

О. О. Нагорна<sup>1</sup>, Л. І. Кучеренко<sup>2</sup>, І. А. Мазур<sup>2</sup>, А. В. Волуй<sup>3</sup>,  
О. В. Кузнєцова<sup>3</sup>, О. К. Ярош<sup>3</sup>

## Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін»

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

<sup>2</sup>НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя

<sup>3</sup>ДУ «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 метаболітотропною активністю мають давню історію, починаючи з препаратів кофеїну, камфори, кордіаміну і до більш сучасних – триметазидину (предукталу), тіотгіазоліну 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 налаштовували 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  $\mu$ m та Agilent XDB-C18 4,6×50 mm 1,8  $\mu$ m, 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 максимальної 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

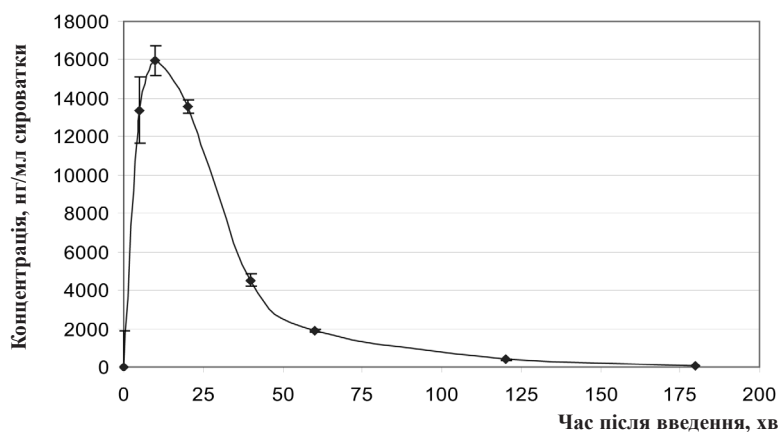


Рис. 1. Динаміка концентрації АФІ ін'єкційної форми препарату «Ангіолін» у крові щурів після одноразового внутрішньом'язового введення в дозі 50 мг/кг маси тіла

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

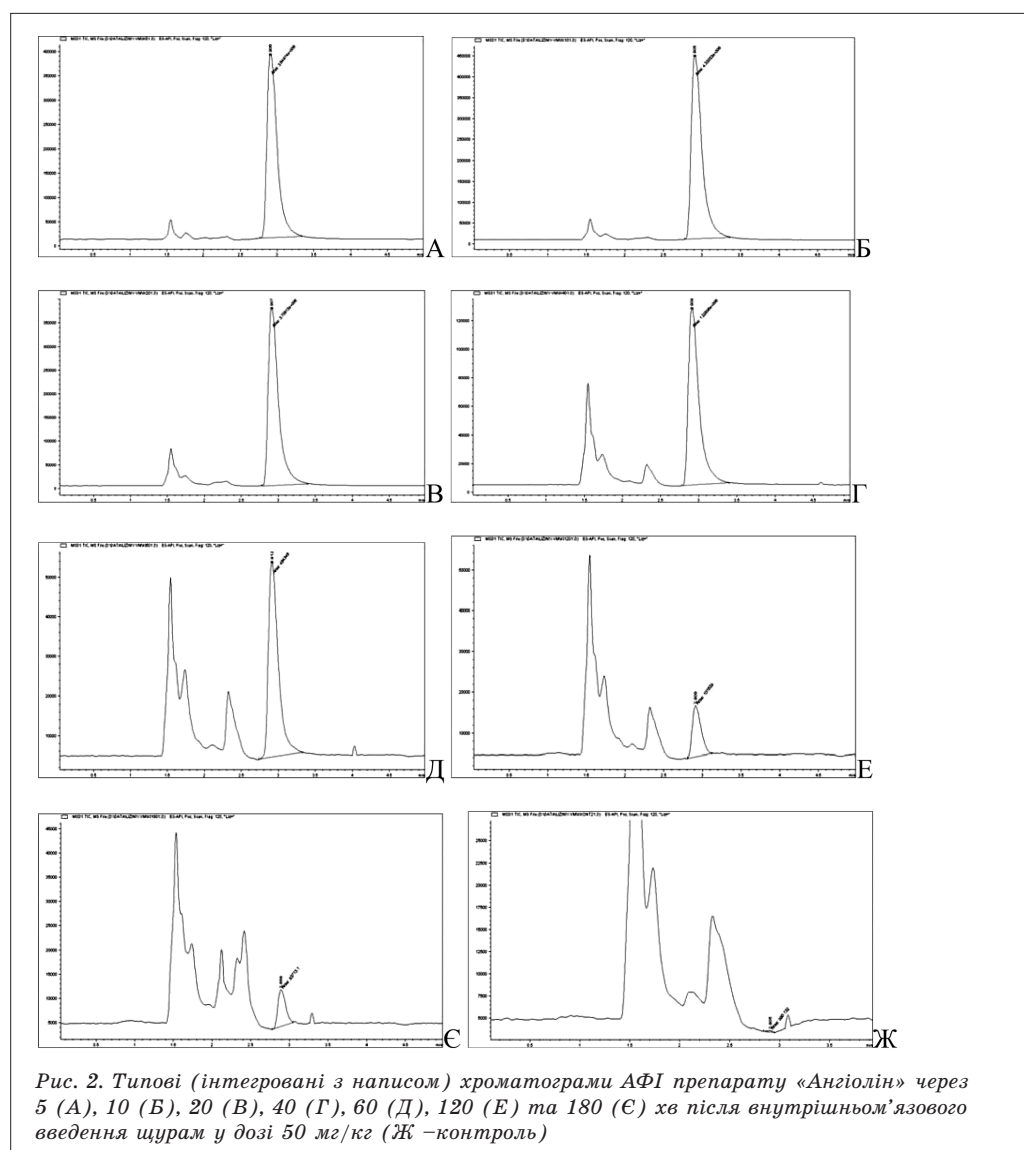
На рисунку 2 представлені приклади типових хроматограм кількісного вмісту АФІ препарату «Ангіолін» у сироватці крові.

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», ураховуючи 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 ( $t_{\text{Cmax}}$ ) експериментальні та розрахункові дані



**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 <sup>-1</sup>	$0,040 \pm 0,004$
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 разу 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 досконалими, 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 уведення та через  $111,6 \pm 19,6$  хв наближається до нижньої межі його кількісного визначення.

1. Патент № 86668 України C07 D, A61K 31/41 «Лізиний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоцтової кислоти, викликаючий нейропротективну, ноотропну, кардіопротективну, ендотеліотропну, протиішемічну, 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 C07 D, A61K 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.

5. Тиотриазолин, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, В. А. Визир, И. Ф. Беленичев. – Запорожье: Печатный мир, 2011. – 303 с.
6. *Беленичев І. Ф.* Вплив нового метаболітотропного кардіопротектора «Лізіній» на стан лімітуючих ланок енергетичного обміну і компенсаторних метаболічних шунтів в умовах гострого інфаркту міокарда / І. Ф. Беленичев, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 36–39.
7. Профіль фармакокінетики сполуки «Лізіній» у крові після парентерального введення / О. К. Ярош, І. А. Мазур, В. М. Бобков [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5 (30). – С. 93–98.
8. Серцева тканинна біодоступність та показники розрахункової фармакокінетики нової кардіотропної сполуки «Лізіній» / Л. І. Кучеренко, В. М. Бобков, О. І. Барчина [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5 (30). – С. 37–43.
9. Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення / О. К. Ярош, О. О. Нагорна, Л. І. Кучеренко, О. С. Бідненко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 2 (38). – С. 64–69.
10. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту / Державна Фармакопея України. ДП «Наук.-експертн. фармакоп. центр». – [1-е вид.]. – Х. : РІРЕГ, 2001. – Доп.1. – 2004. – С. 187–221.
11. Валидация биоаналитического метода. / Н. А. Жукова, В. В. Либина, И. В. Кудрис, Н. Н. Падалко // Методические рекомендации. – К. : ГП ГЭЦ, 2013. – 35 с.
12. Validation of analytical Methods: Definitions and Terminology // ICH Topic Q 2 EMEA. CPMP/ICH/381/95. – Р. 1–5.
13. *Гельман В. Я.* Медицинская информатика: практикум / Гельман В. Я. – СПб. : Питер, 2001. – 480 с.
14. *Лапач С. Н.* Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2002. – 640 с.
15. Фармакокинетика / Н. Н. Каркищенко, В. В. Хоронько, С.А. Сергеева, В. Н. Каркищенко. – Ростов-на-Дону : «Феникс», 2001. – 384 с.
16. *Мирошниченко И. И.* Основы фармакокинетики / И. И. Мирошниченко. – М. : «ГЭОТАР-МЕД», 2002. – 192 с.
17. Методические рекомендации: Расчеты фармакокинетических параметров лекарственных средств (линейные частевые модели) / Н. Я. Головенко, О. В. Жук, В. Г. Зиньковский [и др.]. – К. : ГФЦ МЗ Украины, 2003. – 19 с.

**О. О. Нагорна, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, А. В. Волуй, О. В. Кузнєцова, О. К. Ярош**  
**Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін»**

Проведено дослідження основних фармакокінетичних параметрів в крові щурів нового метаболітотропного препарату «Ангіолін» – 2,5 % розчину для ін'єкцій в ампулах з використанням ВЕРХ з мас-спектрометричною детекцією. Розроблено методику кількісного визначення активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) препарату «Ангіолін», придатну для моніторингу потенційного препарату протягом усього циклу фармакокінетики в організмі. Методику валідовано за всіма вимогами ДФ і ДЕЦ МОЗ України та рекомендаціям EMEA, FDA. Після одноразового внутрішньом'язового 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 сягає рівня  $15,90 \pm 1,74$  мкг/мл, а розрахована за математичною моделлю становить  $14,70 \pm 1,57$  мкг/мл. Для досягнення максимальної концентрації в крові щурів АФІ препарату «Ангіолін» розрахунковий час складав у середньому  $8,2 \pm 0,8$  хв, експериментальний – 10 хв. Зниження вмісту сполуки «Ангіолін» у крові починалося з 20 хв після внутрішньом'язового введення і досягало нижньої межі кількісного визначення через 120 хв. Середній час перебування в крові щурів АФІ препарату «Ангіолін» складав за експериментальними даними близько 120 хв, коли його концентрація знижувалася в середньому до  $0,390 \pm 0,091$  мкг/мл. Препарат «Ангіолін» за своїми фармакокінетичними властивостями може бути рекомендований для подальшого доклінічного вивчення (курсове призначення) і клінічного дослідження.

*Ключові слова:* Ангіолін, фармакокінетика, ВЕРХ, щури

**Е. А. Нагорная, Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур, А. В. Волуй,  
Е. В. Кузнєцова, А. К. Ярош**  
**Фармакокинетические параметры инъекционной формы нового метаболитотропного препарата «Ангиолин»**

Проведено исследование основных фармакокинетических параметров в крови крыс нового метаболитотропного препарата «Ангиолин» – 2,5 % раствора для инъекций в ампулах с использованием ВЭЖХ с масс-спектрометрической детекцией. Разработанная методика количественного определения активного фармацевтического ингредиента (АФИ) препарата «Ангиолин» пригодна

---

для мониторинга потенциального препарата в течение всего цикла фармакокинетики в организме. Методика валидирована по всем требованиям ДФ и ГЭЦ МЗ Украины и рекомендаций ЕМЕА, FDA. После однократного введения крысам 2,5 % раствора для инъекций препарата «Ангиолин» в дозе 50 мг/кг максимальная концентрация ( $C_{\max}$ ) АФИ в крови по экспериментальным данным достигает уровня  $15,90 \pm 1,74$  мкг/мл, а рассчитанная по математической модели составляет  $14,70 \pm 1,57$  мкг/мл. Для достижения максимальной концентрации в крови крыс АФИ препарата «Ангиолин» расчетное время составляло в среднем  $8,2 \pm 0,8$  мин, экспериментальное – 10 мин. Снижение содержания соединения «Ангиолин» в крови начиналось с 20 мин после внутримышечного введения и достигало нижней границы количественного определения через 120 мин. Среднее время пребывания в крови крыс АФИ препарата «Ангиолин» составляло по экспериментальным данным около 120 мин, когда его концентрация снижалась в среднем до  $0,390 \pm 0,091$  мкг/мл. Препарат «Ангиолин» по своим фармакокинетическим свойствам может быть рекомендован для дальнейшего доклинического изучения (курсовое назначение) и клинического исследования.

*Ключевые слова:* Ангиолин, фармакокинетика, ВЭЖХ, крысы

**H. A. Nagornaya, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, A. V. Volui,  
H. A. Kuznetsova, A. K. Yarosh**

**Pharmacokinetic parameters injection form  
of the new metabolitotropic drug «Angiolin»**

The aim of study was the investigation of the main pharmacokinetic parameters of new metabolitotropic drug «Angiolin» (2,5 % solution for injection in ampoules) in rat blood using HPLC with mass spectrometric detection. The method of quantitative determination of the active pharmaceutical ingredient (API) drug «Angiolin» was developed and validated earlier. It is suitable for monitoring of potential drug pharmacokinetics throughout the cycle in the body. Methods was validated for all national requirements and recommendations of EMEA, FDA. Pharmacokinetic parameters API were determined in blood after single intramuscular administration to rats («Angiolin», 2,5 % solution for injection, 50 mg/kg). Maximum concentration ( $C_{\max}$ ) API in blood reached the level of  $15,90 \pm 1,74$  µg/ml during 10 min after intramuscular administration based on the experimental data and was  $14,70 \pm 1,57$  µg/ml at  $8,2 \pm 0,8$  min as calculated by the mathematical model. Then concentration of compound in blood decreased starting from 20th minute after i/m administration and reached the lower limit of quantification to 120 min. The average residence time API of drug «Angiolin» in the blood of rats constituted about of 120 min as by experimental data, when its concentration was reduced to an average of  $0,390 \pm 0,091$  µg/ml. Thus the injection form of drug «Angiolin» for their pharmacokinetic properties can be recommended for further preclinical study (course assignment) and clinical research.

*Key words:* Angiolin, pharmacokinetics, HPLC, rats

---

*Надійшла: 02.09.2014 р.*

**Контактна особа:** Ярош Олександр Кузьмич, відділ фармакокінетики, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», б. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 98 65.  
Електронна пошта: yarosh44@mail.ru