

О. О. Нагорна¹, Л. І. Кучеренко², І. А. Мазур², А. В. Волуй³,
О. В. Кузнєцова³, О. К. Ярош³

Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітоτροпного препарату «Ангіолін»

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

²НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя

³ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: Ангіолін, фармакокінетика, ВЕРХ, щури

Препарат «Ангіолін» – 2,5 % розчин для ін'єкцій в ампулах позиціонується розробником НВО «Фарматрон» як засіб швидкого відновлення метаболізму міокарда та головного мозку при різноманітних катастрофах у серцево-судинній і центральній нервовій системі [1, 2]. Подібні препарати з метаболітоτροпною активністю мають давню історію, починаючи з препаратів кофеїну, камфори, кордіаміну і до більш сучасних – триметазидину (предукталу), тіотриазоліну та ін., що мають широкий спектр впливу на енергетику клітин і функцію їхніх мембран у різних тканинах організму [3–6].

Основні параметри фармакокінетичного профілю субстанції й таблеток препарату «Ангіолін» нами вивчалися в попередніх роботах [7–9], однак особливості лікарського засобу в готовій лікарській формі (ГЛФ) – розчині для ін'єкцій в ампулах, призначеного для швидкої допомоги, не були досліджені. Для високої ефективності препарату й кінцевої результативності проведених реанімаційних і лікувальних заходів лікарі мають мати чіткі уявлення про основні фармакодинамічні та фармакокінетичні характеристики препарату, оскільки від цього залежить стратегія й тактика лікування. Лікувальну стратегію необхідно планувати, спираючись на знання особливостей фармакокінетичних параметрів препарату, що застосовується, тому метою цього дослідження було значення основних показників фармакокінетики (ФК) розчину «Ангіолін».

Мета дослідження – вивчення основних параметрів фармакокінетики 2,5 % розчину для ін'єкцій «Ангіолін» в ампулах після його внутрішньом'язового введення піддослідним тваринам.

Матеріали та методи. Експерименти проведені на 40 білих статевозрілих щурах обох статей масою 150–230 г, вирощених у віварії ПП «Біомодельсервіс» за стандартних умов утримання. Усі дослідження на тваринах проводили згідно з вимогами GLP (Належної Лабораторної Практики). Піддослідним щурам вводили внутрішньом'язово (в/м) 2,5 % розчин для ін'єкцій «Ангіолін» у дозі 50 мг/кг маси тіла в перерахунок на вміст активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) препарату. Для хроматографічного кількісного визначення АФІ у сироватці проби крові брали після етаназії тварин під ефірним наркозом через 5, 10, 20, 40, 60, 120 та 180 хв після в/м введення розчину препарату «Ангіолін».

Підготовку проб до хроматографування виконували в декілька етапів: до 0,8 мл сироватки крові додавали 1,0 мл метанолу та ставили на 5 хв в ультразвукову баню при температурі 55 °С для повного осадження білково-ліпідних комплексів, а після центрифугування при 8000 об/хв протягом 30 хв отриманий розчин декантували, заміряли точний об'єм та переносили до піали для подальшого хроматографування [8–9].

Кількісне визначення концентрації активної складової сполуки «Ангіолін» проводили за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з мас-селективним детектором фірми «Agilent Technologies 1200 Series» (США). Як і в попередніх дослідженнях, детектор налаштували на АФІ

сполуки «Ангіолін» – лізиній 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоцтової кислоти (173–176 m/z, враховуючи ізотопи вуглецю) з використанням двох аналітичних колонок Zorbax SB-C18 4,6×50 mm 1,8 μm та Agilent XDB-C18 4,6×50 mm 1,8 μm, з'єднаних послідовно. Об'єм ін'єкції підготовленої біопроби становив 2 мкл, елюювання проводили в ізократичному режимі з наступним промиванням колонки. Як рухому фазу використовували 0,5 % розчин мурашиної кислоти в суміші вода-ацетонітрил (90 %–10 %), фаза А. Для промивання колонки застосовували 0,5 % розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі, фаза В. Швидкість потоку становила 0,5 мл/хв при температурі 45 °С. Метод реєстрації – SIM Method (174 m/z), фрагментор 120, напруга на капілярі 4000 В, температура газу 250 °С, швидкість газу 12 л/хв, тиск розпилювача 35 psig. Тривалість аналізу складала 10 хв (з урахуванням промивки колонки). Час утримання АФІ препарату «Ангіолін» на хроматографічній колонці становив 2,9–3,0 хв.

Експериментальні дослідження основних параметрів ФК здійснювали тільки після проведення валідації методики та встановлення її повної відповідності національним вимогам (ДФУ і ДЕЦ МОЗ України) та міжнародним рекомендаціям (ЕМЕА і FDA) [10–12]. Площу (AUC) під кривою залежності концентрації в плазмі від часу (від 0 до t) вираховували за допомогою лінійного трапецеїдального методу.

Результати експериментів піддавали статистичній обробці за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistika 6,0 з використанням t-критерію Стьюдента [13, 14].

Отримані експериментальні значення концентрації АФІ ін'єкційної форми препарату «Ангіолін» для розрахунків інших параметрів ФК вводили в математичну комп'ютерну модель з використанням програми «Borgia» для обрахування фармакокінетичних параметрів за схемою однокамерної моделі [15–17].

Результати та їх обговорення. Аналіз отриманих результатів показав, що АФІ препарату вже на 5 хв був на рівні $13,4 \pm 1,9$ мкг/мл сироватки, а максимальна концентрація – в середньому через $12,0 \pm 2,0$ хв, і вона становила $15,9 \pm 1,7$ мкг/мл сироватки (рис. 1). Через 40 хв розпочинався період зниження вмісту сполуки «Ангіолін», і її рівень у крові зменшився в цей період до $4,5 \pm 3,5$ мкг/мл, тобто став майже в 3 рази меншим від максимально зареєстрованої концентрації.

У подальшому процес зниження вмісту АФІ розчину «Ангіолін» у сироватці крові продовжувався, і через 60 хв рівень концентрації знизився до $1,9 \pm 0,3$ мкг/мл. У наступний період, зі 120 до 180 хв, зменшення концентрації АФІ «Ангіоліну» реєстрували на рівні від $0,39 \pm 0,09$ мкг/мл до $0,08 \pm 0,019$ мкг/мл, тобто на 3 год концентрація знижувалася до нижньої межі кількісного визначення (НМКВ), яка в щурів була

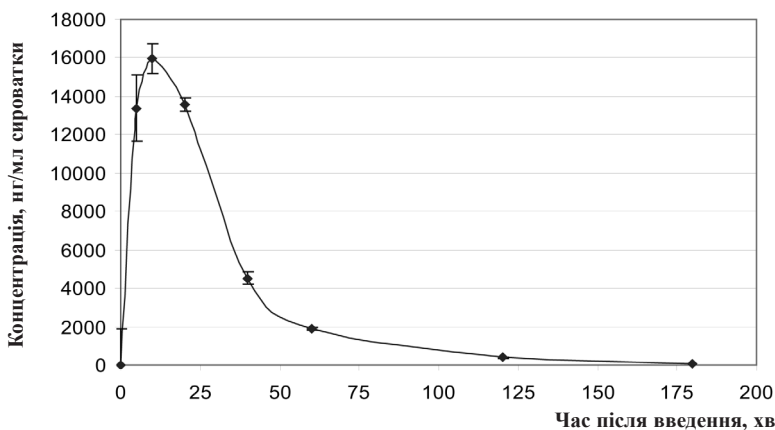


Рис. 1. Динаміка концентрації АФІ ін'єкційної форми препарату «Ангіолін» у крові щурів після одноразового внутрішньом'язового введення в дозі 50 мг/кг маси тіла

встановлена в процесі валідації на рівні $0,08 \pm 0,019$ нг/мл.

На рисунку 2 представлені приклади типових хроматограм кількісного вмісту АФІ препарату «Ангіолін» у сироватці крові.

Отримані експериментальні значення концентрації АФІ ін'єкційної форми препарату «Ангіолін» для розрахунків інших параметрів вводили в математичну комп'ютерну модель з використанням програми «Borgia» для обчислення фармакокінетичних параметрів за однокамерною моделлю «без всмоктування» [15–17].

Результати основних показників фармакокінетики обчислювали відпо-

відно до математичної моделі «Borgia» «без всмоктування», урахувавши досить швидко досягнення максимальної концентрації АФІ препарату «Ангіолін» [16]. Параметри, отримані внаслідок комп'ютерного моделювання фармакокінетичних параметрів, наведено в таблиці.

Аналіз результатів, отриманих в експериментах з визначення вмісту АФІ ін'єкційного розчину препарату «Ангіолін» у сироватці крові за допомогою ВЕРХ, та дані, отримані при математичному моделюванні ФК, свідчать, що декілька параметрів майже збігаються. Зокрема за показниками часу ($t_{C_{max}}$) експериментальні та розрахункові дані

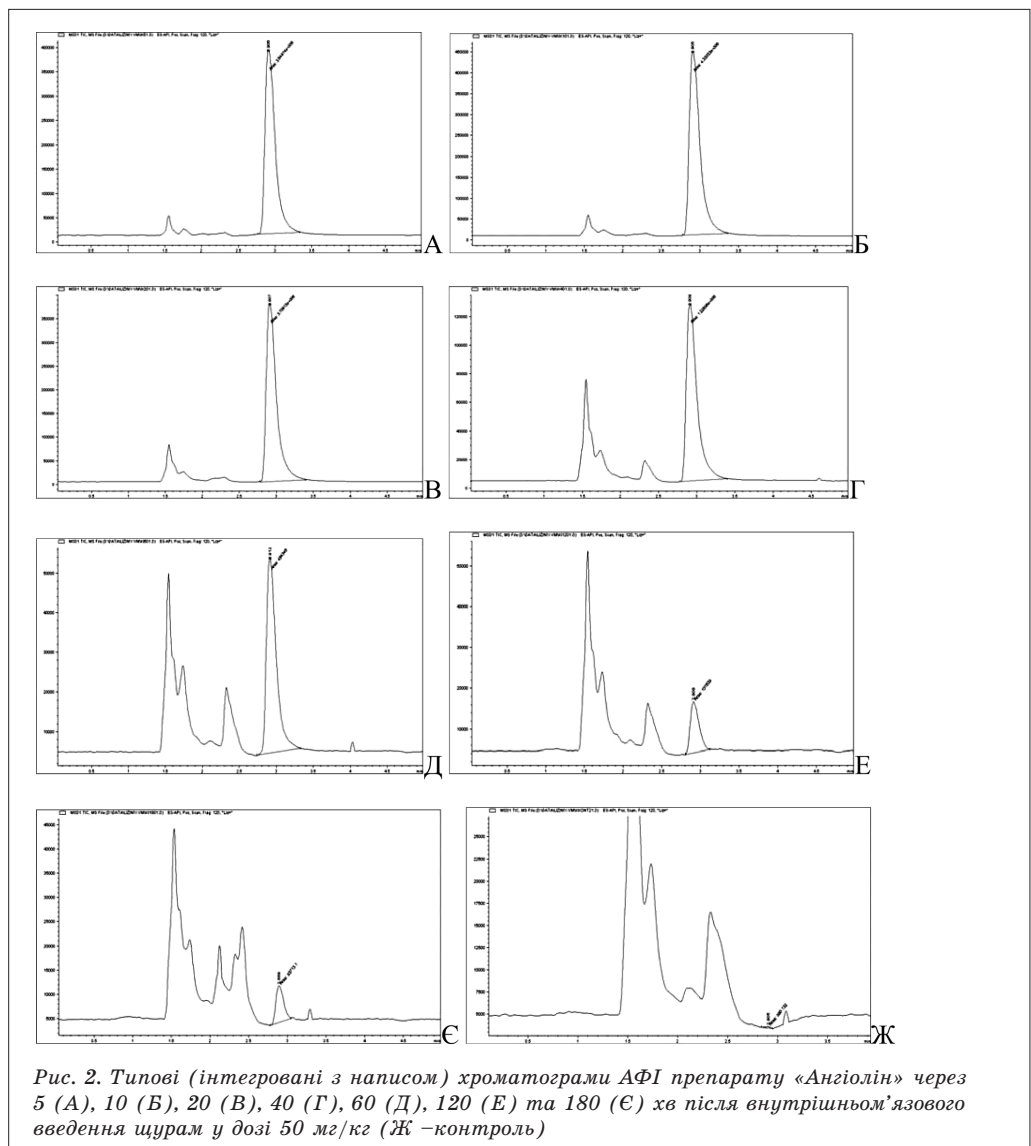


Рис. 2. Типові (інтегровані з написом) хроматограми АФІ препарату «Ангіолін» через 5 (А), 10 (Б), 20 (В), 40 (Г), 60 (Д), 120 (Е) та 180 (Е) хв після внутрішньом'язового введення щурам у дозі 50 мг/кг (Ж – контроль)

Основні параметри розрахунку фармакокінетики після внутрішньом'язового введення ін'єкційного розчину препарату «Ангіолін» у дозі 50 мг/кг маси тіла

| № | Параметр | Позначення | Значення |
|---|--|-----------------------------|-----------------------|
| 1 | Час досягнення максимальної концентрації | t , хв | $8,2 \pm 0,8$ |
| 2 | Максимальна концентрація препарату | C_{\max} мкг/мл | $14,70 \pm 1,57$ |
| 3 | Стаціонарний об'єм розподілу | V_{ss} , мл | $28068,6 \pm 16080,3$ |
| 4 | Площа під фармакокінетичною кривою | AUC_{0-t} нг/хв·мл | $509,3 \pm 57,2$ |
| 5 | Константа елімінації | K_{el} , хв ⁻¹ | $0,040 \pm 0,004$ |
| 6 | Загальний кліренс | Cl_t , мл/хв | $103,6 \pm 12,3$ |
| 7 | Середній час перебування в крові | MRT, хв | $25,1 \pm 2,73$ |

становили відповідно 10 хв і $8,2 \pm 0,8$ хв, а максимальна концентрація в сироватці (C_{\max}) становила відповідно 15,9 мкг/мл і $14,72 \pm 1,57$ мкг/мл.

Однак існують і суттєві відмінності між експериментальними і модельними розрахунковими параметрами, наприклад, показник середнього часу перебування АФІ препарату «Ангіолін» у сироватці крові. Так, показник, визначений експериментально за зниженням вмісту сполуки в крові щурів до межі НМКВ, був значно кращим і становив $111,6 \pm 19,6$ хв після введення, у той час, як за розрахунком майже повне виведення АФІ сполуки «Ангіолін» із крові мало б здійснюватися вже через $25,10 \pm 2,73$ хв. Таким чином, реальний показник перебування сполуки в крові (MRT) виявився майже в 4,5 рази більшим, ніж передбачалося за розрахунковою моделлю.

На основі отриманих результатів ФК, обрахованих за математичною моделлю, можна вважати, що вони не завжди підтверджуються експериментальними результатами на тваринах.

Тому, поки математичні моделі не стануть більш досконалішими, віртуальні фармакокінетичні параметри мають обов'язково перевірятися дослідями *in vivo* на цілісних організмах з їхньою складною ієрархією управління функціями виконавчих органів і систем.

Висновки

1. Після одноразового в/м введення щурам 2,5 % розчину для ін'єкцій препарату «Ангіолін» у дозі 50 мг/кг максимальна концентрація (C_{\max}) АФІ у крові за експериментальними даними досягає рівня $15,90 \pm 1,74$ мкг/мл, а обрахована за математичною моделлю становить $14,70 \pm 1,57$ мкг/мл.

2. Для досягнення максимальної концентрації вмісту в крові щурів АФІ препарату «Ангіолін» розрахунковий час становить у середньому $8,2 \pm 0,8$ хв, експериментальний – $12,0 \pm 2,0$ хв.

3. Зниження вмісту АФІ сполуки «Ангіолін» у крові починається на 20 хв після в/м введення та через $111,6 \pm 19,6$ хв наближається до нижньої межі його кількісного визначення.

1. Патент № 86668 України С07 D, А61К 31/41 «Лізиний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоцтової кислоти, викликаючий нейропротективну, ноотропну, кардіопротективну, ендотеліотропну, протигіпемічну, антиоксидантну, протизапальну, протигіпоксичну дію / І. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев та ін. Заявл.04.06.2007. Опубл. 20.10.2009.
2. Патент РФ № 21370492 С07 D, А61К 31/41 «Лизиний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тиоуксусной кислоты, проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиотропное, противоишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное, противогипоксическое действие и обладающий низкой токсичностью» / И. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев и др. Заявл. 04.06.2007. Опубл. 20.10.2009.
3. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [et al.]. – Изд-во Запор. мед. ун-та. – 2007. – 309 с.
4. Grynberg A. Effectors of fatty acid oxidation reduction: promising new antiischaemic agents / A. Grynberg // Curr Pharmaceut Des. – 2005. – V.11. – P. 48–56.