

Pre-clinical study of the drug Izatizon

**Nina Mikitenko¹, Anatoliy Potopalskyi², Leonid Zaika³,
Olga Bolsunova³, Oleksandr Karpov¹**

1 – National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

2 – Institute of Health and Rebirth of People of Ukraine

3 – Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine.

ABSTRACT

Keywords:

Izatizon
Metysazon
Zeta
Potential

Article history:

Received 12.09.2013
Received in revised form
15.11.2013
Accepted 25.12.2013

Corresponding author:

Igor Gaponyuk
E-mail:
Ninok15@bigmir.net

Introduction. In order to expand the range of action of the drug solution was obtained metysazon form – izatizon, the use of which demonstrates the need for further investigation for use in the clinic.

Materials and methods. Experimental studies of the drug izatizon were conducted by spectral analysis and the method of dynamic light scattering instrument at SPECORD UA VIS, 90plus S/n Brookhaven Instruments Corporation.

Results. It was determined that the drug has the Izatizon peaks 244,0; 274,0; 360,0. The best concentration of drug research is 1 ml/l. The size of particles in water 775,0 nm., And DMSO – 148,0 nm. The value of the zeta potential of the particles of the drug izatizon corresponds to -4,1. The product has two peaks in the UV region of the spectrum, indicating a complex structure and a peak in the visible range – the presence of yellow color. The size and zeta potential drug particles play an important role in the body led them in vivo. The best concentration for research on a spectrophotometer is 1 ml/l.

УДК 615.277.3

Доклінічне вивчення препарату Ізатізон

**Ніна Микитенко¹, Анатолій Потопальський², Леонід Заїка³,
Ольга Болсунова³, Олександр Карпов¹**

1 – Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

2 – Інститут оздоровлення і відродження народів України,

3 – Інститут молекулярної біології і генетики НАН України.

Вступ

Спалахи багатьох вірусних хвороб набувають загрозливого характеру і виходять на одне з чільних місць з-поміж захворювань людини та тварин (Покровский В.В. 1996). Для успішної боротьби з інфекційними хворобами необхідні противірусні препарати, які б не зашкоджували життєдіяльності самої клітини і мали, окрім того, імуномодулюючу дію. Попри те, що існуючі противірусні препарати мають низку позитивних властивостей, пошук ефективних хіміотерапевтичних засобів для лікування та профілактики вірусних інфекцій триває у зв'язку з тим, що віруси набувають стійкості до препаратів, що використовуються на практиці. Це актуалізує подальші дослідження різноманітних як природних, так і синтетичних речовин на наявність противірусної активності та імуномодулюючої дії. Як правило, пошуки синтетичних лікарських препаратів противірусної дії проводили серед різноманітних органічних сполук з противірусною активністю (Альберт А., 1971, Перший Г.Н., 1973): це неприродні нуклеозиди, похідні бензимедазолу, циклічні аміни, тіосемікарбазони, карбонільні сполуки та ін. По суті, сучасна хіміотерапія базується на використанні метаболітного ефекту аналогів нуклеозидів та противірусного ефекту похідних адамантину (Поляк Р.Я., 1986).

За останні десятиріччя виконано чимало робіт, присвячених створенню та вивченню нових противірусних препаратів (Hozein Z.A., 1997), Серед них похідні ізатину, зокрема N-метил-ізатин-р-тіосемікарбазон (ІВТ), або метисазон та його похідні. Згадані сполуки мають широку противірусну дію *in vitro* в дозах, які в 100-1000 разів нижче від токсичних. Вони пригнічують розмноження як ДНК- так і РНК-вмісних вірусів (аденовіруси, герпесвіруси, поксвіруси, параміксовіруси, віруси грипу типів А та В та ін.) і, що дуже важливо, розмноження ретровірусів.

Але препаратів із похідних ізатинтіосемікарбазонів, які б могли застосовуватися у клінічній практиці, бракує, а роботи з їх вивчення, головним чином, були спрямовані на дослідження біохімічних та молекулярних аспектів противірусної та протибактеріальної дії. Дослідження їх впливу на імунну систему майже не проводилися і це пов'язано, на наш погляд, з низькою розчинністю цих речовин воді (Болсунова О. І., 2004).

А.І. Потопальський зі співавторами у 1980 р. одержали розчинну форму метисазону на основі застосування суміші розчинників поліетиленгліколю та диметилсульфоксиду, і розчинна форма препарату одержала назву ізотізону [4].

Ізотізону – це оригінальний комплексний препарат (патент України № 1786, 29.10.93), до складу якого входять препарати, які застосовувались і застосовуються як самостійні засоби в медичній практиці – це метисазон (марборан), ДМСО, ПЕГ (твін) з молекулярною масою 400. Структурна формула ізотізону наведена на рисунку 1.

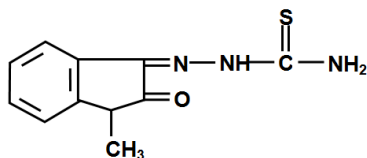


Рис. 1. Структурна формула ізотізону

Ізатизон широко використовується у бджільництві для уникнення вірусних захворювань бджіл, що викликають параліч м'язів ніжок, крил, судоми [2,4], для лікування бджіл використовують також аналоги ізатизону:

Ізатоній – лікарська форма ізатизону з широким спектром протівірусної та антибактеріальної дії. Препарат рекомендують для застосування у ветеринарії при змішаній інфекції [4].

Ізолакт, лактезид – тверді форми пролонгованої дії з використанням незбираного молока замість білково-вітамінних добавок і носія для N-метил ізатин-бета-тіосемикарбазону та 1,2-етил-біс-амонію дихлориду [4].

Ізатизон знайшов широке використання у тваринництві. Вивчення біологічних, імунологічних, терапевтичних властивостей на кафедрі хірургії Білоцерківського державного аграрного університету під керівництвом док. вет. наук, професора В.Й. Іздеського дало змогу розширити застосування у ветеринарній медицині [5]. На основі результатів такого вивчення було розроблено схеми лікувально-профілактичного застосування препарату, здійснена його клінічна апробація при хірургічній та акушерсько-гінекологічній патології [2], а враховуючи широкий спектр дії ізатизону, Погурський І.Г., Підопригога Г.І., Береза В.І., Потопальский А.І. застосували його при різноманітних захворюваннях тварин [6].

Досліджуваний препарат також використовують у рибництві [7] та як інгібітор фітовірусних інфекцій [9].

На основі чисельних досліджень і повідомлень працівників заводів і сільськогосподарських підприємств, де застосовували ізатизон, відпрацьовано показання і схеми застосування препарату на добровольцях після неефективного лікування. В роботі почали брати участь спеціалісти певного профілю [3].

На сьогоднішній день відомо, що препарат Ізатизон застосовують не тільки для лікування аскофероза, вірусного паралічу, грибкових захворювань і кліщового вароатоза бджіл, але і для лікування людей. Він рекомендований при боротьбі з злоякісними пухлинами, при наявності в організмі радіонуклідів, при неврозах, недокрив'ї, депресії, при лікуванні гепатиту С і т.д. Перелік хвороб, при яких він застосовується, налічує більше 70 найменувань [8].

Отже, багаторічне і ефективне застосування препарату в ветеринарії і на добровольцях в клініці свідчить про необхідність його подальшого дослідження і використання в клініці.

Матеріали і методи

Препарати. Використано препарат Ізатизон, виготовлений на базі лабораторії МСБАР ІМБІГ НАН України.

Даний препарат являє собою маслянисту рідину, темно-жовтого кольору, гіркий на смак із специфічним запахом. Молярна маса 234 г/Моль. Температура застигання – 10 – 15 °С. Він має антисептичні і протизапальні властивості. Не пригнічує кровотворення, не має кумулятивних властивостей. При застосуванні в індуктивну фазу імуногенезу зменшує прояви анафілактичного шоку, має властивість регулювати показники специфічної і неспецифічної резистентності при порушенні імунного статусу організму, впливаючи на підвищення активності систем інтерферону і фагоцитозу. Знижує тонус м'язів тонкої кишки, збільшує чутливість до ацетилхоліну і хлористого барію [2].

Кількісний аналіз складу препарату. Експериментальні визначення кількісного аналізу складу препарату найкраще проводити на реєструючому спектрофотометрі

SPECORD UA-VIS, оскільки, всі речовини, атоми яких знаходяться в збудженому стані, випромінюють світлові хвилі, енергія яких певним чином розподілена за довжиною хвиль [10], а даний препарат містить π -електронні системи, які відповідають за поглинання та випромінення в оптичному діапазоні.

Принцип роботи: у кюветну камеру поміщають кювету з розчином порівняння і кювету з розчином, що аналізується. Обертаючий барабан довжин хвиль, встановлюють на певну довжину хвилі: спочатку в світловий потік поміщають кювету з розчином порівняння і за допомогою регулятора ширини щілини приводять до нуля стрілку мікроамперметра. Далі в світловий потік поміщають кювету з аналізуючим розчином і приводять вимірювальний прилад до нуля. Розрахунок концентрації розчину за даними оптичної густини одержаної на спектрофотометрі проводять за допомогою калібрувальних графіків чи за законом Ламберта-Бугера-Бера, якщо відома величина молярного поглинання [12].

Фізико-хімічні параметри препарату. Дослідження фізико-хімічних параметрів препарату ізатізон (розмір часточок, дзета-потенціал) проводять на приладі 90plus S/n Brookhaven Instruments Corporation за методом динамічного розсіювання світла. Даний метод визначає флуктуації інтенсивності розсіяного світла, які зумовлені дифузєю або броунівським рухом частинок незалежно від ефективності, з якою вони розсіюють світло (типова схема установки наведена на рисунку 2) [1]. Дзета-потенціал – це електричний потенціал між краями дифузного шару іонів в рідині, що оточує заряджену колоїдну частку або поверхню макроскопічного твердого тіла. Він виникає в результаті накопичення електричних зарядів на межі розділу твердої і рідкої фаз. В результаті цього на межі фаз утворюється подвійний електричний шар (ПЕШ). На величину дзета-потенціалу впливають властивості поверхні твердої речовини і оточуючої її рідини. Тому його значення є індикатором поверхневого заряду твердої фази і характеристикою поверхні розділу фаз [11, 13].

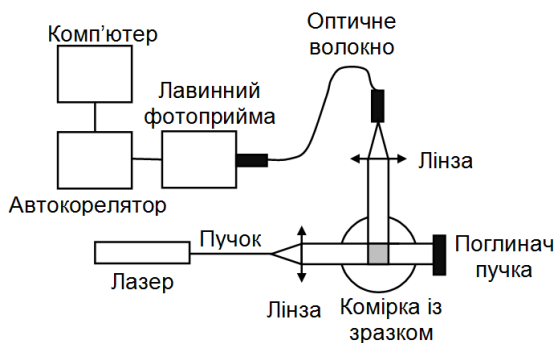


Рис. 2. Схема установки для методу визначення динамічного розсіювання світла

Цей показник визначають на електрокінетичному аналізаторі на кордоні тверде тіло – рідина за допомогою вимірювання фільтраційного потенціалу (фільтраційного струму).

Виміряні значення залежності фільтраційного потенціалу від різного тиску використовуються для обчислення дзета-потенціалу (за рівнянням Смолуховського). Одночасно прилад вимірює провідність електроліту, температуру і значення рН.

Результати та обговорення

Ізатізон – це препарат, до складу якого входять метисазон (марборан), ДМСО, ПЕГ (твін) з молекулярною масою 400.

При дослідженні препарату було визначено, що кожен із компонентів ізатізону має певні фармакологічні властивості. Метисазон діє протівірусно на пригнічення синтезу білків, із яких будується вірусна оболонка. Диметилсульфоксид (димексид, ДМСО) є добрим розчинником, легко проникає у різні тканини тварин та рослин, використовується як консервант органів тварин, має ряд цінних фармакологічних властивостей, підвищує проникність клітинних мембран та бар'єрів, не пошкоджуючи їх. Він здатний до активного транспорту лікарських речовин, розчинених у ньому. Має широкий діапазон терапевтичного впливу завдяки протизапальній (антигістамінній), бактеріостатичній, фунгістатичній, анальгезуючій, діуретичній, радіо- і криопротекторній, судинорозширюючій дії. Препарат має виражену десенсибілізуючу дію. При застосуванні в індуктивну фазу імуногенезу полегшує перебіг анафілактичного шоку. ДМСО потенціює дію стероїдів, гепарину, інсуліну, цитостатиків, а також підвищує резистентність тканин до гіпоксії [2].

Поліетиленгліколь-400 (поліетиленоксид, ПЕО) використаний як носій лікарських речовин. ПЕО активніший, ніж жирові основи, провідник лікарських компонентів через шкіряний бар'єр, при чому його активність як провідника посилюється в умовах запалення. Йому властива певна бактерицидна дія [2].

Ізатізон при взаємодії з водою випадає в осад, що не дозволяє провести дослідження спектральним методом, тому були зроблені ряд розведень (10, 100 та 1000 разів). Перше та друге розведення не дали належного результату, оскільки препарат випав в осад. При третьому розведенні (у 1000 разів), при концентрації препарату 1 мл/л, було визначено, що препарат Ізатізон має два піки в УФ області спектру (244,0; 274,0) та один пік (360,0) у видимому діапазоні (рис. 3).

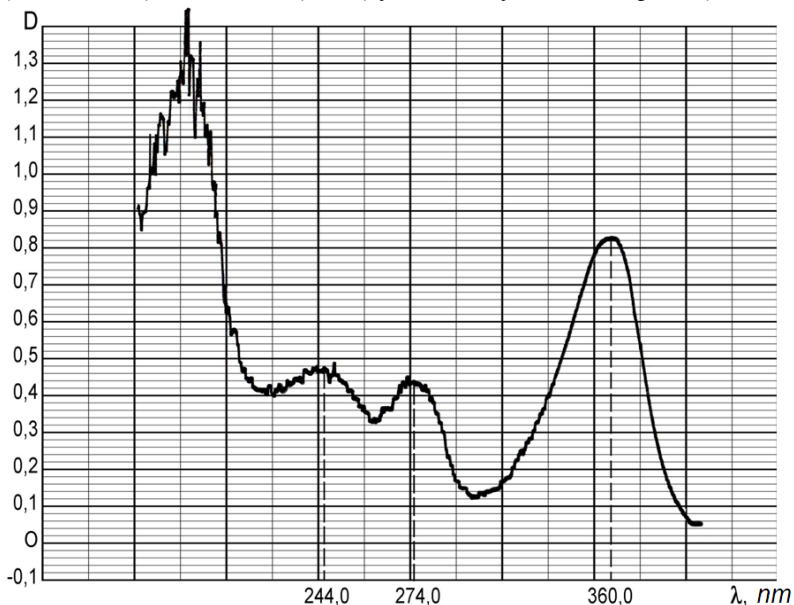


Рис. 3. Спектральний аналіз препарату Ізатізон при розведенні у 1000 раз.
 λ – довжина хвилі, D – оптична густина.

Наявність піків в УФ області спектру вказує на складність будови і наявність подвійних зв'язків у структурі молекули, пік у видимому діапазоні відповідає за жовте забарвлення препарату.

За допомогою методу динамічного розсіяння світла визначали розмір і форму наночастинок препарату. У воді розмір часточок складав – 775 нм., у ДМСО – 148,0 нм.

Дзета-потенціал наночастинок препарату ізатізону визначали в аналізі на поверхні твердого тіла. Значення дзета-потенціалу наночастинок препарату ізатізону відповідає 4,1.

Висновки

При поведенні дослідження препарату Ізатізон було визначено, що досліджуваний препарат має два піки в УФ області спектру (244,0; 274,0), що відповідають за будову препарату, і один пік (360,0) у видимому діапазоні, що відповідає за забарвлення. Розмір частинок препарату у воді 775 нм., у ДМСО – 148,0 нм. Дзета-потенціал частинок препарату – -4,1. Розмір та дзета-потенціал частинок препарату відіграють важливу роль при веденні їх в організм *in vivo*. Найкраща концентрація ізатізону для проведення спектральних досліджень на спекорді 1 мл/л.

Література

1. Бобицький Я., Клімкевич Р. (2007), Порівняльний аналіз оптичних методів вимірювання розмірів мікрочастинок // *Вимірювальна техніка та метрологія*, № 67, С. 48 – 55.
2. Заїка Л. А., Болсунова О. І., Потопальський А. І. (2010), *Противірусні, протипухлинні та імуномодулюючі властивості лікувального препарату Ізатізон: монографія*, Колобід, Київ, 212 с.
3. Лозюк Л. В., Кордис Б. Д., Лісняк О. І. (2006), Перспективи застосування Ізатізону та мікрохвильової рефлексотерапії в клінічній практиці // *Biomedical and Biosocial Anthropology*, №7, С. 198.
4. Лозюк Л. В., Онищук П. Д., Потопальський А. І. та ін. (2005), Застосування Ізатізону, його нових лікарських форм та аналогів для оздоровлення бджіл // *Матеріали міжнародного форуму “Основи молекулярно-генетичного оздоровлення людини і довкілля”*, Колобід, Київ, С. 119 – 122.
5. Лозюк Л. В., Потопальський А. І., Лозюк Р. М. (2003), *Медикаментозна терапія вірусних інфекцій животної*, Норма, Львов, 208 с.
6. Погурський І. Г. Підпригора Г. І., Береза В. І. Потопальський А. І. (2005), Терапевтична ефективність застосування ізатізону в практиці ветеринарної медицини // *Матеріали міжнародного форуму “Основи молекулярно-генетичного оздоровлення людини і довкілля”*, Колобід, Київ, С. 160 – 163.
7. Сич Г. О., Буцацький Л. П., Матвієнко Е. М., Заїка Л. А., Потопальський А. І. (2007), Використання препарату “Ізатізон” у рибництві // *Рибогосподарська наука України*, № 2, С. 41 – 46.
8. Суворова Т. (2010), “Дар небес” против рака // *Здоровье: egavownt.ucoz.com/news/dar_nebes_protiv_raka/2013-03-21-79*
9. Харіна А.В., Кот Т.Г., Потопальський А.І. та ін. (2009) Ізатізон як інгібітор фітовірусних інфекцій // *Мікробіологія і біотехнологія*, № 4, С. 58 – 62.

10. Шматов Г.П., Каргаполов А.В., Брянцева В.М (2003), Основные принципы спектроскопии // *Использование спектроскопии в медицине, экологии и фармации*, С. 20 – 49.
11. Hassan P. A. (2008), Particle size analysis of colloidal drug delivery systems by dynamic light scattering, *CRSNewsLetter*, Vol. 1, pp. 13-17.
12. Clark J., Using UV-visible Absorption Spectroscopy, available at: [chemwiki.ucdavis.edu/Under_Construction/Chemguide_\(Jim_Clark\)/Instrumental_Analysis/IV._UV-Visible_Absorption_Spectra/F._Using_UV visible_Absorption_Spectroscopy](http://chemwiki.ucdavis.edu/Under_Construction/Chemguide_(Jim_Clark)/Instrumental_Analysis/IV._UV-Visible_Absorption_Spectra/F._Using_UV_visible_Absorption_Spectroscopy)
13. Nicholson M. (2013), The DelsaNano Series, available at: www.dynamiclightscattering.co.uk/

References

1. Bobytskyi Ya., Klimkevych R. (2007), Porivnialnyi analiz optychnykh metodiv vymiriuvannia rozmiriv mikrochastynok, *Vymiriuvalna tekhnika ta metrolohiia*, 67, pp. 48 – 55.
2. Zaika L. A., Bolsunova O. I., Potopalskyi A. I. (2010), *Protivirusni, protypukhlynni ta imunomoduliuvachi vlastyvoli likovalnoho preparatu Izatizon: monohrafiia*, Kolobih, Kyiv.
3. Loziuk L. V., Kordys B. D., Lisniak O. I. (2006), Perspektyvy zastosuvannia Izatizonu ta mikrokhvylovoi refleksoterapii v klinichnii praktytsi, *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 7, p. 198.
4. Loziuk L. V., Onyshchuk P. D., Potopalskyi A. I. (2005), Zastosuvannia Izatizonu, yoho novykh likarskykh form ta analogiv dlia ozdorovlennia bdzhil, *Materialy mizhnarodnoho forumu "Osnovy molekuliarno-henetychnoho ozdorovlennia liudyny i dovkillia"*, Kolobih, Kyiv, pp. 119 – 122.
5. Loziuk L. V., Pohopalskyi A. Y., Loziuk R. M. (2003), *Medykamentoznaia terapiia virusnykh ynfektsii zhivotnykh*, Norma, Lvov.
6. Pohurskyi I. H., Pidopyrhora H. I., Bereza V. I. Potopalskyi A. I. (2005), Terapevtychna efektyvnist zastosuvannia izatizonu v praktytsi veterynarnoi medetsyny, *Materialy mizhnarodnoho forumu "Osnovy molekuliarno-henetychnoho ozdorovlennia liudyny i dovkillia"*, Kolo bih, Kyiv, pp. 160 – 163.
7. Sych H. O., Buchatskyi L. P., Matviienko E. M., Zaika L. A., Potopalskii A. I. (2007), Vykorystannia preparatu "Izatizon" u rybnytstvi, *Rybohospodarska nauka Ukrainy*, 2, pp. 41 – 46.
8. Suvorova T. (2010), "Dar nebes" protyv raka, *Zdorove*, Available at: egavownt.ucoz.com/news/dar_nebes_protiv_raka/2013-03-21-79
9. Kharina A.V., Kot T.H., Potopalskyi A.I. ta in. (2009) Izatizon yak inhibitor fitovirusnykh infektsii, *Mikrobiolohiia i biotekhnolohiia*, 4, pp. 58 – 62.
10. Shmatov G.P., Kargapolov A.V., Bryantseva V.M (2003), *Ispol'zovanie spektroskopii v medetsine, ekologii i farmatsii*, pp. 20 – 49.
11. Hassan P. A. (2008), Particle size analysis of colloidal drug delivery systems by dynamic light scattering, *CRSNewsLetter*, 1, pp. 13-17.
12. Clark J., *Using UV-visible Absorption Spectroscopy*, available at: [chemwiki.ucdavis.edu/Under_Construction/Chemguide_\(Jim_Clark\)/Instrumental_Analysis/IV._UV-Visible_Absorption_Spectra/F._Using_UV visible_Absorption_Spectroscopy](http://chemwiki.ucdavis.edu/Under_Construction/Chemguide_(Jim_Clark)/Instrumental_Analysis/IV._UV-Visible_Absorption_Spectra/F._Using_UV_visible_Absorption_Spectroscopy)
13. Nicholson M. (2013), *The DelsaNano Series*, available at: www.dynamiclightscattering.co.uk/