

Даний винахід стосується до фармацевтичної композиції, яка містить сполуку з анти-Ха активністю і сполуку антагоніст агрегації тромбоцитів, що має несподівану ефективну активність у лікуванні або профілактиці фізіологічних захворювань, які супроводжують тромбоутворення, зв'язане з ішемічною хворобою пацієнта. Цей винахід також спрямовано на спосіб лікування або профілактики захворювань, які утворюють тромби, супутніх тромбоутворенню, зв'язаному з ішемічною хворобою пацієнта, який включає введення фармацевтично ефективних кількостей сполуки з анти-Ха активністю, і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів.

Було показано, що антагоністи рецептора фібриногену тромбоцита є ефективними агентами для інгібування тромбоцитарно залежного утворення тромбу в моделях коронарного тромбоутворення на тваринах. Також результати клінічних досліджень показали, що антагоністи рецептора фібриногену тромбоцита зменшують сферу дії основних ішемічних явищ при введенні пацієнтам групи ризику, які піддаються кризьшкірній трансклюмінальній коронарній ангіопластиці. Однак терапевтичні межі застосування цього класу сполук досить обмежені, частково, оскільки висока ступінь інгібування *ex vivo* агрегації тромбоцитів, необхідна для антитромботичної ефективності, часто тягне за собою значне збільшення стандартного часу кровотечі, що є ознакою небажаних ускладнень кровотечі.

Низькомолекулярно вагові гепарини (НМВГ) і гепариноїдні сполуки (ГС) ефективно використовувалися протягом останніх років для профілактики й лікування венозного тромбозу і супутньої тромбоемболії. Але НМВГ і ГС поступово поширюються на лікування, сукупності артеріальних тромботичних показників. Попередні результати, що добре впливають на використання НМВГ або ГС у порівнянні з нефракціонованими гепаринами при артеріально-тромботичних показниках підтверджені декількома фармакодинамічними, фармакокінетичними і механістичними різницями між цими двома класами сполук. Наприклад, достовірна й надійна антикоагуляція може бути досягнута з КМВГ або ГС підшкірним дозуванням без контролю. У порівнянні з гепарином, НМВГ і ГС мають більш високий ступінь біоакмулювання, відносно великий період напіввиведення і виявляють безпечні характеристики. Крім того, НМВГ більш стійкі, ніж гепарин, до нейтралізації тромбоцитарним чинником 4, який виділяється з активованих тромбоцитів, приблизно в місці артеріального тромбоутворення.

Гемостаз, біохімія коагуляції крові, являє собою надзвичайно складну сукупність явищ, за допомогою яких нормальна суцільна кров і тканини тіла спонтанно зупиняють кровотечу з ушкоджених кровоносних судин. Ефективний гемостаз вимагає спільної дії васкулярного, тромбоцитарного і плазменного чинників, як і контролюючого механізму, що запобігає надлишковій коагуляції. Порушення, недоліки або надлишок будь-якого з цих компонентів можуть привести до геморагічних або тромботичних наслідків.

Адгезія, розподіл і агрегація тромбоцитів на позаклітинних матрицях є основними явищами при утворенні тромбу. Ці явища регулюються родиною адгезивних глікопротеїнів, тобто фібриногеном, фібронектином і чинником Віллебранду. Фібриноген являє собою кофактор агрегації тромбоцитів, тоді як фібронектин сприяє процесам прикріплення тромбоцита й розподілу, і чинник Віллебранду важливий при прикріпленні тромбоцита і розподілу по субендотеліальному матриксу. Місця зв'язування фібриногену, фібронектину й чинника Віллебранду були виявлені на тромбоцитарному мембранному протеїновому комплексі, відомому, як глікопротеїн IIb/IIIa.

Адгезивні глікопротеїни, такі, як фібриноген, не зв'язуються з нормальними спочиваючими тромбоцитами. Однак, коли тромбоцит активується антагоністом, таким, як тромбін або аденозин дифосфат, тромбоцит змінює свою форму, можливо роблячи GPIIb/IIIa місця зв'язування доступними для фібриногену. Блокування фібриногенного рецептора, таким чином, інгібує агрегацію тромбоцитів і наступне утворення тромбу і використовується при профілактиці й лікуванні патологічних тромбогенічних захворювань, таких, як удар, оклюзія периферичних артерій, дисемінована інтраваскулярна коагуляція і гострий коронарний синдром, такий, як нестабільна стенокардія й інфаркт міокарда.

Даний винахід також спрямовано на фармацевтичний склад, що включає сполуку, яка має анти-Ха активність, і сполуку антагоніст агрегації тромбоцитів і фармацевтично придатний носій. Цей винахід також спрямований на спосіб лікування або профілактики тромбогенних захворювань, супутніх тромбоутворенню, зв'язаному з ішемічною хворобою пацієнта, який включає призначення зазначеному пацієнту фармацевтично ефективних кількостей сполуки, яка має анти-Ха активність, і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів.

Короткий опис малюнків

Фігура 1 представляє дані сортовані зразки крові/гемодинамічні виміри протягом введення різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, (N-(н-бутилсульфоніл)-4-(піперидин-4-ілбутилокси)-L-фенілаланін (БСПБПА) і їхні суміші протягом часу.

Фігура 2 представляє графік числа циклічних знижень кровотоку (ЦЗК) при різних концентраціях сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їхні суміші протягом часу.

Фігура 3 представляє графік активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ) для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації -тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 4 представляє графік протромбінового часу (ПЧ) для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 5 представляє графік анти-Ха активності для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 6 представляє графік анти-Ха активності для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 7 представляє графік стандартного часу кровотечі для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 8 представляє графік числа тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 9 представляє графік колаген-індукованої ex-vivo агрегації тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 10 представляє графік АДФ-індукованої ex-vivo агрегації тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 11 представляє графік індукованої арахідоною кислотою ex-vivo агрегації тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 12 представляє графік тромбін-індукованої ex-vivo агрегації тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА і їх суміші протягом часу.

Фігура 13 представляє дані сортовані зразки крові/гемодинамічні виміри протягом уведення різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, N-[N-(4-піперидин-4-іл)бутаноїл-N-етилгліцил] аспартил-L-β-циклогексил аланін амід (ПБГАЦА) і їх суміші протягом часу.

Фігура 14 представляє графік числа циклічних знижень кровотоку (ЦЗК) при різних концентраціях сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

Фігура 15 представляє графік активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ) для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

Фігура 16 представляє графік протромбінового часу (ПЧ) для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

Фігура 17 представляє графік анти-Ха активності для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

Фігура 18 представляє графік анти-IIa активності для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА й їхні суміші з часом.

Фігура 19 представляє графік стандартного часу кровотечі для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їхні суміші з протягом часу.

Фігура 20 представляє графік числа тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

Фігура 21 представляє графік колаген-індукованої ex-vivo агрегації тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

Фігура 22 представляє графік АДФ-індукованої ex-vivo агрегації тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

Фігура 23 представляє графік індукованої арахідоною кислотою ex-vivo агрегації тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

Фігура 24 представляє графік тромбін-індукованої ex-vivo агрегації тромбоцитів для різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, еноксапарину, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА і їх суміші протягом часу.

#### Докладний опис винаходу

Наступні терміни, використані вище й у ході описання винаходу, за винятком спеціально обговорених випадків, повинні розглядатися в наступних значеннях:

#### Визначення

"Пацієнт" включає людину та інших ссавців.

"Ефективна кількість" використовується для описання кількості композиції, відповідно до даного винаходу, ефективною для досягнення заданого терапевтичного ефекту.

"Сполука антагоніст агрегації тромбоцитів" (CAAT) означає сполуку, яка зв'язується з тромбоцитарним GPIIb/IIIa рецептором (антагоніст GPIIb/IIIa рецептора) і конкурентно інгібує зв'язування фібриногену, фібронектину і чинника Віллебранду, так само як і інгібує агрегацію активованих тромбоцитів.

"Сполука з анти-Ха активністю" означає гепаринοїдну сполуку або низькомолекулярно ваговий гепарин (НМВГ), або його синтетичні похідні.

#### Кращі варіанти винаходів

Відповідно до кращого варіанту винаходу, наступні публікації, включені в опис винаходу в якості посилання, описують корисні CAAT: Lynch et al. J. Pharm. Expt. Thera. 272(1) 20 (1995); Kereiakes et al. JACC 27(3), 536 (1996); Peerlinck et al. Circulation 88(4), 1512 (1993); Barrett et al. Clin. Pharmacol. Ther. 56(4) 377 (1994); Cook et al. Thromb. Haemostas. 70(5), 838 (1993); Plow, et al., Proc Natl. Acad. Sci. USA 82,8057-61 (1985); Ruggeri, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 5708-12 (1986); Ginsberg, et al., J. Biol. Chem. 260, 3931-36 (1985); i Gartner, et al., J. Biol. Chem. 260 11.891-94 (1987); Plow, E.F., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 3711-3715 (1982); Tjoeng, et al., патент США № 5037808, 4879313 і 4992463; Adams, et al., патент США № 4857508; Haverstick, D.M., et al., Blood 66(4), 946-952 (1985); Topol et al., The Lancet, 343, 881 (1994). французька заявка № 86/17507; Zilberman, et. al., патент США № 4683291; публікація європейської заявки на патент № 0319 506; патент США № 5023233; патент США № 4952562; міжнародна публікація № WO 91/04746; заявка на патент США № 5086069; міжнародна публікація № WO 92/13117; патент США № 5053392; патент США № 5064814; патент США № 5051405; європейська патентна заявка 0479481; європейська патентна заявка 0478362; патент США № 5292756; міжнародна публікація № WO 95/10295; і міжнародна публікація № WO

89/11538. Більш кращі СААТ ті, які розкриті в міжнародній публікації № WO 89/11538, міжнародної публікації № WO 95/10295 або патенті США № 5292756; більш кращі Reopro® (абциксимаб), N-[N-[N-(4-піперидин-4-іл)бутаноїл-N-етилгліцил]аспартил]-L-β-циклогексил аланін, N-[N-[N-(4-піперидин-4-іл) бутаноїл-етилгліцил] аспартил]-L-β- циклогексил аланін амід (ПБГАЦА) або N-(н-бутилсульфоніл)-4-піперидин-4-іл бутилокси)- L - пенілаланін (БСПБЛА).

Відповідно до кращого варіанту винаходу наступні посилання, включені у опис винаходу в якості посилання, описують корисні НМВГ за винаходом і способи готування НМВГ: європейський патент № 0014184; Medicinal Research Reviews 12(4), 373 (1992); Drugs of the Future 12(1), 45 (1987); міжнародна публікація № WO 92/19249; патент США № 4692435; Barrowcliffe, Thromb. Res. 12/, 27-36 (1977); європейська патентна заявка № 37319; європейська патентна заявка № 76279; патент США № 4804652; WO 81/3276; європейська патентна заявка № 244235, європейська патентна заявка № 244236; патент США № 4486420; патент США № 4692435; патент США № 4826827; патент США № 3766167; європейська патентна заявка № 40144; європейська патентна заявка № 347588; європейська патентна заявка № 380943; патент США № 4533549; патент США № 4629699; європейська патентна заявка © 269981. Наприклад, сполука з анти-Ха активністю може бути отримана в такий спосіб: збагачення поділом етанолом і/або молекулярними ситами, наприклад, гел-фільтрація або фільтрація через мембрану НМВГ присутнього в стандартному гепарині і контрольована хімічна (азотистою кислотою, β-елімінуванням або окисленням періодатом) або ферментна (гепаринами) деполімеризація. Умови деполімеризації можуть з високою точністю контролюватися для одержання продуктів із заданими молекулярними масами. Звичайно використовується деполімеризація азотистою кислотою. Також використовується деполімеризація бензилового ефіру гепарину β-елімінуванням, що приводить до одержання таких же типів фрагментів, що і при використанні ферментної деполімеризації з використанням гепарину. НМВГ із низькою антикоагулянтною активністю і залишковою базовою хімічною структурою одержують деполімеризацією при використанні окислення періодатом або видаленням антитромбін-зв'язуючих фракцій НМВГ, або одержують іншими методами, при використанні іммобілізованого антитромбіну для адсорбції.

Більш кращий НМВГ, який має середню молекулярну вагу від приблизно 3000 до приблизно 6500. Комерційно доступні придатні НМВГ за винаходом включають наступне: Clexane®/Klexane®/Lovenox® (Еноксапарин (ЕНОК)), що має середню молекулярну масу 4500±1000 Дальтон (Да), розподіл молекулярної маси включає компоненти <2000Да (16,0±4,0%) і від 2000 до 8000Да (78,0±10,0%), анти-Ха активність (ІЕ/мг сухої маси) від 90 до 125 і співвідношення анти-Ха/анти-IIa від 3,3 до 5,3; Fraxiparin® (надропарин), що має середню молекулярну масу 4300±700Да, розподіл молекулярної маси включає компоненти <2000Да (<15%), від 2000 до 4000Да (45±10%), від 2000 до 8000Да (85±10%), анти-Ха активність (ІЕ/мг сухої маси) від 95 до 130 і співвідношення анти-Ха/анти-IIa від 2,5 до 4,0; Fragmin® (далтепарин), що має середню молекулярну масу 6000±400Да, розподіл молекулярної маси включає компоненти <3000Да (від 5,0 до 13%) і >8000Да (від 15,0 до 250%), анти-Ха активність (ІЕ/мг сухої маси) від 110 до 210 і співвідношення анти-Ха/анти-IIa від 1,9 до 3,2; Emborex®/Monorebox® (цетрпарин), що має середню молекулярну масу 5200±1000Да, розподіл молекулярної маси включає компоненти <2000Да (від 10 до 25%) і <8000Да (від 75 до 90%), анти-Ха активність (ІЕ/мг сухої маси) від 80 до 120 і співвідношення анти-Ха/анти-IIa від 1,5 до 2,5; Fluxum®/Minidaltone®/Lowhepa® (парнапарин), що має середню молекулярну масу 5000±1000Да, розподіл молекулярної маси включає компоненти <3000Да (від 20 до 30%), і від 3000 до 8000Да (від 50 до 60%), анти-Ха активність (ІЕ/мг сухої маси) від 75 до 110 і співвідношення анти-Ха/анти-IIa від 2,0 до 3,0; Logiparin® (тинзапарин), що має середню молекулярну масу від 3400 до 5600Да, розподіл молекулярної маси включає компоненти <2000Да (від 20 до 16,0%), від 2000 до 4000Да (66,0±60%) і >8000Да (від 12,0 до 38,0%), анти-Ха активність (ІЕ/мг сухої маси) >70 і співвідношення анти-Ха/анти-IIa від 1,5 до 2,5; Clivarine® (ревипарин) і Normiflo® (ардепарин/RD гепарин/RDH). Найкращий НМВГ за винаходом одержують відповідно до процедури, що розкривається у патенті США № 4486420 або патенті США № 4692435; більш кращий еноксапарин.

Відповідно до іншого кращого варіанту винаходу сполука с анти-Ха активністю є гепариноїдною сполукою. Наступні публікації, включені в опис винаходу у якості посилання, описують корисні гепариноїдні сполуки відповідно до даного винаходу й способи одержання гепариноїдних сполук: патент США № 4438108, європейський патент № EP 66908, Zammit et al. Thromb. Haemostas. 71(6), 759(1994), і Gent et al. Circulation 93, 80 (1996). Найкращою комерційно доступною гепариноїдною сполукою відповідно до даного винаходу є Orgaran® (данапароїд), що має середню молекулярну масу приблизно 6500Да, анти-Ха активність (ІЕ/мг сухої маси) приблизно 10 і співвідношення анти-Ха/анти-IIa приблизно 28.

Найкраще піддаються лікуванню або профілактиці тромбогенні хвороби, які, відповідно до винаходу, включають удар, атеросклероз, ангіогенез, тромбоемболічні хвороби, такі, як глибокий венозний тромбоз, емболію легенів або тромбофлебіт, дисеміновану інтраваскулярну коагуляцію або тромбоемболічні синдроми, що супроводжують рак, сепсис або ускладнення при дітонародженні, оклюзії периферичних артерій і при гострих коронарних синдромах, таких, як нестабільна стенокардія й інфаркт міокарда, гемодіалізі, або вимога при штучному кровообігу, що супроводжує хірургічне втручання або ушкодження тканин, викликане фосфоліпазами A2 (PLA<sub>2</sub>) ; більш переважними є нестабільна стенокардія й інфаркт міокарду.

Інший кращий варіант, відповідно до винаходу придатний у ході медичних процедур, при яких потенційно можливий прояв патологічних тромбогенічних захворювань, як у ході коронарно-артеріального шунтування, підшкірній транслумінальній коронарній ангіопластики з або без установки інтракоронарного стенту, більш кращою є підшкірна транслумінальна коронарна ангіопластика з або без установки інтракоронарного стенту.

Іншим кращим варіантом, відповідно до винаходу, є використання фармацевтично ефективних кількостей сполуки, що має анти-Ха активність, і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів для готування лікарського препарату для лікування або профілактики фізіологічного захворювання, що супроводжує тромбоемболію, зв'язане з ішемічною хворобою.

У способі лікування або профілактики, відповідно до винаходу, сполука з анти-Ха активністю й сполука

антагоніст агрегації тромбоцитів можуть призначатися різними способами, як, наприклад, при комбінованому лікуванні, при бажанні, використовуючи медичні процедури. Наприклад, сполука з анти-Ха активністю й сполука антагоніст агрегації тромбоцитів можуть призначатися пацієнту одночасно або по окремоті, забезпечуючи, їх уведення так, щоб у деякий період часу фармацевтично ефективні кількості обох сполук були присутні в пацієнті для досягнення терапевтичного ефекту за винаходом.

Таким чином, ще одна мета винаходу - забезпечити набір для лікування й профілактики фізіологічного захворювання, що супроводжує тромбоутворення, зв'язаного з ішемічною хворобою, зазначений набір включає безліч окремих контейнерів, де, принаймні, один із зазначених контейнерів містить сполуку, яка має анти-Ха активність, і, принаймні, один із вищевказаних контейнерів містить сполуку антагоніст агрегації тромбоцитів, і зазначені контейнери, при бажанні, містять фармацевтичний носій, даний набір може ефективно використовуватися для проведення комбінованого лікування, відповідно до винаходу. Додатковим варіантом набору є такий, у якому із зазначених контейнерів, принаймні, один контейнер повинний містити сполуку, яка має анти-Ха активність, без наявності сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів і, принаймні, один із зазначених контейнерів повинний містити сполуку антагоніст агрегації тромбоцитів без наявності сполуки, яка має анти-Ха активність.

На практиці сполука з анти-Ха активністю й сполука антагоніст агрегації тромбоцитів можуть призначатися парентерально, місцево, ректально, кризьшкірно, внутрішньолегенево або орально, але найбільш переважно вони призначаються парентерально і/або орально.

Відповідні композиції, що містять сполуки, які використовуються відповідно до винаходу, можуть бути виготовлені стандартними способами. Наприклад, сполуки, що використовуються відповідно до винаходу, можуть бути розчинені або суспендовані у відповідному носії.

Сполуки, що використовуються відповідно до винаходу, повинні бути подані у формах, які допускають введення найбільш відповідним способом, і винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, яка містить сполуки, що використовуються відповідно до винаходу, які придатні для використання в медицині й ветеринарії. Ці композиції можуть бути приготовлені згідно зі звичайними способами, при використанні одного або більше фармацевтично придатного носія, який містить ад'юванти або ексципієнти. Ад'юванти включають, крім іншого, речовини, що розріджують кров, стерильне водне середовище і різні нетоксичні органічні розчинники. Композиції можуть бути подані у формі таблеток, пілюль, капсул, пастилок, коржів, льодяників, гранул, порошків, водяних розчинів для ін'єкцій, еліксирів або сиропів, порошків, водяних розчинів або суспензій, розчинів для ін'єкцій, порошків, водяних розчинів або суспензій для внутрішньолегового введення і можуть містити один або декілька агентів, що вибираються із групи, яка містить підсолоджувачі, ароматизатори, барвники або стабілізатори, для того, щоб одержати фармацевтично придатний препарат.

Вибір наповнювача й уміст сполук, що використовуються відповідно до винаходу в наповнювачі, як правило, визначається відповідно до розчинності і хімічних властивостей сполук, конкретної форми призначення й спостереженнями фармацевтичної практики. Наприклад, ексципієнти, такі, як стерильна вода, розчин Рінгера, лактоза, цитрат натрію, ізотонічні сольові розчини (мононатрієвий або дикалієвий фосфат, хлорид натрію, калію, кальцію або магнію або суміші цих солей), карбонат кальцію й агенти, що диспергують, такі, як крохмаль, аліїнова кислота і деякі комплекси силікатів, комбіновані з мастильними матеріалами, такими, як стеарат магнію, сульфат натрію лаурату й тальк, можуть бути використані для готування таблеток. Для готування капсули переважно використовують лактозу і високомолекулярні поліетиленгліколі. Коли використовуються водяні суспензії, вони можуть містити емульгатори або агенти, що сприяють утворенню суспензій. Можуть використовуватися розріджувачі крові, такі, як сахароза, етанол, поліетиленгліколь, пропіленгліколь, гліцерин і хлороформ або їхні суміші.

Для парентерального призначення придатні емульсії, суспензії або розчини сполук, що використовуються, відповідно до винаходу, у рослинному маслі, наприклад, у кунжутному маслі, арахісовому маслі або маслиновому маслі, або у водно-органічних розчинах, таких, як вода і пропіленгліколь, придатні для ін'єкцій органічні ефіри, такі, як етилолеат, як і стерильні водяні розчини фармацевтично придатних солей. Розчини солей сполук, що використовуються, відповідно до винаходу, особливо придатні для призначень у вигляді внутрішньом'язовий, внутрішньовенної, внутрішньоартеріальної або підшкірної ін'єкцій або за інфузійними методиками. Водяні розчини, також включають розчини солей, у чистій дистильованій воді, можуть використовуватися для внутрішньовенного призначення за умови, що досягнутий їхній відповідний рН, що вони відповідним чином забуферені й доведені до ізотонічного рівня з достатнім рівнем глюкози або хлориду натрію і що вони стерилізовані нагріванням, опроміненням або мікрофільтрацією.

Сполука з анти-Ха активністю й сполука антагоніст агрегації тромбоцитів, відповідно до винаходу, можуть бути приготовлені таким чином, щоб бути стійкими до швидкого вимивання зі стінок судин (артерій і вен) конвекцією і/або дифузією, у такий спосіб, збільшуючи час перебування сполуки в заданій точці дії. Джерело, що використовується відповідно до винаходу, може знаходитися в сополімерному матриксі, такому, як етиленвініл ацетат або полівініл спиртовий гель, оточеному силастиковою капсулою. Альтернативно сполука з анти-Ха активністю й сполука антагоніст агрегації тромбоцитів можуть місцево визволятися з додатково імплантованого в адвентиції силіконового полімеру.

Альтернативний метод, що мінімізує вимивання сполуки з анти-Ха активністю і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів при кризьшкірному, трансвакулярному введенні включає використання мікрочастинок, що елюють ліки, які не дифундують. Ці мікрочастинки можуть включати різні синтетичні полімери, такі, як, наприклад, полілактид, або натуральні сполуки, включаючи білки або полісахариди. Такі мікрочастинки роблять можливим оперативне керування параметрами, що включають загальну дозу ліків і кінетику його виведення. Мікрочастинки можуть ефективно вводитися в артеріальну або венозну стінку через пористий балонний катетер або балонний розширник і залишаються в стінці кровоносної судини і тканинах, які прилягають; не менше двох тижнів. Формулювання й методологія місцевої інтраваскулярної сайт-специфічної доставки терапевтичного агента обговорюються в Reissen et al. (J. Am. Coll. Cardiol. 1994; 23: 1234-1244), повний уміст включений тут у якості посилання.

Середовище для сполуки з анти-Ха активністю і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів також може бути гідрогелем, який готують із біосумісного або не цитотоксичного (гомо або гетеро) полімеру, такого, як гідрофільний полімер поліакрилової кислоти, який може виступати як губка, що абсорбує ліки. Такі полімери були описані, наприклад, у заявці WO 93/08845, повний зміст якої включено тут у якості посилання.

Деякі з них, такі, як, особливо, ті, які одержують з етилену і/або пропілен оксиду, комерційно доступні.

Крім цього, сполука з анти-Ха активністю й сполука антагоніст агрегації тромбоцитів може вводитися безпосередньо у стінку кровоносної судини за допомогою балона для ангіопластики, який покритий гідрофільною плівкою (наприклад, гідрогелем) або за допомогою будь-якого іншого катетера, який містить інфузійну камеру для сполук, що, таким чином, можуть бути застосовані з високою точністю в області лікування.

Відсоток сполуки з анти-Ха активністю і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, використовуваних відповідно до винаходу, може змінюватися. Сполуки повинні задовольняти такій пропорції, щоб була досягнута придатна доза. Звичайно, можуть призначатися декілька одиниць форм, що дозуються. Застосовувана доза може бути визначена лікарем і залежить від заданого терапевтичного ефекту, способу призначення й тривалості лікування і стану пацієнта. У кожному конкретному випадку дозування буде визначатися відповідно до відмітних чинників лікування, таких, як вік, вага, загальний стан здоров'я й інші характеристики, що можуть впливати на ефективність лікарського препарату.

Для дорослого, дозування СААТ у загальному змінюється від приблизно 0,0001 до приблизно 50, переважно від приблизно 0,0001 до приблизно 5мг/кг ваги тіла в день при інгаляції, від приблизно 0,001 до приблизно 100, переважно від 0,01 до 70, особливо від 0,05 до 10мг/кг ваги тіла в день при оральному призначенні, і від приблизно 0,0001 до приблизно 10, переважно від 0,001 до 1мг/кг ваги тіла в день при внутрішньовенному призначенні.

Для дорослих, дози сполуки з анти-Ха активністю, відповідно до винаходу, особливо придатні в дозах від приблизно 10 до приблизно 25000 міжнародних одиниць, анти-Ха активності.

Сполука з анти-Ха активністю й сполука антагоніст агрегації тромбоцитів, що використовуються відповідно до винаходу, можуть вводитися так часто, як це необхідно для того, щоб досягти заданого терапевтичного ефекту.

Режим дозування, застосовуваний у способі даного винаходу, такий, щоб досягти максимальної терапевтичної відповіді до досягнення поліпшення і згодом такого мінімального ефективного рівня, який дає терапевтичний ефект. Деякі пацієнти можуть швидко відповідати на більш високі або більш низькі дози і для них набагато більш слабкі підтримуючі дози можуть виявитися адекватними. У винаході розглядаються як короточасні, так і довгострокові режими лікування. Лікування при швидкості від 1 до 4 доз у день також розглядається, відповідно до фізіологічних вимог кожного конкретного пацієнта, приймаючи до уваги, що при виборі відповідного дозування в кожному конкретному випадку, повинна приділятися увага вазі, загальному стану здоров'я, віку пацієнта й іншим чинникам, що можуть впливати на реакцію на ліки. Так, для інших пацієнтів виявиться необхідним прописувати не більш однієї або двох доз у день.

Сполуки за даним винаходом можуть робитися для використання у сполученні з іншими терапевтичними агентами, такими, як агенти, або у сполученні із застосуванням терапевтичних процедур для вирівнювання фармакологічних умов, які можуть поліпшуватися в результаті в ході застосування сполуки формули I, як описано нижче.

Сполуки за даним винаходом можуть використовуватися для лікування рестенозу після ангіопластики при використанні будь-якого пристрою, такого, як балонний катетер, висічення або лазерної терапії. Сполуки за даним винаходом можуть використовуватися при лікуванні рестенозу, після установки стенту в судинну мережу або для 1) первинного лікування закупорювання судини або 2) у випадку, якщо ангіопластика при використанні будь-якого пристрою не дозволяє реконструювати пацієнту артерію. Сполуки по даному винаходу можуть використовуватися або шляхом орального, парентерального введення або сполука може застосовуватися місцево за допомогою введення спеціального пристрою або у вигляді належним чином покритого стенту.

Сполуки за даним винаходом можуть використовуватися при лікуванні рестенозу в комбінації з будь-яким антикоагулянтним, антитромбоцитарним або профібрінолітичним агентом. Часть пацієнтів паралельно лікують перед, протягом і після процедури впливу агентами цих класів або для того, щоб безпечно провести процедуру впливу або запобігти згубним ефектам утворення тромбу. Деякі приклади класів агентів, відомих, як антикоагулянтні, антитромбоцитарні, антитромботичні або профібрінолітичні агенти, включають будь-яку форму інгібітору тромбіну або інгібітори чинника Vela. Деякі приклади класів агентів, відомих, як антикоагулянтні, антитромбоцитарні, антитромботичні або профібрінолітичні агенти, включають будь-яку форму аспірину, прямі інгібітори тромбіну, прямі інгібітори чинника Ха або інгібітори чинника VIIa.

Сполуки за даним винаходом можуть використовуватися в комбінації з будь-яким гіпотензивним засобом або агентом, який регулює холестерин або ліпіди при лікуванні рестенозу або атеросклерозу паралельно з високим кров'яним тиском або атеросклерозом. Деякі приклади агентів, використовуваних при лікуванні високого кров'яного тиску, включають сполуки наступних класів: бета-блокатори, інгібітори ЕКН (екстракту кори надниркових залоз), антагоністи кальцієвого каналу й антагоністи альфа-рецептора. Деякі приклади агентів, що використовуються, при лікуванні підвищених рівнів холестерину або порушень рівня ліпідів, включають сполуки, відомі, як інгібітори HMGCoA редуктази, сполуки класу волокон.

Сполука з анти-Ха активністю й сполука антагоніст агрегації тромбоцитів, що використовуються, відповідно до винаходу, мають явну фармакологічну активність, відповідно до тестів, описаних у літературі, результати цих тестів, як вважається, корелюють із фармакологічною активністю для людини й інших ссавців. Наступні результати фармакологічних тестів є типовими характеристиками сполуки з анти-Ха активністю і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, використовуваних відповідно до винаходу.

Наступні фармакологічні тести оцінюють активність сполуки з анти-Ха активністю і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, які використовуються відповідно до винаходу. Ці тести включають гемодинамічні виміри

при введенні різних концентрацій сполуки з анти-Ха активністю, сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів і їх суміші протягом часу (фігури 1 і 13). Конкретніше, проводилися виміри циклічного зниження кровотоку (фігури 2 і 14), активованого часткового тромбопластинового часу (фігури 3 і 15), протромбінового часу (фігури 4 і 16), анти-Ха активності (фігури 5 і 17), анти-Ха активності (фігури 6 і 18), стандартного часу кровотечі (фігури 7 і 19), числа тромбоцитів (фігури 8 і 20), колаген-індукованої *ex vivo* агрегації тромбоцитів (фігури 9 і 21), АДФ-індукованої *ex vivo* агрегації тромбоцитів (фігури 10 і 22), індукованої арахідоною кислотою *ex vivo* агрегації тромбоцитів (фігури 11 і 23) і тромбін-індукованої *ex vivo* агрегації тромбоцитів (фігури 12 і 24).

Склади за даним винаходом мають чітку активність у вищевказаних тестах і розглядаються як придатні для профілактики й лікування тромбоутворення, що супроводжує певні хворобливі стани. Антитромботична активність *при ex vivo* пробі на агрегацію тромбоцитів собаки може пророчити аналогічну активність у людині (див., наприклад, Catalfamo, J.L... and Dodds, W. Jean, "Isolation of Platelets from Laboratory Animals", *Methods Enzymol.* 169, Part A, 27 (1989)).

#### Матеріали й Методи

Усі операції у цьому дослідженні проводили відповідно до Animal Welfare Act Regulations і посібника по зберіганню й використанню лабораторних тварин (DHEW Publication № NIH 85-23, 1985).

Нижченаведений протокол тесту являє собою експериментальну модель нестабільної стенокардії.

Безпородні собаки обох статей (15-21кг) були анестезовані фенотбарбіталом натрію (30мг/кг внутрішньовенно й додатково при необхідності) інтубовані, вентильовані при використанні респіратора Гарварда (Harvard Apparatus, S. Natick, MA). Трьохпросвітний катетер (SAFEDWELLplus, Becton Dickinson, Sandy, UT) розміщувався у правій стегновій вені для введення тестових агентів і додаткової анестезії. Права стегнова артерія катетеризувалась для виміру артеріального кров'яного тиску й одержання зразків крові.

Ліва торакотомія проводилася в 5-ому міжребер'ї, і серце підвишувалося в перикардіальній хорді. Ліва вінцева коронарна артерія (ЛВ) ізолювалася, і на ній робився розріз довжиною 2см, при необхідності на бічні гілки накладалася лігатура. Електромагнітний зонд потоку (Carolina Medical Electronics, 501D) розміщувався в судині для вистежування коронарного кровотоку і петлева лігатура накладалася на дистальну частину судини для одержання тимчасової механічної непрохідності, що використовувалася для полегшення регулювання ступеню стенозу й досягнення вірогідності вимірів нульового потоку.

Дистально до зонду потоку розміщується блокатор Lexan® для того, щоб створити критичний стеноз, який підтверджується відсутністю гіперімічної відповіді протягом 10сек. механічної непрохідності судини. Ендотелій і клітини гладкої мускулатури судини ушкоджуються здавлюванням судини судинним затиском. Ці умови приводять до адгезії тромбоцитів і агрегації в ушкодженій зоні, у такий спосіб, викликаючи поступове зменшення коронарного кровотоку. По досягненню кровотоку нульового рівня блокатор пересувається назад і вперед по ушкодженій зоні для механічного зміщення тромбу, багатого тромбоцитами, у такий спосіб, відновлюючи кровоток. Ця повторювана схема зменшення кровотоку, що відновлюється механічним руйнуванням тромбоцитарного тромбу позначається як циклічні зниження кровотоку (ЦЗК). Антитромботичний ефект агентів, що тестуються, кількісно оцінювався порівнянням числа ЦЗК, що відбувалися за 20хв. контрольного періоду, із числом ЦЗК за 20хв. для трьох послідовних 20хв. періодів після введення ліків. Істотне зниження числа ЦЗК розглядалося, як прояв антитромботичного ефекту.

#### Протокол експерименту

##### а. Протокол при використанні БСПБПА

Тридцять собак були закріплені за однією із шести терапевтичних груп. Склади вводилися у вигляді тільки внутрішньовенної ударної дози (для (N-(н-бутилсульфоніл)-4-(піперидин-4-ілбутилокси) -L-фенілаланін (БСПБПА) або сольового наповнювача) або у вигляді внутрішньовенної ударної дози плюс постійна внутрішньовенна інфузія (для гепарину, еноксапарину ЕНОК) або сольового наповнювача). Терапевтичні групи були: I) БСПБПА (30мг/кг), II) БСПБПА (300мг/кг), III) ЕНОК (0,5мг/кг+5мг/кг/хв), IV) ЕНОК (0,5мг/кг+5мг/кг/хв) плюс БСПБПА (30мг/кг), V) гепарин (60Е/кг+0,7Е/кг/хв) і VI) гепарин (60Е/кг+0,7Е/кг/хв) плюс БСПБПА (30мг/кг). Усіклади були розчинені в соловому розчині, і ударні дози вводилися при використанні об'єму 5мл, і постійні інфузії проводилися при використанні об'єму 22мл.

##### а. Протокол при використанні ПБГАЦА

Тридцять собак були закріплені за однією із шести терапевтичних груп. Склади для цих експериментів уключали введення наступних агентів у вигляді ударної дози і постійної інфузії (для N-[N-[N-(4-(піперидин-4-іл)бутаноїл)-N-етилгліцил]аспартил]-L-β-циклогексил аланін амід (ПБГАЦА) або сольового наповнювача) або у вигляді внутрішньовенної ударної дози плюс постійна внутрішньовенна інфузія (для гепарину, ЕНОК або сольового наповнювача). Терапевтичні групи були: I) ПБГАЦА (10мг/кг+0,15мг/кг/хв), II) ПБГАЦА (30мг/кг+15мг/кг/хв), III) ЕНОК (0,5мг/кг+5мг/кг/хв), IV) ЕНОК (0,5мг/кг+5мг/кг/хв) плюс ПБГАЦА (10мг/кг+0,15мг/кг/хв), V) гепарин (60Е/кг+0,7Е/кг/хв) і VI) гепарин (60Е/кг+ПБГАЦА (10мг/кг+0,15мг/кг/хв). Усіклади були розчинені в соловому розчині, і ударні дози вводилися при використанні об'єму 5мл, і постійні інфузії проводилися при використанні об'єму 22мл.

Після послідовних ЦЗК, що проводилися протягом не менше 20 хвилин, сполуки вводилися, як описано вище, і кровоток спостерігався протягом однієї години інфузії. Зразки артеріальної крові відбиралися до введення агентів, які тестуються (контрольний зразок) і через 5, 10, 30 і 60хв. після введення сполук. Зразки крові відбиралися в 1/10 об'єму 3,8% тринатрій цитрату і використовувалися для *ex vivo* агрегації тромбоцитів, визначення числа тромбоцитів, рівнів анти-Ха, рівнів анти-IIa і проб на термін коагуляції (активованій частково тромбопластиновий час, АЧТЧ, і протромбіновий час, (ПЧ). Зразки крові (4,5мл), отримані для аналізу рівнів анти-Ха й анти-IIa, збиралися в охолоджені шприци, що містять 0,5мл тринатрію цитрату і негайно містилися на лід. Середній артеріальний кров'яний тиск, частота серцевих скорочень і ЕКГ реєструвалися в ході протоколу (Grass polygraph, Model 7D, Grass Instruments, MA).

Час коаруляції і стандартний час кровотечі.

Активованій частково тромбопластиновий час (АЧТЧ) і протромбіновий час (ПЧ) вимірювалися при використанні Мікродозового коагуляційного аналізатора (MCA210, Bio Data Corp. Horsham, PA) і Dade®

реагентів (Tromboplastin-C Plus і Actin® FS Activated PTT reagent, Baxter Diagnostics, Inc., Deerfield, IL).

АЧТЧ є найбільш широко використовуваним способом контролю внутрішньовенної гепаринової антикоагуляційної терапії. Він також є фундаментальним тестом, що відсіває, на недостатність або порушення внутрішніх коагуляційних чинників: VIII, IX, XI, XII і чинників, загальних для внутрішніх і зовнішніх шляхів: I (фібриноген), II, V, X. При використанні у сполученні з відсутнім субстратом плазми, АЧТЧ забезпечує основу для кількісного аналізу визначених чинників коагуляції.

Для зовнішньої здатності крові формувати фібриновий згусток необхідні коагуляційні фактори XII, XI, IX, VIII, X, V, II (протромбін), фібриноген, тромбоцитарний ліпід і кальцій.

При додаванні сполуки для активування чинників XII і XI, контактних чинників, частковий тромбопластиновий час стає "активованим" частковим тромбопластиновим часом (АЧТЧ). Оскільки кінцеві точки коагуляції коротше і чіткіше, чим при ЧТВ, було показано, що АЧТЧ є простим і високонадійним виміром внутрішнього механізму коагуляції.

#### Процедура тесту

1. Попереднє інкубування 0,025М хлориду кальцію при 37°C.
2. Піпетування 0,1мл розведеного АЧТЧ реагенту в тестову кювету.
3. Додавання 0,1мл тестової або контрольної плазми.
4. Інкубування при 37°C протягом 5 хвилин точно.
5. Додавання 0,1мл попередньо інкубованого хлориду кальцію, одночасно починаючи підрахунок часу.
6. Реєстрація часу зсідання крові.

Протромбіновий час є методом контролю оральної антикоагуляційної терапії. Він також є фундаментальним тестом, що відсіває, на недостатність або порушення зовнішнього коагуляційного чинника VII і чинників, загальних для внутрішніх і зовнішніх шляхів гемостазу: фібриногену II, V і X. При використанні у сполученні з відсутнім субстратом плазми, ПЧ забезпечує основу для кількісного аналізу визначених чинників коагуляції.

Для здатності крові формувати фібриновий згусток за допомогою зовнішніх шляхів гемостазу необхідні тканинний тромбопластин, кальцій, чинник VII, чинник V, чинник X, чинник II (протромбін) і чинник I (фібриноген). Коли тканинний тромбопластин і кальцій додаються до зразка цитратної плазми, дія внутрішніх чинників не є важливою і реакція стає специфічною для коагуляційних чинників, що включаються в зовнішні і загальні шляхи.

#### Процедура тесту

1. Попереднє інкубування ПЧ реагенту при 37°C.
2. Піпетування 0,1мл тестової або контрольної плазми в тестову кювету.
3. Інкубування при 37°C протягом не менше, ніж 2 хвилини, але не більш, ніж 10 хвилин.
4. Ін'єкція 0,2мл попередньо інкубованого реагенту, одночасно починаючи підрахунок часу.
5. Реєстрація часу зсідання крові.

Виміри стандартного часу кровотечі одержують у тих же проміжках часу, що і зразки крові, як описано вище. Стандартний час кровотечі вимірюють після однорідного розрізу, зробленого на слизуватій оболонці внутрішньої сторони верхньої губи, за допомогою Surgicutt® автоматичного пристосування для надрізу (ITC, Edison, NJ). Кров промокала Surgicutt® фільтрувальним папером, для визначення часу кровотечі, кожні 30 секунд, з обережністю, щоб не ушкодити місця надрізу. Час стандартної кровотечі вимірювався з моменту надрізу до того, як кров більш не офарблювала фільтрувальний папір. Час кровотечі, рівний 10 хвилинам, розглядався як максимальний.

#### Анти-Ха й анти-IIa активність

Ці зразки центрифугувалися при 1500 x g протягом 10 хвилин при 4°C. Плазма видалялася і зберігалася при -70°C до проведення аналізу. Анти-Ха й анти-IIa активність аналізувалася хромогенними методами при використанні комплектів, що поставляються America Diagnostica (actichrome® Heparin і actichrome® Heparin anti-IIa, Greenwich, CT), з невеликими модифікаціями. Інкубування і реакції проводилися при 37°C. Амідолітична активність (міліоптичні одиниці, або МОП) визначалася при використанні SPECTRAmax пластинчастого спектрофотометру з можливістю мікротитрування і Softmax Pro програмного забезпечення (Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA). Перший міжнародний НМБГ стандарт (National Institute for Biological Standards and Control, London; анти-Ха активність 168МЕ/мг і анти-IIa активність 66,5МЕ/мг) використовувався для побудови стандартних графіків для виміру гепаринової і ЕНОК анти-Ха й анти-IIa активності. Графіки будувалися при використанні чотирьохпараметричної моделі апроксимації кривої (Softmax Pro, Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Значення анти-Ха й анти-IIa активності гепарину і ЕНОК подані в інтернаціональних одиницях.

#### Агрегація тромбоцитів

Проба на інгібування ex-vivo агрегації тромбоцитів заснована на Zucker, "Platelet Aggregation Measured by the Photoelectric Method", Methods in Enzymology 169, 117-133 (1989).

Плазма, збагачена тромбоцитами (ПЗТ), була отримана центрифугуванням зразків крові при 150 x g протягом 10хв. Після видалення надосадочної рідини, що містить ПЗТ, плазма зі зниженим вмістом тромбоцитів (ППТ) була отримана центрифугуванням зразка, що залишився, при 1000 x g протягом 10 хв. Число тромбоцитів визначалося лічильником часток Coulter ZM або Coulter ZBI (Coulter Instruments, Hialeah, FL). При необхідності, число тромбоцитів доводилося до  $3 \times 10^8$  тромбоцитів/мл при використанні власної ППТ. ПЗТ (250мкл) інкубувалась при 37°C при швидкості перемішування 1200 об/хв. Після попередньої інкубації зі епінефріном протягом 1хв. (1мкМ, Chrono-par 393, Chrono-log Corp., Havertown, PA), агрегація тромбоцитів індукувалась аденозін дифосфатом (АДФ, 10мкМ, Chrono-par 384, Chrono-log Corp., Havertown, PA), колагеном (сухожилля коня, 10мг/мл, Chrono-par 385, Chrono-log Corp., Havertown, PA), арахідоною кислотою (1 мм, Biodata Corp., Horsham, PA) або тромбіном (4 Одиниці/мл, Enzyme Research Institute, South Bend, IN: плюс Глі-Про-Арг-Про, інгібітор полімеризації фібрину, 2мм, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). Спостереження за агрегацією тромбоцитів проводилося спектрофотометрично при використанні PAP-4C агрегатору тромбоцитів

(Bio Data Corp., Horsham, PA). Результати подані у вигляді відсотка інгібування швидкості агрегації в порівнянні з агрегаційним відгуком до застосування ліків.

#### Статистика

Дані, отримані багатократним добором зразків у ході експерименту, аналізувалися при використанні дисперсійного двофакторного аналізу повторюваних вимірів. Post-hoc множинні порівняння середніх для контролю значень у терапевтичних групах і порівняння даних по ЕНОК з іншими терапевтичними групами при використанні тесту на найменшу значиму різницю, р-значення, що менше чим 0,05, розглядалися як значимі.

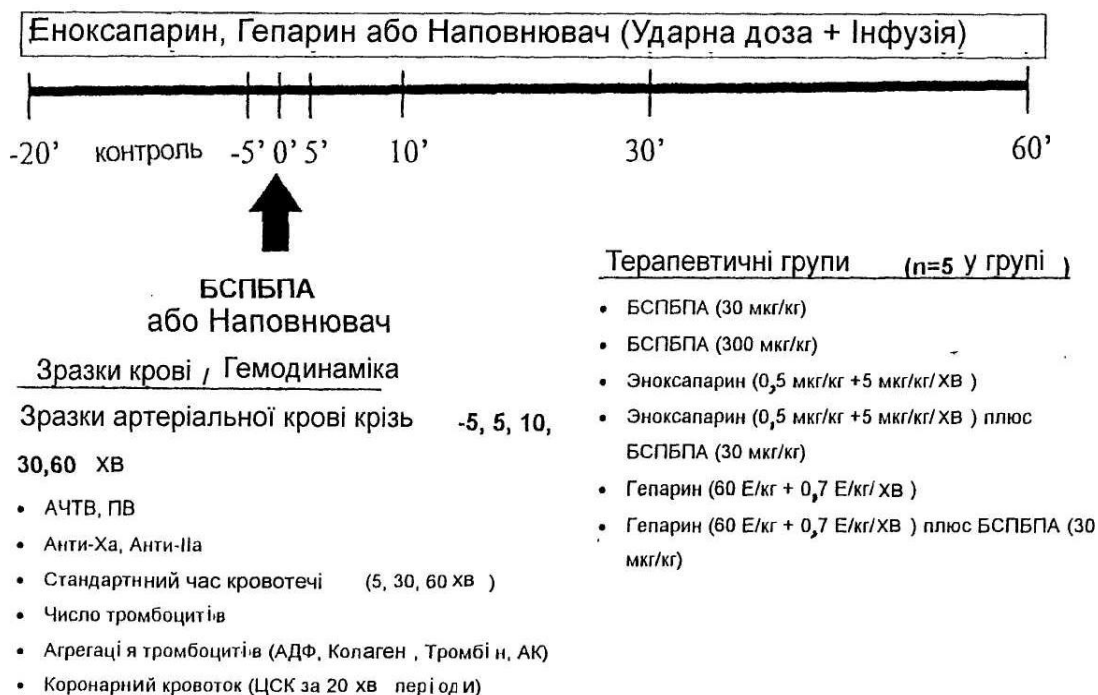
#### Результати

Комбіноване використання сполуки з анти-Ха активністю і сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, використовуваних відповідно до даного винаходу, забезпечує використання цих сполук у дозах, що були б субефективними при індивідуальному використанні, у той же час, впливаючи на інгібування тромбоцитарного тромбу, який формується постійно, у тому ж ступені, що і високі дози сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів без істотного збільшення часу кровотечі, визваної високою дозою сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів (у порівнянні: із більш ніж 5-кратним збільшенням стандартного часу кровотечі, викликаной високою дозою сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, БСПБПА; і з ~ 3-кратним збільшенням стандартного часу кровотечі, викликаной високою дозою сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів, ПБГАЦА).

Комбінація низької дози сполуки антагоніста агрегації тромбоцитів із гепарином при дозі, що збільшує АЧТЧ від 2,0 до 2,5 разів у порівнянні з базовим, не інгібує повторюваного утворення тромбоцитарного тромбу.

Даний винахід може бути реалізований в іншій специфічній формі, при цьому не відхиляючись від його суті і істотних особливостей.

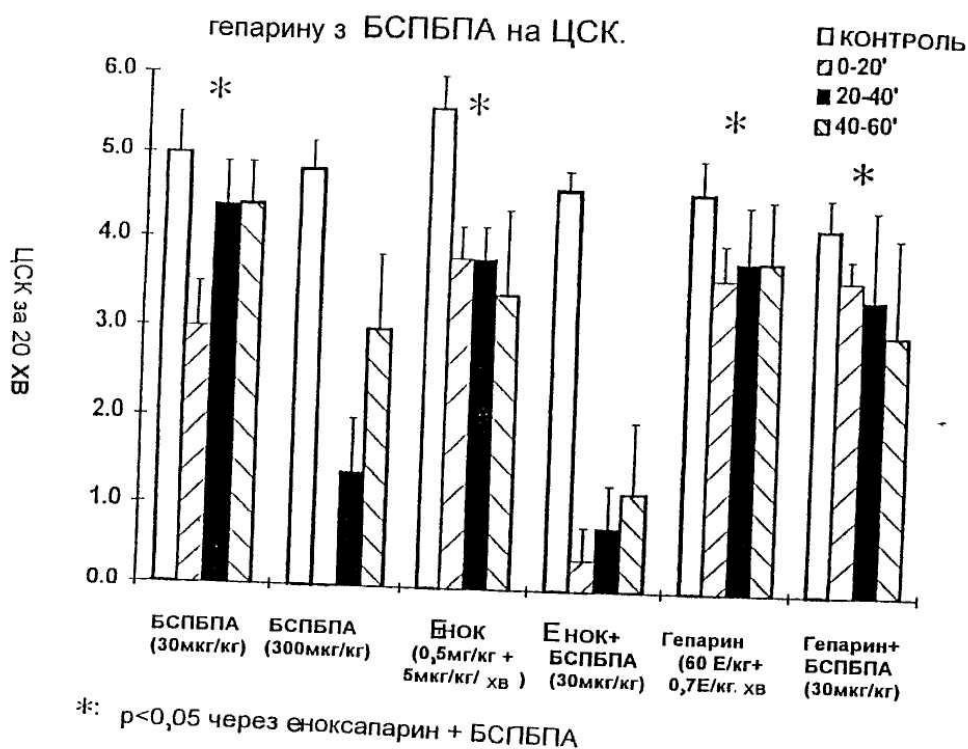
Ф і г. 1





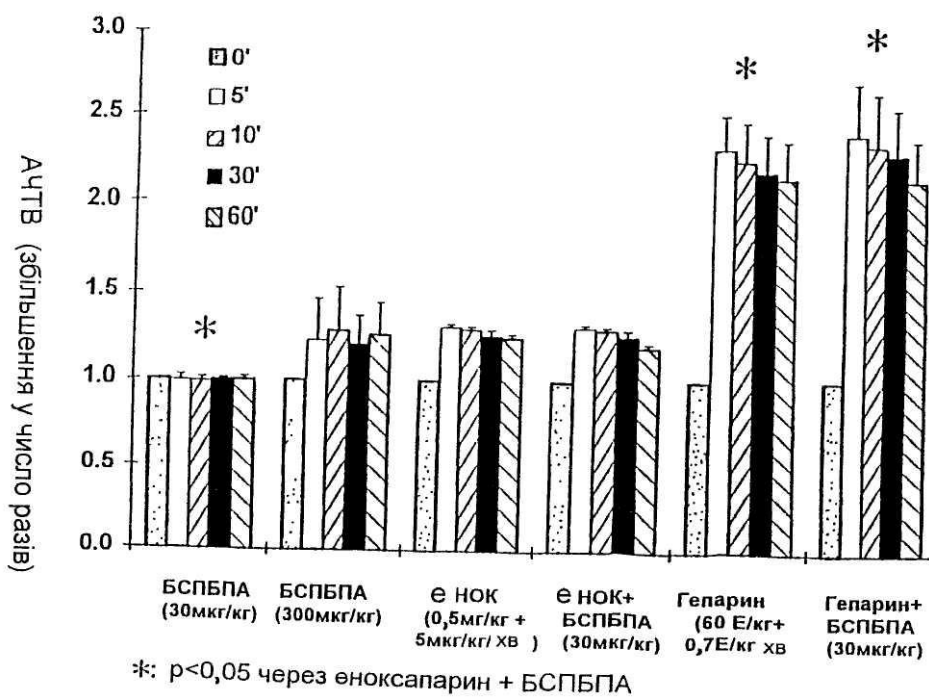
Вплив одночасного введення еноксапарину або

Ф і Г. 2

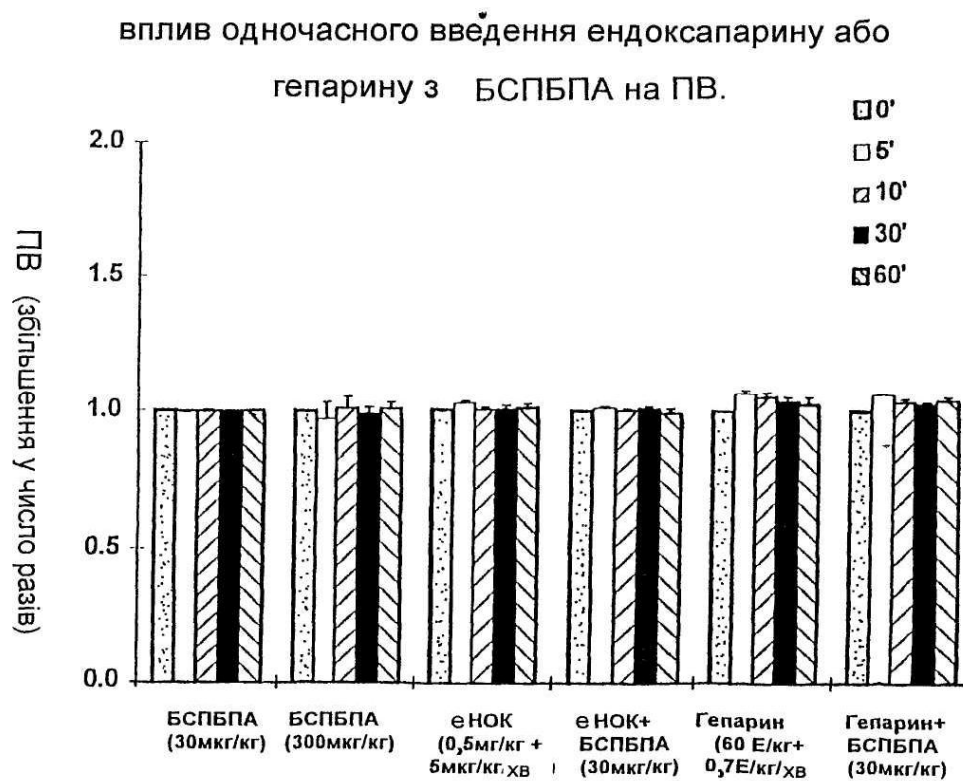


Вплив одночасного введення еноксапарину або  
гепарину з БСПБПА на АЧТВ.

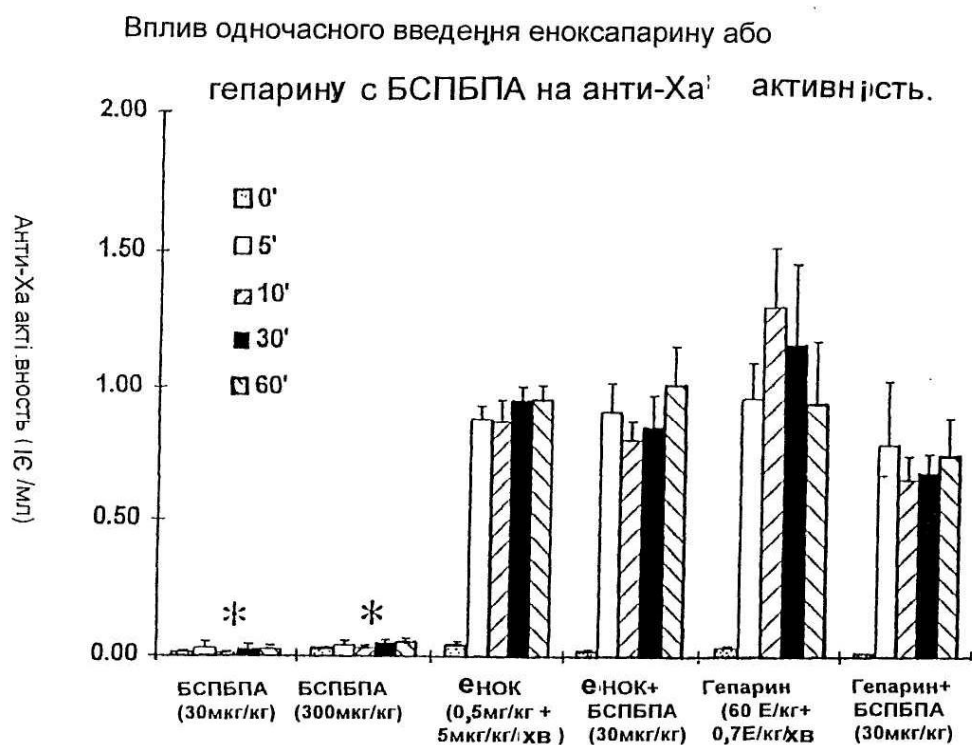
Ф і Г. 3



ФИГ. 4

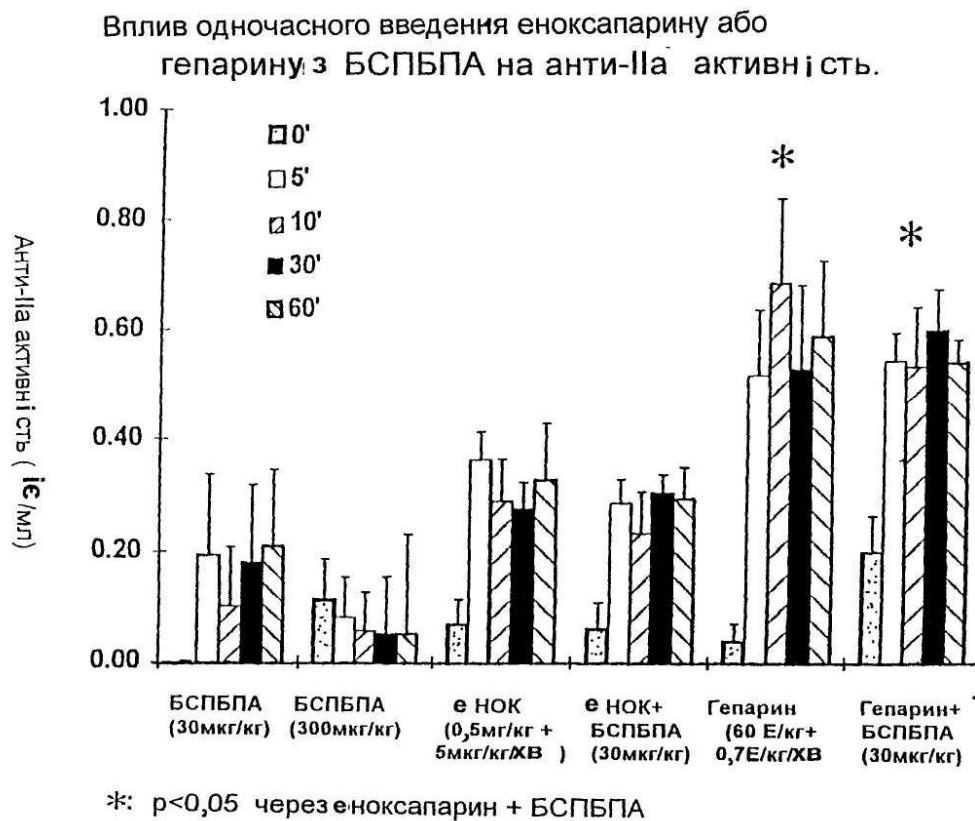


Фі Г. 5

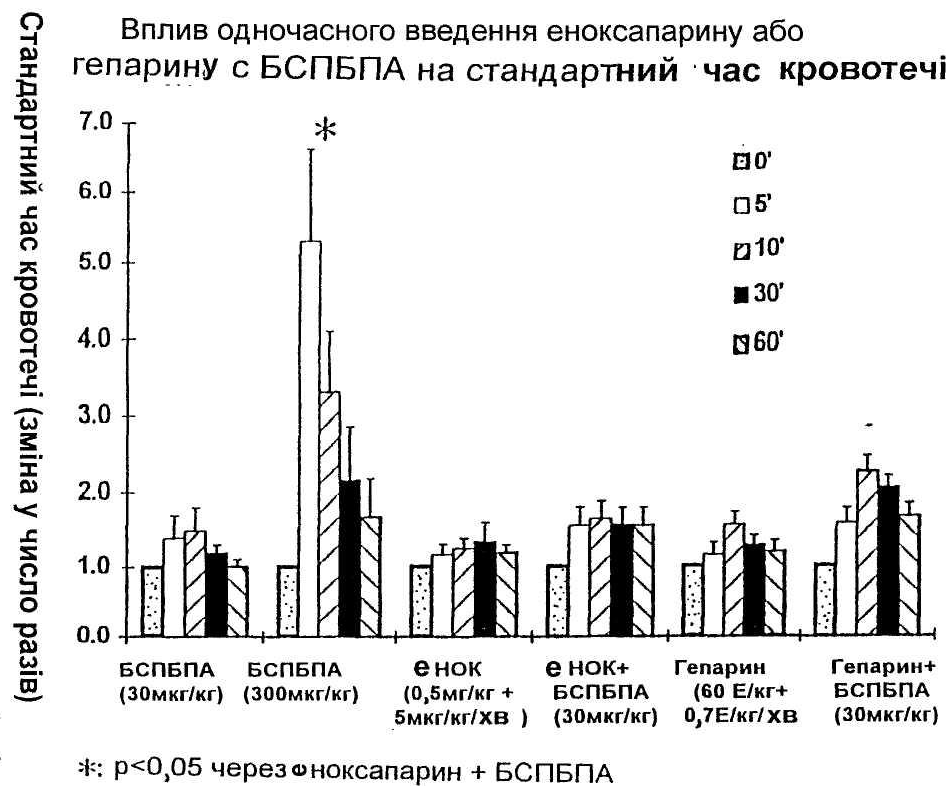


\*:  $p < 0,05$  через еноксапарин + БСПБПА

Фі Г. 6

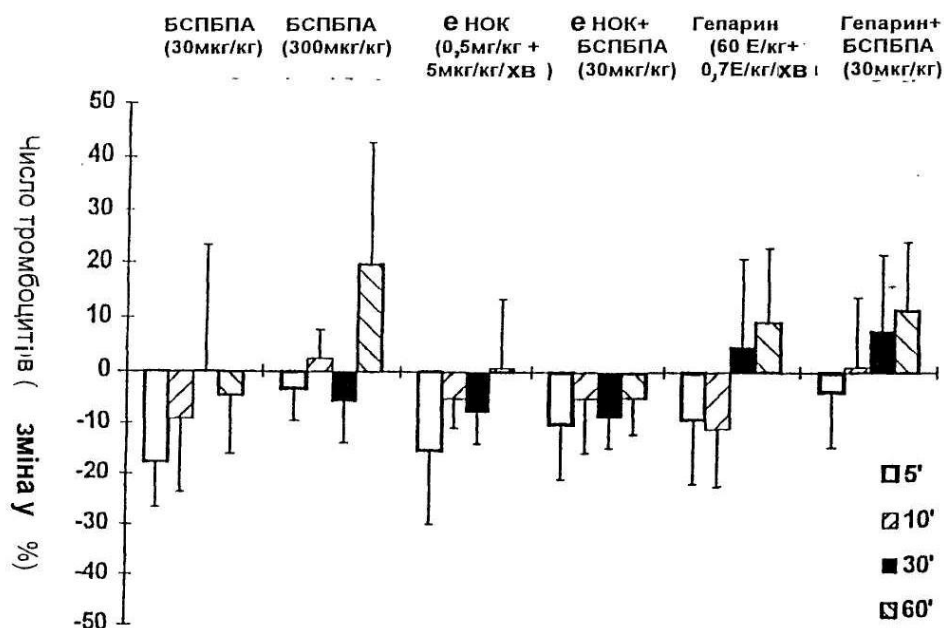


Фі Г. 7



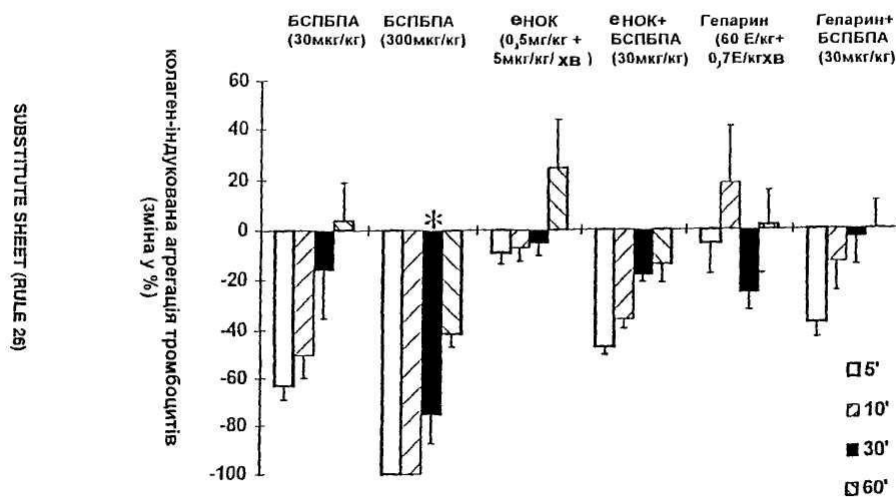
# Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину

БСПБПА на число тромбоцитів



## Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину з БСПБПА на

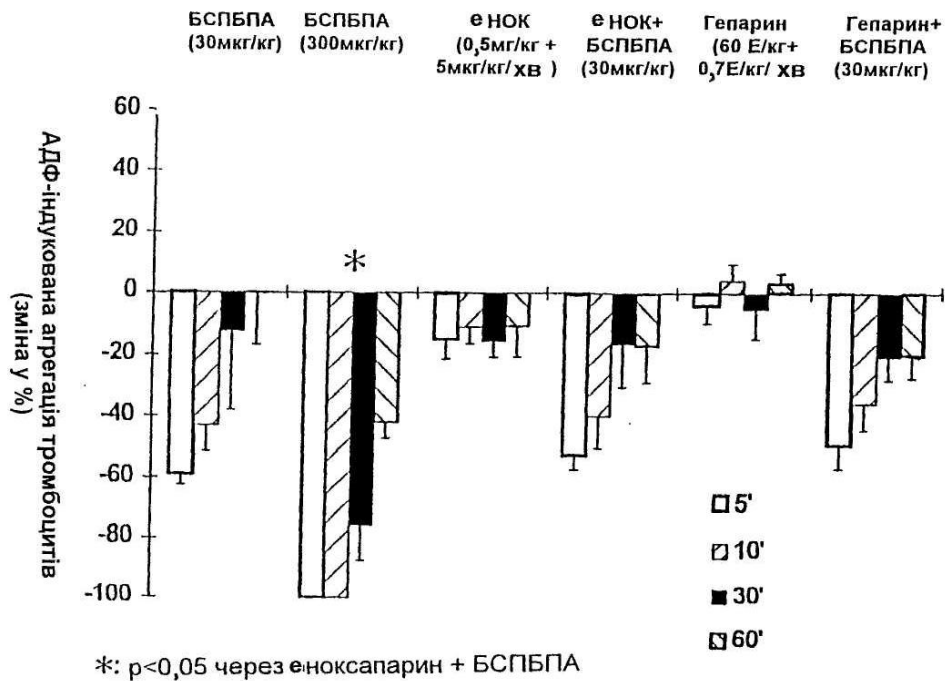
колаген-індуковану ex vivo агрегацію тромбоцитів



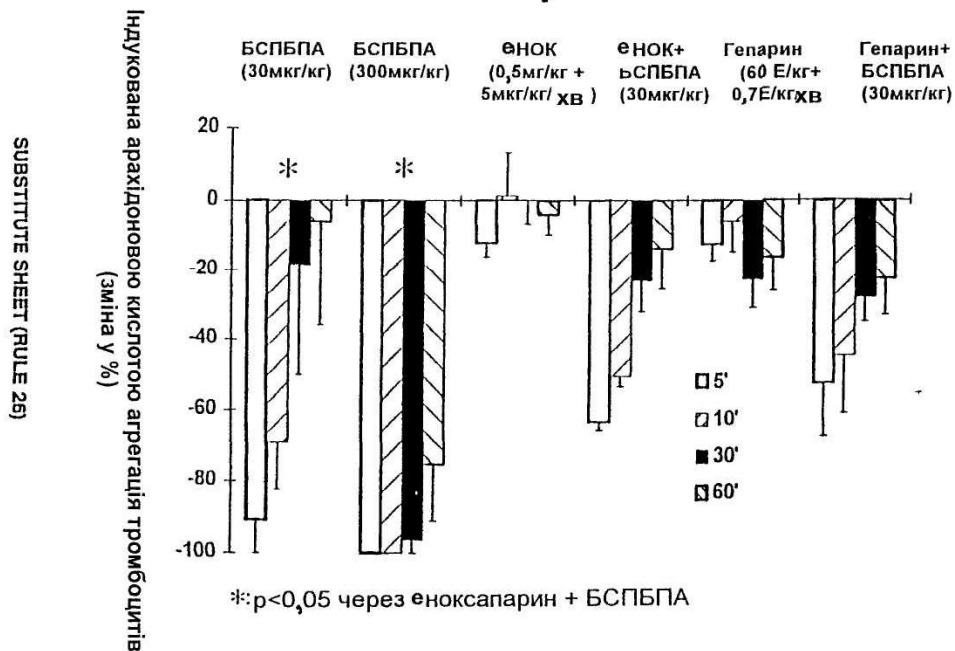
\*:  $p < 0,05$  через еноксапарин + БСПБПА

Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину

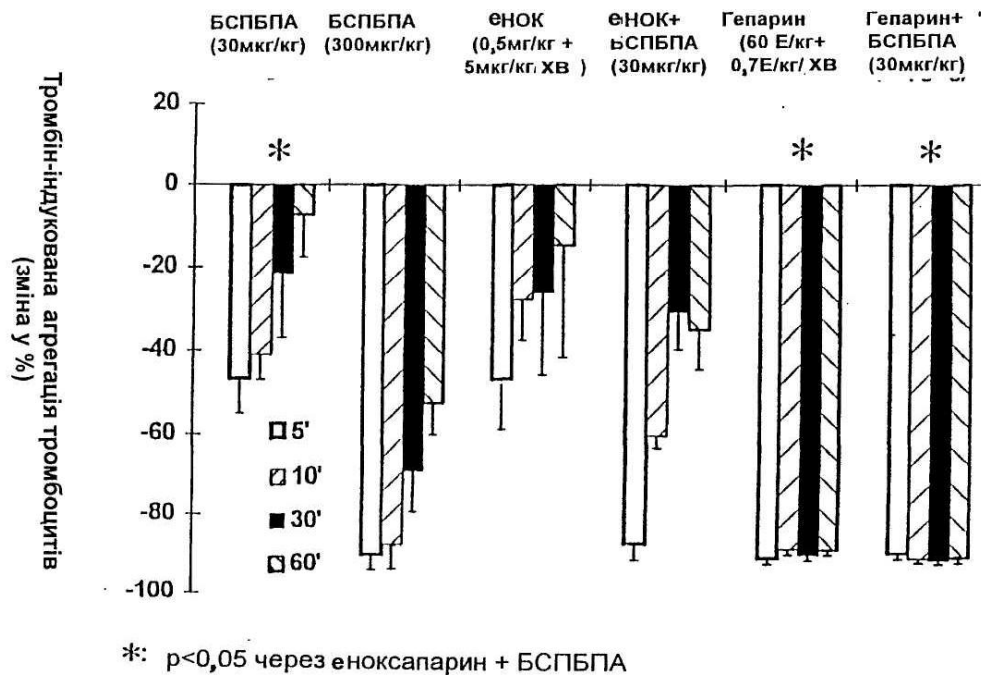
з БСПБПА на АДФ-індуковану ex vivo агрегацію тромбоцитів



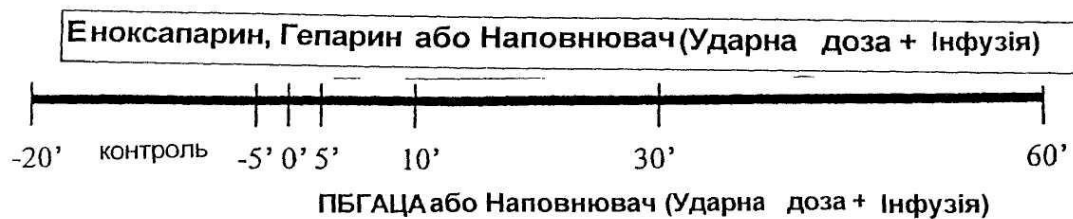
Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину БСПБПА на індуковану арахідоною кислотою ex vivo агрегацію тромбоцитів



**Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину з БСПБПА на колаген-індуковану ex vivo агрегацію тромбоцитів**



ФІГ. 13



**Зразки крові/Гемодинаміка**

Зразки артеріальної крові через -5, 5, 10, 30, 60 хв

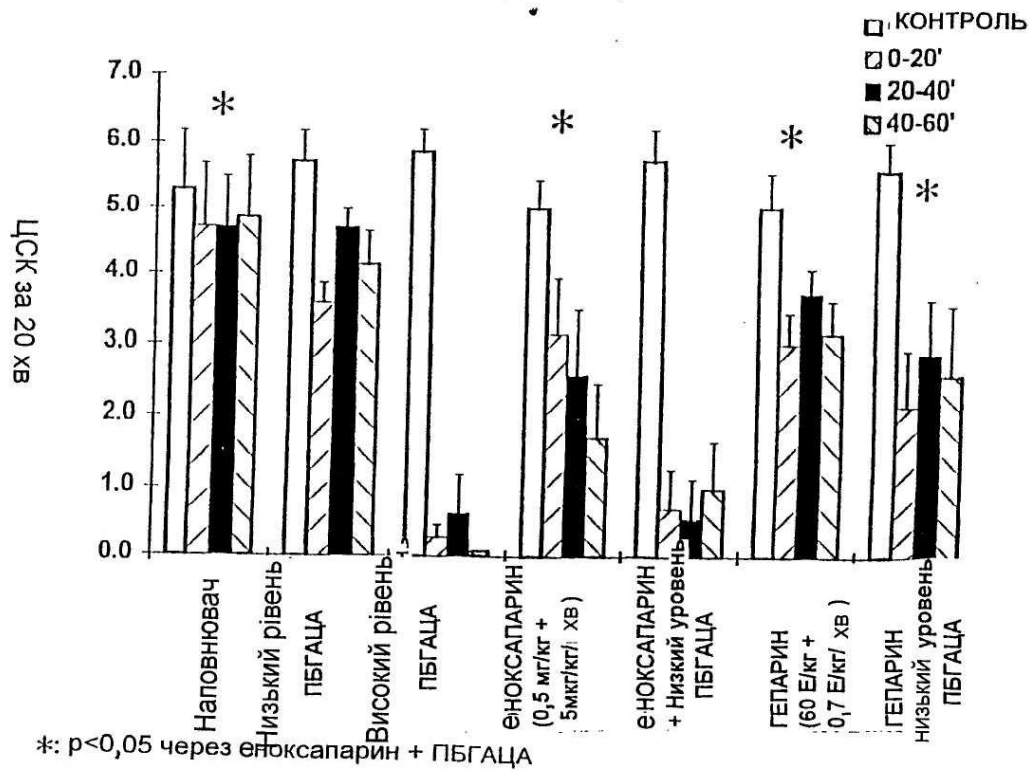
- АЧТВ, ПВ
- Анти-Ха, Анти-ІІа
- Стандартний час кровотечі
- Число тромбоцитів
- агрегація тромбоцитів (АДФ, колаген, Тромбін, АК)
- Коронарний кровоток (ЦСК за 20 хв періоди)

**Терапевтичні групи (n=5 у групі)**

- низький рівень ПБГАЦА (10 мкг/кг + 0,15 мкг/кг/ХВ )
- високий рівень ПБГАЦА (30 мкг/кг + 0,45 мкг/кг/ХВ )
- Еноксапарин (0,5 мкг/кг + 5 мкг/кг/ХВ )
- Еноксапарин (0,5 мкг/кг + 5 мкг/кг/ХВ ) плюс низький рівень ПБГАЦА
- Гепарин (60 Е/кг + 0,7 Е/кг/ХВ )
- Гепарин (60 Е/кг + 0,7 Е/кг/ХВ ) плюс низький рівень ПБГАЦА

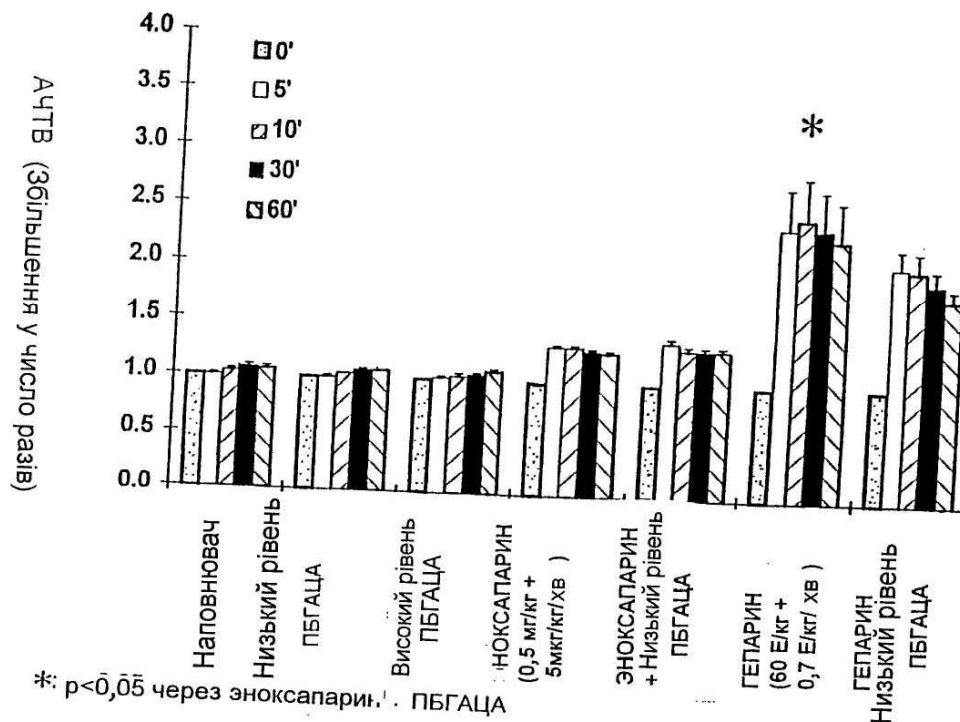
Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину  
гепарину з ПБГАЦА на ЦСК.

ФІГ. 14



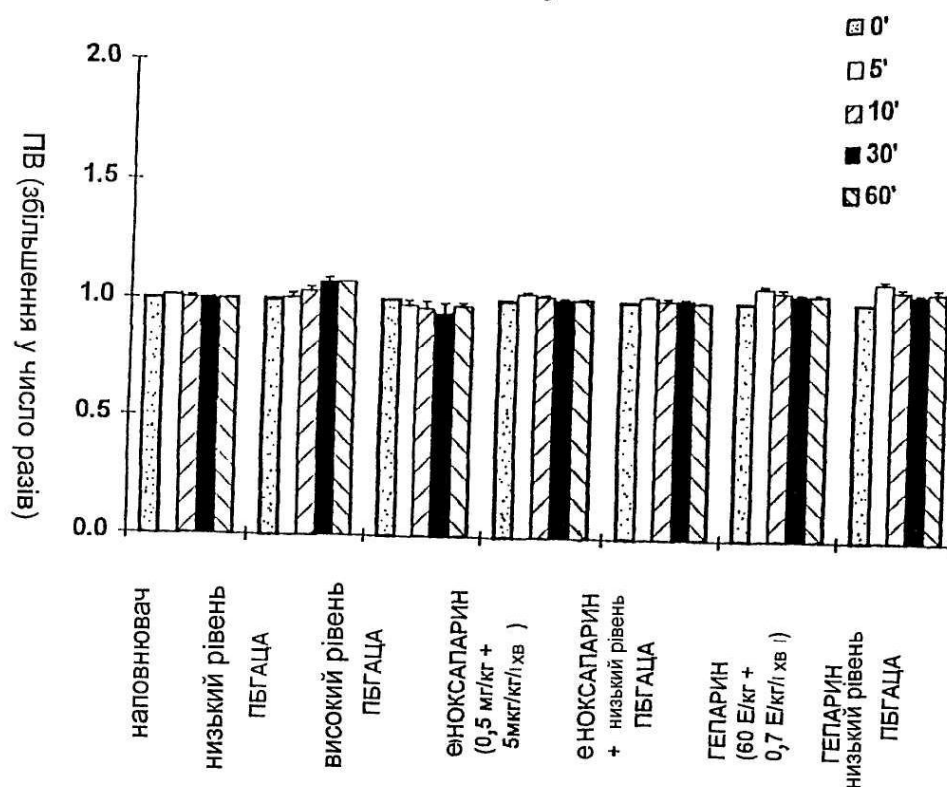
Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину  
з ПБГАЦА на АЧТВ.

ФІГ. 15



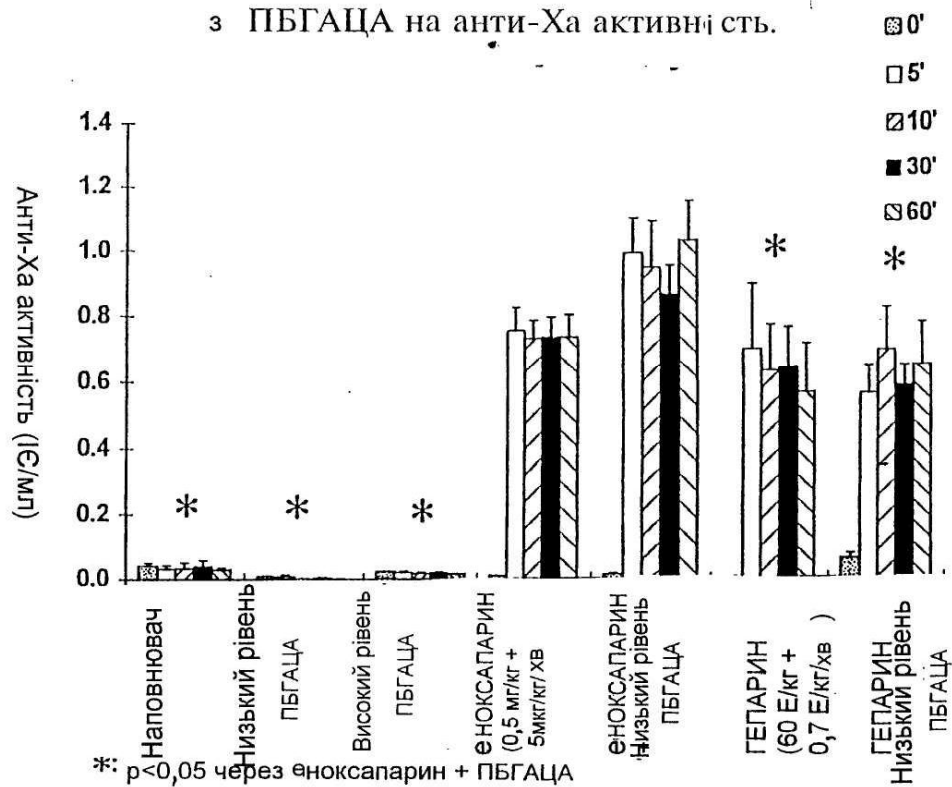
Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину  
гепарину з ПБГАЦА на ПВ.

ФІГ. 16

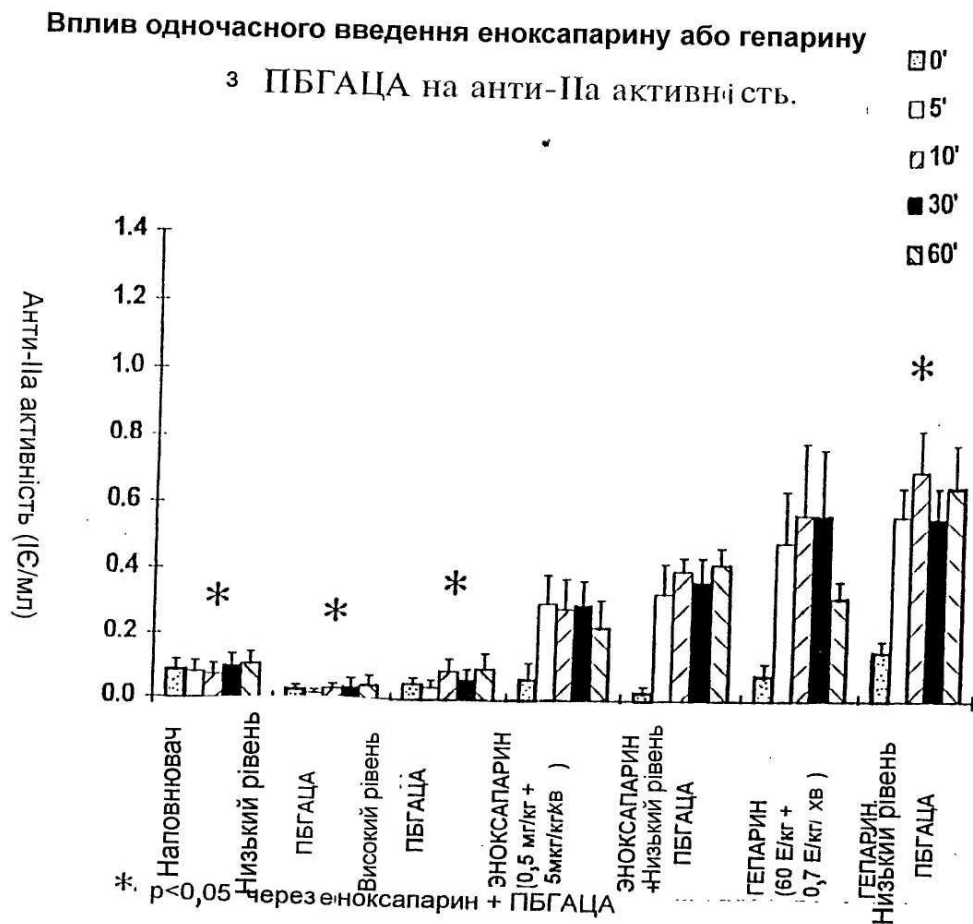


Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину  
з ПБГАЦА на анти-Ха активність.

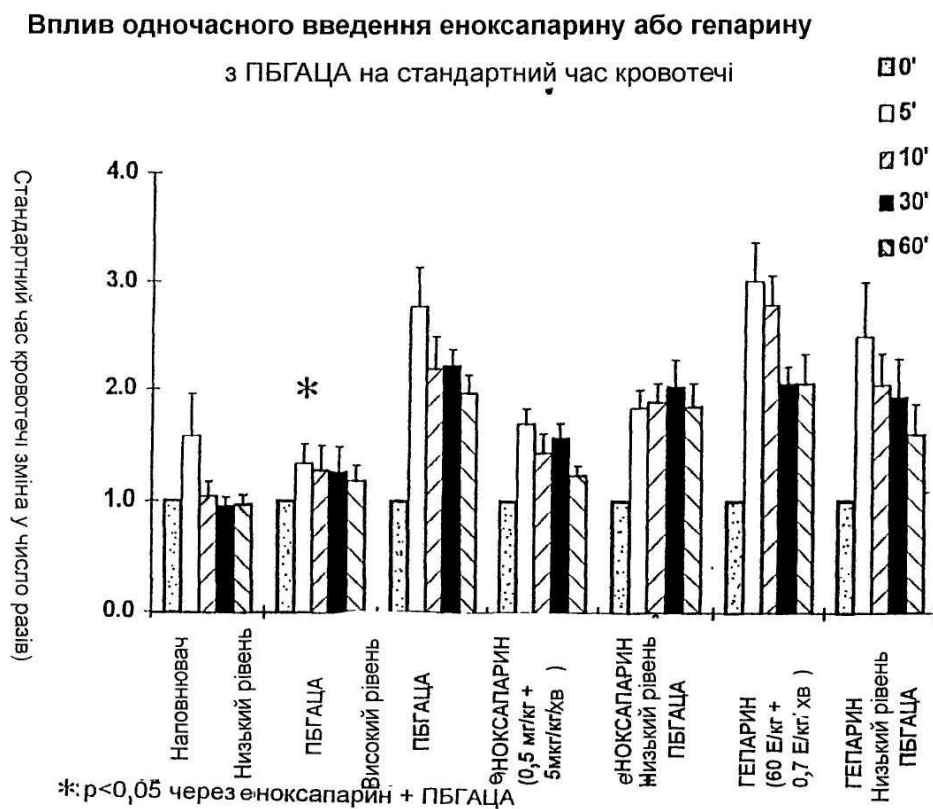
ФІГ. 17







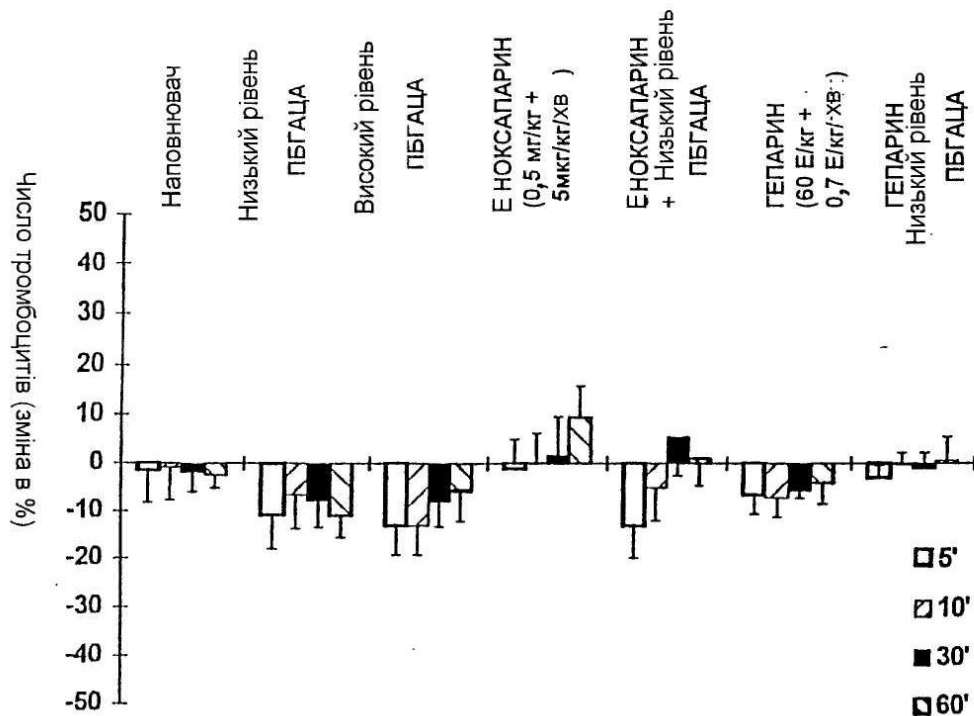
ФІГ. 18



ФІГ. 19

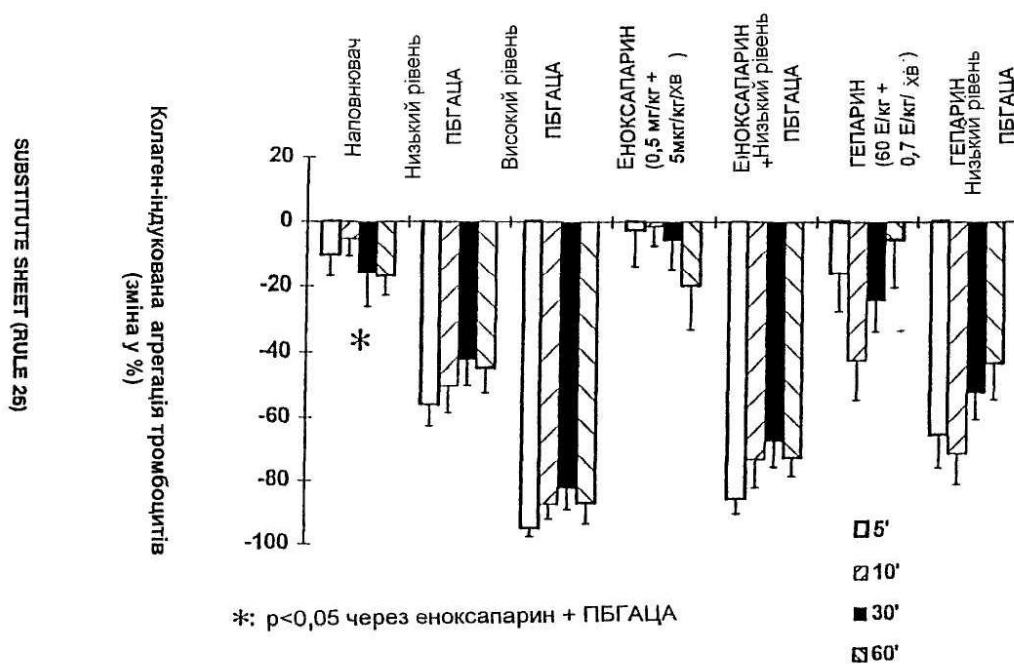
# Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину

з ПБГАЦА на число тромбоцитів



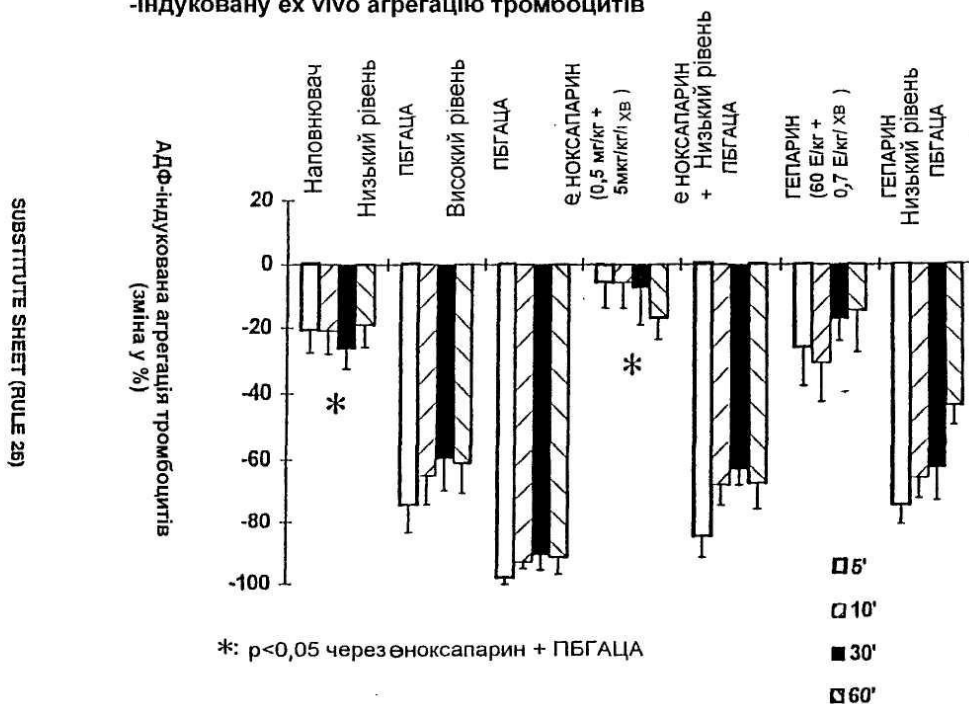
# Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину

з ПБГАЦА колаген-індуковану ex vivo агрегацію тромбоцитів



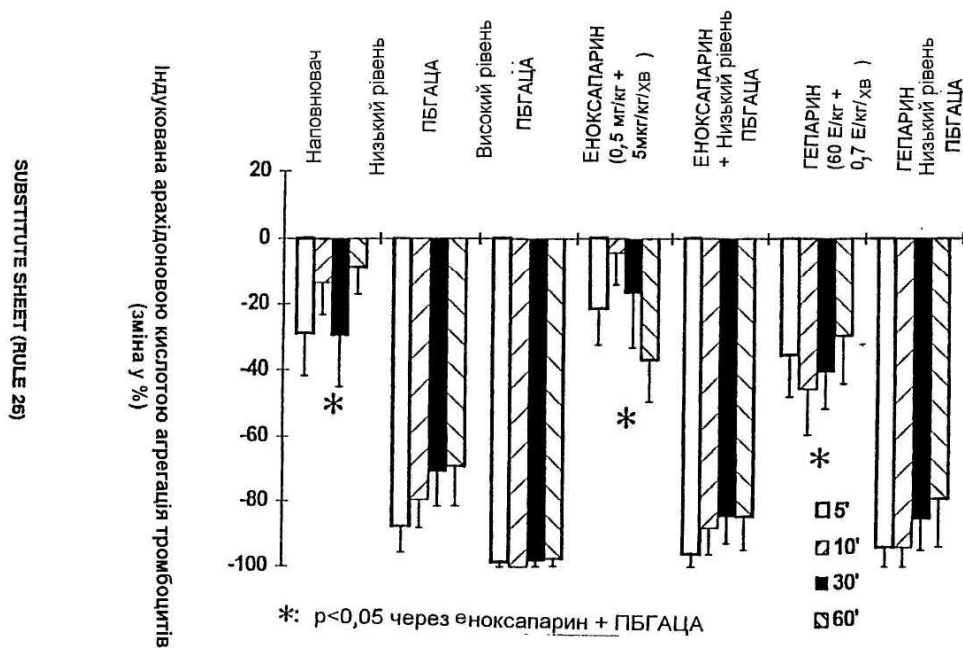
Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину з ПБГАЦА на АДФ-індуковану *ex vivo* агрегацію тромбоцитів

ФІГ. 22



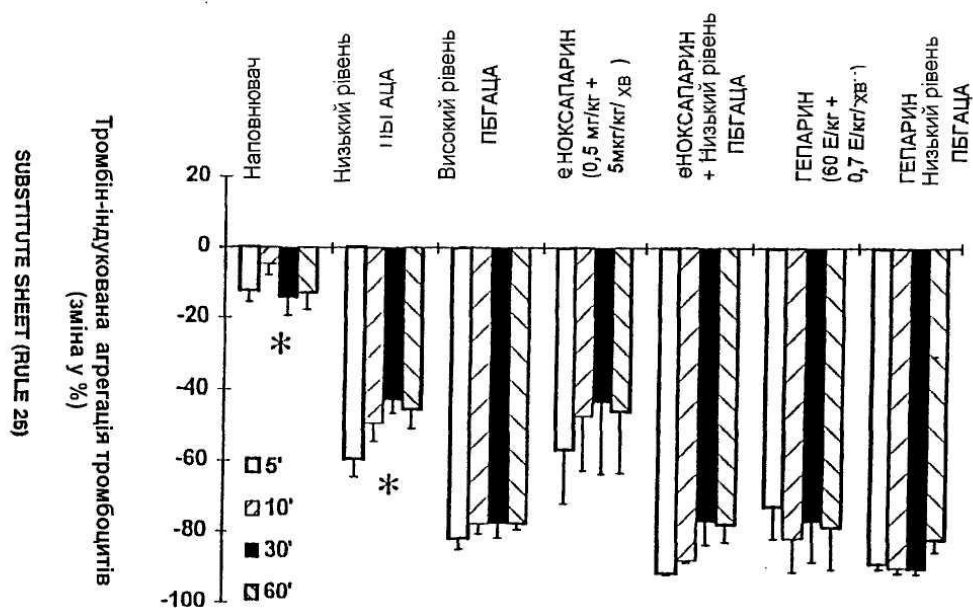
Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину з ПБГАЦА на індуковану арахідоновою кислотою *ex vivo* агрегацію тромбоцитів

ФІГ. 23



Вплив одночасного введення еноксапарину або гепарину  
с ПБГАЦА на тромбін-індуковану ex vivo агрегацію тромбоцитів

ФІГ. 24



\*:  $p < 0,05$  через еноксапарин + ПБГАЦА