вихід 3,48г або 65% від теоретично можливого.

Молекулярна маса отриманої речовини, визначена методом мас-спектрометрії, складає 532,5 а.о.м. Отриманий комплекс має формулу $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}_2\text{HgCl}$.

Результат елементного аналізу наведений в таблиці 1.

Приклад 2. Отримання хелатного комплексу ртуті з цистеїном.

До розчину 2,42 г (0,02 моля) цистеїну в 30 мл дистильованої води підливають 50 мл водного розчину 2,71 г дихлориду ртуті (II) і при інтенсивному перемішуванні магнітною мішалкою витримують при 40°C протягом 60 хвилин та залишають при кімнатній температурі ($18-20^{\circ}\text{C}$) на 24 години. Осад, що випав відділяють на воронці Бюхнера після витримки реакційної маси протягом 2 годин в крижаній суміші з NaCl. Осад білого кольору, кристалічної структури. Після промивання водою і обробки ацетоном його сушать до постійної ваги.

Вихід 3,8 г або 80% від теоретично можливого.

Отриманий комплекс має формулу

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}_2\text{HgCl}$. Молярна маса, визначена методом мас-спектрометрії, складає 476,5 а.о.м.

Ртуть визначали на атомно-адсорбційному спектрометрі "Сатурн" (похибка визначення $\pm 5\%$).

Результат елементного аналізу наведений в таблиці 2.

Приклад 3. Лікарський препарат Меркурід М є водним розчином хелатного комплексу ртуті з метіоніном наступного складу, мас. %:

$\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}_2\text{HgCl}$	0,44
дистильована вода	99,56.

Приклад 4. Лікарський препарат Меркурід С є водним розчином хелатного комплексу ртуті з цистеїном наступного складу, мас. %:

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_4\text{N}_2\text{S}_2\text{HgCl}$	0,38
дистильована вода	99,62.

Приклади 5-8 ілюструють приготування лікарських препаратів Меркурід М і Меркурід С при різному масовому співвідношенні компонентів. Дані наведені в таблиці 3.

Опис фармакологічної активності препаратів

Вивчення хронічної токсичності препаратів Меркурід М і Меркурід С.

Виконавець: Український НДІ хвороб очей і тканинної терапії ім. В.П. Філатова, м. Одеса.

Результат: Препарати Меркурід М і Меркурід С, при хронічному застосуванні в 10-кратній терапевтичній дозі не викликають будь-яких токсичних змін в організмі щурів. Препарати добре переносяться (тварини охоче, добровільно його пили), покращує мотиваційні характеристики поведінки, зовнішній вигляд щурів, що в цілому можна охарактеризувати як адаптаційно-стимулюючий вплив. Препарати здійснили позитивний вплив на Т-клітинну ланку імунної системи у вигляді збільшення числа цитотоксичних Т-лімфоцитів.

Вивчення гострої токсичності препаратів Меркурід М і Меркурід С.

Виконавець: Національний фармацевтичний університет, м. Харків.

Результат: В результаті досліджень встановлено, що препарати Меркурід М і Меркурід С за токсичністю відносяться до класу - малотоксичних речовин, $501 < \text{LD}_{50} < 5000$ мг/кг.

Протипухлинна дія

Група 30 пацієнтів з метою підвищення протипухлинної резистентності зі встановленим діагнозом рак (рак легенів - 8 чоловік, рак шлунку - 7, рак передміхурової залози - 4, рак яєчників - 6, рак матки - 5) приймала по 5 мл 3 рази в день, перорально препарат протягом місяця за 30 хвилин до прийому їжі. Пацієнти здавали імунологічне дослідження до і після лікування. Пацієнти, що приймали комплекс з цистеїном позначені - Меркурід С, з метіоніном - Меркурід М. Результати наведені в таблиці 4.

Як видно за результатами представленого дослідження, прийом препарату сприяв підвищенню власних чинників протипухлинної захищеності організму. 12 пацієнтів після цього змогли отримати інтенсивнішу хіміотерапію, яку добре перенесли, без ускладнень для організму. 5 була запропонована променева терапія, яку вони раніше не могли отримувати за станом здоров'я. У 17 пацієнтів було відмічено зменшення розмірів пухлини і метас-

таз від 20 до 40%. Усі пацієнти відзначали хорошу переносимість препарату, зручність застосування, відсутність побічних ефектів, нормалізацію сну, настрю.

Таким чином, прийом препарату:

- 1) нормалізує рівні популяцій CD3+(Т-лімфоцитів), CD19+(В-лімфоцитів);
- 2) Активізує фагоцитоз;
- 3) Відновлює рівні IgA, IgM, IgG - гуморальних чинників імунітету;
- 4) сприяє розвитку Th1 - залежної відповіді, що виконує захисну роль при пухлинах;
- 5) активує функцію Т-хелперів I типу і пригнічує функцію Т-хелперів II типу, що проявляється посиленням синтезу гамма-інтерферона, ІЛ-2, ІЛ-12 ПНФ-α і зниженням продукції ІЛ-10.
- 6) нормалізує антигенпредставляючі функції клітин CD4+;
- 7) підвищує активність CD16+ (природних кілерів) і цитотоксичних лімфоцитів CD8+ відповідальних за знищення пошкоджених клітин, нездібних до регенерації і аномальних - злоякісних клітин організму;

8) підвищує кількість молекул CD80+, найважливішої коstimуючої молекули, яка посилює імуногенність трансформованих клітин, відмінюючи тим самим анергію цитотоксичних лімфоцитів і отже підвищуючи цитоліз пухлинних клітин імункомпетентними клітинами організму;

9) препарат нормалізує вироблення ІЛ-2, який підвищує цитолітичну функцію Т-кілерів і NK-клітин, збільшує продукцію цими клітинами перфоринів та інтерферона-гамма, активує моноцити і макрофаги, які підвищують синтез і секрецію ПНФ-α ІЛ-1в, ІЛ-6, ІЛ-8.

При лікуванні злоякісних новоутворень цей засіб можна застосовувати як препарат-супроводження при хіміо- і радіопротерапії, що підвищує ефективність терапії, завдяки здатності препарату захищати здорові клітини від хімічного і променевого ураження. Завдяки наявності вільної - SH групи він має виражену дезінтоксикаційну властивість. Це дозволяє застосовувати інтенсивніші схеми терапії з використанням сильнодіючих хіміопрепаратів і опромінення у великих дозах. Відновлює чутливість пухлинних клітин до цитостатиків. Попереджає випадання волосся, знижує вегетативні, диспепсичні і больові синдроми. Сприяє нормалізації якості життя, а також відновленню протипухлинних функцій імунітету. Збільшує здатність організму самостійно знищувати ракові клітини. Відновлює кількість лейкоцитів і лімфоцитів, сприяє їх проліферації і диференціювання для розвитку адекватних імунологічних реакцій організму проти пухлинних клітин.

Противірусна дія

Вірус - це внутрішньоклітинний паразит. Препарат дозволяє активізувати власні імунологічні чинники для боротьби з вірусом, і не має значення, який саме вірус атакував організм. Це може бути вірус герпесу, гепатиту. Секреторний IgA (sIgA) діє як перша лінія імунного захисту слизових оболонок, яка нейтралізує патогени. Дослідження показали, що присутність секреторного IgA корелює із стійкістю до інфікування різними патогенами

бактерійної, вірусної і грибової природи.

Секреторний IgA - головний специфічний чинник імунітету слизових оболонок.

1. Захищає усі слизові оболонки від поселення і проникнення у внутрішнє середовище організму патогенних мікроорганізмів.

2. Секреторний IgA нейтралізує бактерійні токсини, локалізує віруси, стимулює фагоцитоз, забезпечуючи місцеву резистентність до інфекції.

3. Посилює антибактеріальний, противірусний захист організму.

Відомо, що в їжі, воді, повітрі знаходяться різні бактерії, віруси, які при попаданні в організм можуть викликати його захворювання. Першим бар'єром який переймає на себе цей удар, є слизові оболонки нашого організму: ока, порожнини носа, дихальних шляхів, травний канал і сечостатевої шляхи. Головним специфічним механізмом захисту є секреторний імуноглобулін А. Ці антитіла розташовуються на поверхні слизових оболонок і служать для нейтралізації бактерій, вірусів, алергенів, вони не дають їм проникнути всередину організму і розвинути хворобу.

Група з 27 пацієнтів із встановленим діагнозом (грип - 18, вірусний гепатит С - 9 чоловік). Приймали на протязі 30 днів по 5 мл препарату перорально, за 30 хвилин до прийому їжі 3 рази в день. До і після лікування були проведені імунологічне обстеження. Пацієнти, що приймали комплекс з цистеїном, позначені - Меркурід С, з метіоніном - Меркурід М. Результати наведені в таблиці 5.

Як видно з результатами представлених дослідження, прийом препарату сприяв підвищенню власних чинників противірусної захищеності організму.

1. Препарат нормалізує рівні популяцій CD3+(Т-лімфоцитів), CD19+(В-лімфоцитів).

2. Активізує фагоцитоз.

3. Сприяє розвитку Th1-залежної відповіді, що виконує захисну роль при вірусних процесах. Активує функцію Т-хелперів I типу і пригнічує функцію Т-хелперів II типу, що проявляється посиленням синтезу інтерферонів, ІЛ-2, ІЛ-12, ПНФ-α і зниженням продукції ІЛ-10.

4. Нормалізує антигенпредставляючі функції клітин CD4+.

5. Підвищує активність CD16+ (природних кілерів) і цитотоксичних лімфоцитів CD8+, відповідальних за знищення клітин, інфікованих вірусом.

6. Збільшуючи вироблення лімфоїдними клітинами секреторного імуноглобуліну А, який нейтралізує бактерійні токсини, локалізує віруси, стимулює фагоцитоз, забезпечуючи місцеву резистентність до інфекції.

У групі пацієнтів з діагнозом "гепатит С", за результатами ПЛР дослідження плазми крові відмічено зменшення вірусного навантаження в 10 разів: з 1,7-106 до 1,4-105 РНК HCV копій/мл (тест-система АмпліСенс).

За результатами біохімічних досліджень, УЗД печінки, селезінки, жовчного міхура відмічена нормалізація розмірів органів. Прийом препарату активізує процеси регенерації печінки, сприяє заміщенню загинувших гепатоцитів здоровими. Проявляє антиоксидантний і мембраностабілізуючий ефект,

запобігає розвитку дистрофії, цитолізу і холестази. Сприяє нормалізації рівня білірубину й активності трансаміназ в сироватці крові. Активізуючі функції печінки препарат сприяє прискоренню видалення з організму ксенобіотичних агентів і токсичних продуктів життєдіяльності.

Застосування препарату ефективне у хворих при хронічних і рецидивуючих вірусних і бактеріальних інфекціях, а також у хворих з вторинним імунodefіцитним станом, що асоціюється з вірусами герпесу, цитомегаловірусу, вірусами гепатиту, грипу.

Імуномодулююча дія

Дослідження *in vitro* є досить доказовими і дозволяють оцінити впливи препаратів Меркурід на клітинні субпопуляції і реакцію бласттрансформації (РБТЛ). Це робота виконана на клінічній базі кафедри імунології і алергології Національного медичного університету ім. А.А. Богомольця, м. Київ, під керівництвом проф. Дранника Г.М.

Загальновідомо, що найбільш оптимальні ті методи лікування, які активують захисні сили самого організму, його адаптивні реакції. Встановлення жорстких схем лікування, зазвичай з використанням максимальних (ударних) дозувань лікарських препаратів, не відповідає цій задачі. Перспективне використання для корекції імунних порушень т.з. чинників малої інтенсивності. Це особливо актуально, коли потрібно не подавити, а відновити. Низькі по силі, але адекватні дії мають ту перевагу, що вони активують тільки порушену ланку, не чіпаючи інших, нормально функціонуючих систем.

У дослідженні взяло участь 30 чоловік. Жінок - 10 (з діагнозом: хр. бронхіт, гастрит, цистит). Вік від 22 до 57 років. Середній вік - 39 років. Чоловіків - 20 чоловік, з діагнозом: хр. простатит, бронхіт. Вік 21-61. Середній вік 41 рік. Для дослідження бралася кров, визначалося число "CD" клітин, методом моноклональних антитіл, потім додавався Меркурід і оцінювалася функціональна активність клітин імунної системи. Меркурід С додавався донорам крові з непарним номером, а Меркурід М - донорам з парним номером. Отримані результати зведені в таблицю 6.

Аналіз представлених даних показує, що у випадках, де рівень Т-лімфоцитів на нижній межі норми, після додавання препарату відзначається підвищення вмісту Т-лімфоцитів. В той же час, при високому рівні Т-лімфоцитів (наприклад, випадки 2, 13 і 18), препарат, навпаки, знижує їх вміст. Цікаво відмітити, що у випадках 2, 18 при незначному зниженні високого рівня Т-лімфоцитів відбувається значне підвищення патологічно пониженого рівня В-лімфоцитів. Тут же відзначається зниження Т-хелперів і підвищення Т-цитотоксичних при зниженні бласттрансформаційної активності Т-лімфоцитів, що відбиває явну тенденцію до стимуляції гуморальної ланки. Очевидна стимуляція гуморальної ланки імунної системи у випадках 3, 4, 6 і 8 також супроводжується зменшенням бласттрансформаційної активності Т-лімфоцитів.

Найбільш помітна бласттрансформаційна активність відмічена лише у випадку 1, де збільшення рівня Т-лімфоцитів відбувається на фоні нормаль-

ного стану гуморальної ланки. При одночасній стимуляції гуморальної ланки (випадки 3 і 7) бласттрансформаційна активність знижується.

Таким чином, можна відмітити дію препаратів Меркурід на клітинні субпопуляції імунної системи, що має характер м'якої модуляції.

Важливим моментом є те, що ми спостерігали активацію лімфоцитів під дією препаратів Меркурід. Активація лімфоцитів - процес, на якому базуються усі імунологічні реакції. Суть активації зводиться до переходу клітини в стан, з яким пов'язано виконання функцій і прояв специфічної активності клітини.

Отриманий результат - наслідок імуномодулюючої дії препарату, оскільки з наданих даних виходить, що об'єктом корекції лікарського засобу Меркурід є тільки порушені показники імуногенезу, і цей ефект більш виражений там, де є значніші зміни. Причому це дія завжди індивідуальна і, мабуть, спрямована на реалізацію саме тих імунологічних реакцій, які найбільш прийнятні для конкретного хворого.

За результатами проведених досліджень *in vivo* і *in vitro* можна зробити висновок, що Меркурід:

- регулює синтез цитокінів макрофагами (ІЛ-1, ІЛ-6, ПНО-альфа) і лімфоцитами (ІЛ-2);
- посилює фагоцитоз;
- регулює проліферацію Т-лімфоцитів;
- регулює проліферацію ЕК-клітин;
- регулює синтез антитіл;
- стимулює синтез інтерферону.

Крім того, як показали проведені дослідження, препарати Меркурід С і М проявляють особливу тропність до слизових оболонок і нормалізують вироблення основного специфічного чинника захисту слизових оболонок - sIgA, а це зумовлює новий механізм коригуючої дії на імунну систему. Основною функцією лімфоїдних утворень слизових оболонок є вироблення антитіл - імуноглобулінів А, які потрапляють до складу секретів, і там, у вигляді секреторної форми IgA (sIgA) виявляють захисну дію. Цей захист включає опсонізацію і аглютинацію мікроорганізмів, бактеріостатичну дію, попередження адгезії мікроорганізмів до епітелію і тим самим проникнення їх углиб слизових оболонок, а також нейтралізацію бактеріальних токсинів, вірусних часток.

Головні відмінності Меркуріда від інших препаратів, що впливають на імунітет:

1) прийом препарату стимулює імунну відповідь слизових оболонок, що призводить до мобілізації імунних клітин не лише в слизовій оболонці, але і в масштабах усього організму, тоді як стимулювання імунної системи іншими імунними препаратами здатне привести до вироблення антитіл в організмі, але може не викликати відповіді слизових оболонок;

2) об'єктом дії є тільки порушені показники імуногенезу, що нормально функціонують не зачіпаються;

3) застосування препарату носить характер м'якої коригуючої дії, не викликаючи гіперактивації імунних клітин, а, отже, ризику виснаження клона імунокомпетентних клітин;

4) застосування препарату сприяє проліферації і диференціюванню імунних клітин і зниженню вироблення протизапальних цитокінів.

Протипаразитарна дія

В організмі людини на паразита чекає потрібний захисний бар'єр. Перший - ферменти ротової порожнини, другий, - кисле середовище шлунку, третій - місцевий (мукозальний) імунітет кишечника. В ослабленому організмі усі ці перешкоди можуть не спрацювати. Тоді паразити потрапляють в кишечник і розвиваються в статевозрілі особини. Як показали наведені вище дослідження, прийом препарату веде до активізації вироблення IgA, що порушуватиме процес проникнення паразита всередину слизових оболонок. Паралельно йде підвищення цитотоксичної активності лімфоцитів, природних кілерів, які беруть участь в руйнуванні паразитарних інфекцій. Якщо зараження сталося і пацієнт приймає антигельмінтні препарати, то призначення препарату дозволить понизити токсичну дію не лише хіміопрепарату, але і самого патологічного процесу, а також стимулювати власні чинники протипаразитарного захисту - продукцію ПНФ α , який піддає лізису інвазійні клітини. Механізм дії антигельмінтних препаратів спрямований на зниження активності збудника, і після його загибелі імунна система забезпечує елімінацію збудника. Меркурід, опосередковано, через стимуляцію імунної відповіді і підвищення фагоцитозу, "допомагає" організму позбавитися від паразита.

У дослідженні взяло участь 16 жінок з діагнозом токсоплазмоз. Токсоплазмоз - паразитарне захворювання, що характеризується хронічним протіканням, ураженням нервової системи, лімфаденопатією, мезаденітом, враженням міокарду, м'язів і очей. Вони приймали препарат Меркурід С і Меркурід М, по 5 мл 3 рази в день за 30 хвилин до прийому їжі. Діагноз був встановлений клінічно і підтверджений імунологічно. Результати дослідження наведені в таблиці 7.

Як видно з наданих даних, прийом препаратів групи Меркурід спричинив активацію імунних клітин (поодинокий ефект імуномодуючої дії) - збільшення числа лімфоцитів, підвищення цитотоксичної активності CD8 клітин, літичній здатності природних кілерів CD16 клітин, виробленню чинника некрозу пухлини - білкової молекули, яка несе наказ про загибель інвазійним клітинам. Підвищення фагоцитозу сприяло ефективній елімінації паразита з організму. Як результат зменшення паразитарної інфекції в організмі, що підтверджується зниженням практично до норми титру антитіл до *Toxoplasma Gondii* IgG.

Пацієнтки відмітили нормалізацію температури тіла (до цього субфебрилітет), практично припинилися головні болі, лімфовузли в нормі. Менше відчуття слабкості, швидкої стомлюваності.

Модуляція апоптозу

Апоптоз розглядається як природний біологічний механізм, який сприяє ліквідації "непотрібних" клітин і тканин. Біологічна "мета" цього явища полягає у видаленні небажаних клітин в процесі індивідуального розвитку, при захисних реакціях, старінні.

Апоптоз включається в патології будь-яких

ішемічних і травматичних ушкоджень нервової тканини, включаючи ушкодження спинного і головного мозку, деменціальні зміни пов'язані з розвитком хвороб Альцгеймера, Паркінсона, сенільною деменцією, природженими патологіями мозку та ін. Таким чином, можна говорити про нейроапоптоз, як новий патобіохімічний механізм нейродегенеративних розладів широкого спектру.

Істотна роль нейротрофічного чинника - чинника некрозу пухлини (ПНФ α), з яким пов'язані відкриття пор в мітохондріях, наступний розрив їх мембрани і вивільнення проапоптичних білків.

Раніше була показана здатність препарату знижувати вироблення протизапального цитокіна ПНФ α , що захищає клітини від розвитку апоптозу.

Апоптоз в кардіоваскулярних клітинах

Ознаки апоптозу при серцево-судинних патологіях - дисфункція ендотелію, "надмірна" напруга судинної стінки, ішемічні порушення, атеросклеротичні зміни, інфаркт міокарду, ішемічний інсульт та ін.

Як відомо, патологія "гіпертонічного серця" супроводжується гіпертрофією лівого шлуночку, що веде до ремоделювання міокарду, недостатньої васкуляризації, фіброзу, зменшенню числа функціональних кардіоміоцитів і скорочувальної здатності серця в цілому. За усі ці явища відповідальні апоптозні процеси, спровоковані хронічною ішемією і переважанням хворого серця.

Дослідження останнього періоду показують, що апоптозна загибель кардіоміоцитів слугує вирішальним чинником в переході до компенсаторної гіпертрофії і порушення насосної функції серця при артеріальній гіпертензії.

Розглядаючи проблему апоптозу, як складного біологічного і патохімічного феномену, можна визначити, що апоптоз відноситься до глобальної інформаційно-регуляторної мережі організму, яка визначає його життя і смерть.

Нині апоптоз розглядається як базовий біохімічний механізм неврологічних, кардіоваскулярних, онкологічних та інших патологій.

Препарат знижує патологічно активний апоптоз

Апоптоз - програмована клітинна загибель, який запускається специфічними сигналами. Цим специфічним сигналом є наявність маркера CD95 на поверхні клітин, що встановлюється лабораторним шляхом.

В імунологічному обстеженні брало участь 116 чоловік, 60 з яких приймали Меркурід М, а 56 - Меркурід С з судинними патологіями мозку (вегетативна дистонія, дисциркуляторна енцефалопатія, ішемічний інсульт), з наслідками порушень мозкового кровообігу (рухові, мовні), дегенеративними захворюваннями нервової системи (хвороба Альцгеймера, Паркінсона), старечою деменцією, які приймали препарат протягом 30 днів, потім перерва і знову прийом 30 днів по 5 мл перорально. Дані наведені в таблиці 8.

Як показали дослідження, Меркурід знижує природну високу апоптичну готовність клітин організму, що захищає їх від загибелі і відновлює баланс між апоптозом, який безумовно потрібний, щоб позбавлятися від пошкоджених і ослаблених

клітин і виникненням нових життєздатних клітин.

Крім того, дослідження показало, що прийом препарату сприяє коригуванню основних імунологічних показників які забезпечують протипухлинну і противірусну захищеність організму. Враховуючи, що з віком ризик розвитку новоутворень збільшується в сотні разів в порівнянні з молодістю, цей факт є додатковим чинником, що впливає на тривалість життя. 87% пацієнтів, які приймали препарат відзначили його добру переносимість, зниження больових відчуттів суглобів ніг і рук, зменшення болю в спині. Ймовірно, це пов'язано із зменшенням запального процесу за рахунок зниження вироблення протизапального цитокіна ПНФ α . У 78% відбулася нормалізація сну, підвищення життєвих сил, поліпшення апетиту, відновлення роботи кишечника. 74% чоловіків відмітили поліпшення сечовипускання, струмінь став вільнішим, сам акт

сечовипускання безболісний. 38% пацієнтів змогли під наглядом лікарів зменшити дозування кардіотропних препаратів. 76% відмітили, що стали вести активніший спосіб життя, більше ходити, менше втомлюватися.

В цілому дію препарату можна охарактеризувати як підвищення адаптаційно-відновного потенціалу організму людини. Оскільки апоптоз - фазний процес і має оборотні етапи, то своєчасне застосування препарату дозволяє протистояти надмірному розвитку апоптозу (який ініціюється різними чинниками - радіацією, вірусами, неблагополучною екологічною ситуацією, забрудненими продуктами харчування, деякими ліками). Прийом Меркуриду дозволяє захистити структури мозку серця, судин, м'язів від загибелі великого масиву клітин, а, отже, смерті усього організму.

Таблиця 1

Елементний склад хелатного комплексу ртуті з цистеїном

Хімічний елемент	Розрахункове значення	Експериментальне значення
Вуглець	15,11	15,12
Водень	2,73	2,75
Кисень	13,43	13,41
Сірка	13,43	13,44
Азот	5,87	6,0
Ртуть	41,97	41,95
Хлор	7,45	7,50

Таблиця 2

Елементний склад хелатного комплексу ртуті з метіоніном

Хімічний елемент	Розрахункове значення	Експериментальне значення
Вуглець	22,53	22,50
Водень	3,94	3,90
Кисень	12,02	12,04
Сірка	12,02	12,08
Азот	5,26	5,23
Ртуть	37,56	37,60
Хлор	6,67	6,70

Таблиця 3

Якісне і кількісне співвідношення компонентів в лікарських препаратах Меркурид М і Меркурид С (мас. %)

Номер прикладу	Хелатний комплекс ртуті з метіоніном (Меркурид М)	Хелатний комплекс ртуті з цистеїном (Меркурид С)	Дистильована вода
5	0,4	-	99,6
6	0,52	-	99,48
7	-	0,44	99,56
8	-	0,49	99,51

Таблиця 4

Дані, такі, що підтверджують протипухлинну дію препаратів Меркурид М і Меркурид С

	CD3	CD4	CD8	CD16	CD19	CD80	CD4/CD8	IgA	IgM	IgG
Норма	55-70%	40-60%	10-20%	10-20%	6-15%	10-20%	2-4	1-2	0,9-1,2	9-18
До лікування	53±5	44±4	11±4	8±5	13±5	7±3	4,2	3±1	0,7±0,4	16±2
Меркурид С	62±7	51±6	16±3	14±3	12±4	14±4	3,1	1,5±1	1±0,2	14±3
Меркурид М	60±5	53±3	15±2	12±4	14±2	15±3	3,3	1,8±0,7	1±0,4	16±2

*CD - сучасна методика фенотипування лімфоцитів (методом моноклональних антитіл).

Таблиця 5

Дані, такі, що підтверджують протівірусну дію препаратів Меркурид М і Меркурид С

	CD3	CD4	CD8	CD16	CD19	CD4/CD8	sIgA/л	Фагоцитоз
Норма	55-70%	40-60%	10-20%	10-20%	6-15%	2-4	0,4-0,8	40-95%
До лікування	57±3	42±3	9±4	9±2	13±2	5,2	0,38±0,04	42±12
Меркурид С	64±5	48±4	14±2	15±3	14±1	3,5	0,52±0,02	65±11
Меркурид М	61±4	54±2	12±3	14±2	12±2	3,2	0,61±0,03	72±8

*CD - сучасна методика фенотипування лімфоцитів (методом моноклональних антитіл).

Таблиця 6

Дані, що підтверджують імуномодулюючу дію препаратів Меркурид М і Меркурид С

N п/п	донор Т CD3 (40-60%)	"+" меркурид Т CD3 (40-60%)	донор В CD22 (15-30%)	"+" меркурид В CD22 (15-30%)	донор Тх CD4 (30-40%)
1	42	46	18	18	23
2	60	59	9	27	28
3	40	43	17	25	25
4	44	42	17	22	28
5	48	37	22	14	24
6	48	51	18	26	23
7	42	46	22	13	23
8	58	56	15	17	35
9	51	57	21	29	31
10	62	51	38	29	39
11	55	50	32	26	25
12	38	47	16	24	21
13	61	54	11	23	27
14	46	42	18	26	25
15	40	55	15	28	27
16	57	51	14	16	37
17	40	46	16	25	23
18	64	58	10	16	27
19	41	52	18	27	27
20	44	46	23	19	34
21	58	61	15	18	36
22	51	47	17	27	38
23	43	56	19	25	28
24	57	49	10	22	25
25	38	41	14	17	21
26	47	54	21	27	28
27	55	57	24	27	27
28	48	53	17	24	25
29	40	54	18	22	27
30	42	57	20	27	21

Продовження таблиці 6

N п/п	"+" меркурід	донор	"+" меркурід	донор	"+" меркурід
	Tx CD4 (30-40%)	Tc CD8 (15-20%)	Tc CD8 (15-20%)	РБТЛ	РБТЛ
1	22	19	23	0,040	0,051
2	21	24	38	0,033	0,028
3	23	15	18	0,041	0,037
4	22	16	17	0,056	0,042
5	26	22	16	0,037	0,041
6	25	21	15	0,067	0,059
7	20	17	19	0,049	0,045
8	30	23	18	0,053	0,050
9	34	20	23	0,047	0,052
10	32	28	18	0,051	0,058
11	31	14	16	0,031	0,046
12	35	11	15	0,061	0,057
13	31	21	20	0,034	0,029
14	32	17	15	0,054	0,048
15	41	18	21	0,044	0,054
16	31	24	19	0,057	0,051
17	29	14	18	0,044	0,051
18	36	27	22	0,032	0,025
19	38	14	18	0,046	0,055
20	31	18	17	0,042	0,039
21	38	30	23	0,056	0,061
22	32	23	21	0,046	0,055
23	36	14	21	0,037	0,042
24	29	27	20	0,041	0,037
25	32	17	21	0,049	0,054
26	35	19	15	0,035	0,042
27	31	24	20	0,054	0,059
28	37	22	24	0,047	0,051
29	31	13	19	0,039	0,044
30	32	17	23	0,052	0,059

Таблиця 7

Дані, що підтверджують протипаразитарну дію препаратів Меркурід М і Меркурід С

	CD3	CD4	CD8	CD16	ПНФ α пг/мл	Toxoplasma Gonndii IgG	Фагоцитоз
Норма	55-70%	40-60%	10-20%	10-20%	15-22	POS<40/ME/мл	40-95%
До лікування	59 \pm 3	45 \pm 4	11 \pm 3	10 \pm 3	16 \pm 4	230 \pm 23	48 \pm 12
Меркурід С	65 \pm 3	49 \pm 3	14 \pm 3	14 \pm 2	21 \pm 2	48 \pm 7	62 \pm 9
Меркурід М	63 \pm 4	52 \pm 2	13 \pm 2	12 \pm 3	22 \pm 3	51 \pm 5	69 \pm 5

Таблиця 8

Дані, що підтверджують властивості модулятора апоптозу у препаратів Меркурід М і Меркурід С

	CD95	CD3	CD4	CD8	CD16	CD19	CD4/CD8	ПНФ α пг/мл
Норма	0-8%	55-70%	40-60%	10-20%	10-20%	6-15%	2-4	15-22
До лікування	28 \pm 4	59 \pm 4	46 \pm 3	9 \pm 4	7 \pm 2	14 \pm 3	4,8	36 \pm 3
Меркурід М	14 \pm 2	61 \pm 3	51 \pm 2	14 \pm 2	12 \pm 3	13 \pm 1	3,7	24 \pm 2
Меркурід С	11 \pm 3	62 \pm 4	54 \pm 4	12 \pm 5	11 \pm 2	10 \pm 2	3,5	21 \pm 3