

Результаты клинического исследования безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики оригинального антитромбоцитарного препарата из группы ингибиторов гликопротеиновых IIb/IIIa-рецепторов у здоровых добровольцев

Фитилёв С. Б.¹, Глухов Ю. Ф.², Лукьянов С. В.², Возжаев А. В.¹, Шкрёбнева И. И.¹, Казей В. И.³, Бондарева И. Б.¹

¹ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов». Москва; ²ООО «Компания «ЭЛТА». Москва; ³ООО «Экзактэ Лабс». Москва, Россия

Цель. Изучение переносимости, безопасности, фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики препарата Ангипур при внутривенном введении здоровым добровольцам в однократных разовых дозах.

Материал и методы. В клиническое исследование I фазы включено 20 здоровых добровольцев мужского пола (средний возраст 30,8±7,7 лет; средняя масса тела 77,4±12,1 кг). Препарат Ангипур (0,02% концентрат для приготовления раствора для инфузий) вводился каждому добровольцу 3 дня подряд последовательно в разовых однократных дозах 0,015, 0,05 и 0,09 мг/кг. Добровольцы были разделены на 6 групп (1, 1, 3, 5, 5, 5), каждая последующая группа набиралась только после завершения исследования добровольцами предыдущей группы. Оценивались частота и тяжесть нежелательных явлений (НЯ), основные ФК параметры препарата Ангипур и его антиагрегационная активность методом импедансной агрегатометрии.

Результаты. По данным клинического и лабораторного мониторинга в исследовании не зарегистрировано НЯ средней тяжести или тяжелых, серьезных НЯ. Всего зафиксировано 6 НЯ легкой степени тяжести у 4 добровольцев. Для 4 НЯ (незначительные отклонения в общем анализе крови и эпизод носового кровотечения) причинно-следственная связь с препаратом Ангипур была классифицирована как возможная и для 1 НЯ (слабо положительная реакция на скрытую кровь в кале) — как вероятная. Определены основные ФК параметры препарата Ангипур после однократного внутривенного введения доз 0,015, 0,05 и 0,09 мг/кг: C_{max} — 12,44±4,689, 46,10±14,295, 92,48±33,896 нг/мл; V_d — 304,01±55,300, 299,67±64,244, 252,96±47,790 л; $T_{1/2}$ — 6,72±1,290, 6,84±2,341, 6,06±2,287 ч; Cl — 32,19±6,919, 32,29±8,357, 31,55±10,113 л/ч, соответственно. Выявлена прямая пропорциональная зависимость (линейность ФК) параметров C_{max} , AUC_{0-1} и $AUC_{0-\infty}$ от величины дозы. Установлено дозозависимое снижение степени и площади под кривой аденозиндифосфат-индуцированной агрегации тромбоци-

тов в период от 15 мин до 2-4 ч после введения препарата Ангипур в дозах 0,05 и 0,09 мг/кг.

Заключение. В клиническом исследовании I фазы показана хорошая переносимость здоровыми добровольцами последовательного однократного внутривенного введения препарата Ангипур в дозах 0,015, 0,05 и 0,09 мг/кг, охарактеризованы его основные ФК параметры, продемонстрировано дозозависимое антиагрегантное действие.

Ключевые слова: ангипур, 3-метил-8-(пиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1-этил-1*H*-пурин-2,6(3*H*,7*H*)-диона гидрохлорид, здоровые добровольцы, фармакокинетика, безопасность, импедансная агрегатометрия.

Отношения и деятельность. Глухов Ю. Ф., Лукьянов С. В. являются сотрудниками ООО «Компания «ЭЛТА». Остальные авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье. Исследование проведено при финансовой поддержке ООО «Компания «ЭЛТА».

Поступила 25/08-2021

Рецензия получена 15/10-2021

Принята к публикации 04/11-2021



Для цитирования: Фитилёв С. Б., Глухов Ю. Ф., Лукьянов С. В., Возжаев А. В., Шкрёбнева И. И., Казей В. И., Бондарева И. Б. Результаты клинического исследования безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики оригинального антитромбоцитарного препарата из группы ингибиторов гликопротеиновых IIb/IIIa-рецепторов у здоровых добровольцев. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(3):3033. doi:10.15829/1728-8800-2022-3033

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: alex.vozzhaev@gmail.com

Тел.: +7 (910) 426-32 -80

[Фитилёв С. Б. — д.м.н., профессор кафедры общей и клинической фармакологии медицинского института, академик РАЕН, ORCID: 0000-0001-8395-419X, Глухов Ю. Ф. — генеральный директор, ORCID: 0000-0002-1266-6040, Лукьянов С. В. — д.м.н., зам. генерального директора по медико-фармацевтическим разработкам, ORCID: 0000-0002-6004-5791, Возжаев А. В.* — д.фарм.н., доцент кафедры общей и клинической фармакологии медицинского института, ORCID: 0000-0002-2687-5986, Шкрёбнева И. И. — к.м.н., доцент кафедры общей и клинической фармакологии медицинского института, ORCID: 0000-0002-0070-3115, Казей В. И. — к.б.н., генеральный директор, ORCID: 0000-0003-2032-6289, Бондарева И. Б. — д.б.н., профессор кафедры общей и клинической фармакологии медицинского института, ORCID: 0000-0002-8436-8931].

Safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of an original glycoprotein IIb/IIIa inhibitor in healthy volunteers: results of the clinical trial

Fitilev S. B.¹, Glukhov Yu. F.², Lukyanov S. V.², Vozzhaev A. V.¹, Shkrebneva I. I.¹, Kazei V. I.³, Bondareva I. B.¹

¹Peoples' Friendship University of Russia. Moscow; ²LLC ELTA Company. Moscow; ³LLC Exacte Labs. Moscow, Russia

Aim. To study the tolerability, safety, pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics of single intravenous infusions of Angipur in healthy male volunteers.

Material and methods. The Phase I trial included 20 healthy male volunteers (mean age, 30,8±7,7 years; mean body weight, 77,4±12,1 kg). Angipur (0,02% concentrate for solution for infusion) was administered to every subject in single doses 0,015, 0,05, 0,09 mg/kg for 3 consecutive days. Volunteers were divided in 6 groups (1, 1, 3, 5, 5, 5); every following group was recruited only after the previous one finished the study. The following were assessed: rate and severity of adverse events (AEs), key PK parameters of Angipur and its antiplatelet activity by impedance aggregometry.

Results. No moderate or severe AEs, as well as no serious AEs were reported according to obtained data of clinical and laboratory monitoring of healthy subjects. Totally 6 mild AEs were registered in 4 subjects. Four AEs (mild hematological deviations and episode of nose bleed) were classified as possibly related to study drug and 1 AE (positive fecal occult blood test) — probably related. Key PK parameters of Angipur in single intravenous doses 0,015, 0,05 и 0,09 mg/kg were determined as follows: C_{max} — 12,44±4,689, 46,10±14,295, 92,48±33,896 ng/ml; V_d — 304,01±55,300, 299,67±64,244, 252,96±47,790 l; $T_{1/2}$ — 6,72±1,290, 6,84±2,341, 6,06±2,287 h; Cl — 32,19±6,919, 32,29±8,357, 31,55±10,113 l/h, respectively. Dose proportionality (linear PK) for parameters C_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ was established. Dose-dependent reduction of ADP-induced platelet aggregation degree and area under curve was revealed at period of 15 min to 2-4 h after Angipur infusion in doses 0,05 and 0,09 mg/kg.

Conclusion. Results of phase I clinical trial demonstrated good tolerability of single intravenous infusions of Angipur (0,015, 0,05 и 0,09

mg/kg) in healthy subjects. We determined key PK parameters and indicated dose-dependent antiplatelet activity of Angipur.

Keywords: Angipur, 3-methyl-8-(piperazin-1-yl)-7-(thietan-3-yl)-1-ethyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione hydrochloride, healthy subjects, pharmacokinetics, safety, impedance aggregometry.

Relationships and Activities. Glukhov Yu. F., Lukyanov S. V. are employees of LLC ELTA Company. The remaining authors declare no potential conflict of interest. The study was financially supported by the LLC ELTA Company.

Fitilev S. B. ORCID: 0000-0001-8395-419X, Glukhov Yu. F. ORCID: 0000-0002-1266-6040, Lukyanov S. V. ORCID: 0000-0002-6004-5791, Vozzhaev A. V.* ORCID: 0000-0002-2687-5986, Shkrebneva I. I. ORCID: 0000-0002-0070-3115, Kazei V. I. ORCID: 0000-0003-2032-6289, Bondareva I. B. ORCID: 0000-0002-8436-8931.

*Corresponding author: alex.vozzhaev@gmail.com

Received: 25/08-2021

Revision Received: 15/10-2021

Accepted: 04/11-2021

For citation: Fitilev S. B., Glukhov Yu. F., Lukyanov S. V., Vozzhaev A. V., Shkrebneva I. I., Kazei V. I., Bondareva I. B. Safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of an original glycoprotein IIb/IIIa inhibitor in healthy volunteers: results of the clinical trial. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(3):3033. (In Russ.) doi:10.15829/1728-8800-2022-3033

АД — артериальное давление, АДФ — аденозиндифосфат, АФС — активная фармацевтическая субстанция, в/в — внутривенно, ГП — гликопротеиновый, ИП — исследуемый препарат, НЯ — нежелательное явление, ФД — фармакодинамика, ФК — фармакокинетика, ЧКВ — чрескожное коронарное вмешательство, ЭКГ — электрокардиограмма, АУС — площадь под кривой, СТСАЕ 4.03 — Common terminology criteria for adverse events, общие терминологические критерии для нежелательных явлений.

Ключевые моменты

- Проведено открытое нерандомизированное клиническое исследование I фазы по изучению безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики оригинального антитромбоцитарного препарата Ангипур из группы непептидных ингибиторов гликопротеиновых IIb/IIIa-рецепторов.
- Показана хорошая переносимость здоровыми добровольцами последовательного однократного внутривенного введения препарата Ангипур в дозах 0,015, 0,05 и 0,09 мг/кг, определены основные фармакокинетические параметры, показано дозозависимое антиагрегантное действие посредством метода импедансной агрегатометрии.
- Полученные пилотные данные по безопасности, фармакокинетики и фармакодинамике препарата Ангипур позволили разработать дизайн проводимого в настоящее время клинического исследования II фазы.

Key messages

- An open-label non-randomized phase I clinical trial was conducted to study the safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of the original non-peptide glycoprotein IIb/IIIa inhibitor Angipur.
- Favorable tolerability in healthy volunteers of single intravenous administration of Angipur at doses of 0,015, 0,05 and 0,09 mg/kg was shown; the main pharmacokinetic parameters were determined; dose-dependent antiplatelet activity was shown by impedance aggregometry.
- Obtained pilot data on safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of Angipur made it possible to develop the design of ongoing phase II clinical trial.

Введение

Антиагрегантная терапия является краеугольным камнем в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, т.к. существенно снижает риск атеротромбоза. Современный арсенал антитромбоцитарных препаратов представлен несколькими фармакологическими группами с разными механизмами действия и особенностями клинического применения [1].

Ингибиторы гликопротеиновых (ГП) IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов являются наиболее быстрыми и мощными антиагрегантами, т.к. их механизм действия заключается в торможении общего конечного этапа агрегации тромбоцитов — связывания ГП IIb/IIIa рецепторов с RGD трипептидом (аргинин-глицин-аспарагиновая кислота) молекулы фибриногена, что препятствует образованию фибриногеновых мостиков между соседними активированными тромбоцитами. Блокада ГП IIb/IIIa рецепторов предотвращает агрегацию тромбоцитов, вызванную тромбином, тромбоксаном A₂, коллагеном и адреналином [2, 3].

Согласно современным клиническим рекомендациям, применение ингибиторов ГП IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов показано, главным образом, при коронароангиопластике высокого риска: массивный или тотальный тромбоз коронарной артерии, острый тромбоз стента, дистальная эмболизация коронарного русла (отсутствие или недостаточность перфузии миокарда, несмотря на успешное восстановление антеградного кровотока в эпикардиальной артерии) [4]. В частности, синдром замедленного кровотока или отсутствия кровотока (англ. “slow-/no-reflow syndrome”) является опасным и распространенным осложнением чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ). Применение ингибиторов ГП IIb/IIIa рецепторов — эффективный медикаментозный метод лечения данного осложнения, имеющий серьезную доказательную базу [5, 6].

Доступные в настоящее время ингибиторы ГП IIb/IIIa рецепторов включают абциксимаб и руциромаб (Fab-фрагменты моноклональных антител), эптифибатид (циклический гептапептид) и тирофибан (непептидный низкомолекулярный препарат) [4].

Однако применение моноклональных антител ассоциируется с высоким риском кровотечения (необратимое антитромбоцитарное действие), развитием иммунозависимой тромбоцитопении и аллергическими реакциями вследствие образования антихимерных антител. У эптифибатиды кровоточивость и другие побочные эффекты выражены меньше (обратимое антитромбоцитарное действие), однако описаны иммуногенность и тромбоцитопения [7, 8]. Непептидный препарат тирофибан характеризуется более благоприятным профилем безопасности в контексте риска кровотечений и тромбоцитопении (при меньшей стои-

мости) [9, 10]. Именно данный препарат является единственным непептидным ингибитором ГП IIb/IIIa-рецепторов, доступным с недавнего времени в России (зарегистрирован в ноябре 2020г).

Отечественных химиосинтетических ингибиторов ГП IIb/IIIa-рецепторов тромбоцитов на сегодняшний день не существует. Большинство современных антиагрегантов другого механизма действия также импортируется из-за рубежа, что сопряжено с достаточно высокими затратами, поэтому разработка, изучение и внедрение новых антитромбоцитарных средств российского производства является важной задачей в решении проблемы тромботических осложнений сердечно-сосудистых заболеваний в России.

Ангипур (ООО “Компания “ЭЛТА”, Россия) представляет собой оригинальный антитромбоцитарный низкомолекулярный лекарственный препарат из группы непептидных ингибиторов ГП IIb/IIIa-рецепторов, полученный путем химического синтеза. На кафедре фармацевтической химии ФГБОУ ВО “Башкирский государственный медицинский университет” Минздрава России была синтезирована субстанция 3-метил-8-(пиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1-этил-1H-пурин-2,6(3H,7H)-диона гидрохлорид (патент RU 2404181 C1 от 02.06.2009) и на ее основе разработан препарат Ангипур в лекарственной форме — 0,02% концентрат для приготовления раствора для инфузий. Данное торговое название зарегистрировано 05.12.2018г (идентификационный номер 686292).

На базе ФГБОУ ВО “Волгоградский государственный медицинский университет” Минздрава России были проведены доклинические исследования активной фармацевтической субстанции (АФС) Ф-168) и лекарственного препарата Ангипур, в которых изучены фармакологические и токсикологические свойства [11-13]. В результате исследований АФС Ф-168 в условиях *in vitro* и *in vivo* было установлено, что механизм ее антиагрегантного действия сложный, преимущественно связанный с блокированием ГП IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов. Было продемонстрировано прямое дозозависимое связывание АФС Ф-168 с интегринами CD41a и CD61 ГП IIb/IIIa рецепторов. Полученные данные изучения острой и хронической токсичности позволили отнести препарат к классу малотоксичных веществ [14]. Результаты доклинических исследований стали основанием для проведения клинического исследования I фазы препарата Ангипур у здоровых добровольцев № 01/17-ELTA, которое было одобрено Минздравом России (разрешение № 566 от 13.11.2018).

Цель исследования — изучение переносимости, безопасности, фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД) препарата Ангипур (0,02% концентрата для приготовления раствора для ин-

фузий) при внутривенном (в/в) введении здоровым добровольцам в однократных разовых дозах 0,015 мг/кг, 0,05 мг/кг и 0,09 мг/кг.

Материал и методы

На клинической базе кафедры общей и клинической фармакологии ФГАОУ ВО “Российский университет дружбы народов” — в ГБУЗ г. Москвы “Городская поликлиника № 2 Департамента здравоохранения г. Москвы” — было проведено открытое нерандомизированное клиническое исследование I фазы по изучению переносимости, безопасности, ФД и ФК препарата Ангипур при в/в введении здоровым добровольцам.

Исследование проводили в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013г), Федеральным законом РФ “Об обращении лекарственных средств” № 61-ФЗ от 12.04.2010, Национальным стандартом РФ ГОСТ Р 52379-2005 “Надлежащая клиническая практика”, Приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 200н “Об утверждении правил надлежащей клинической практики”.

Набор добровольцев в исследование осуществлялся поэтапно с делением на 6 групп и с последовательным увеличением числа добровольцев в группе: 1, 1, 3, 5, 5, 5. Каждая последующая группа набиралась только после завершения исследования добровольцами предыдущей группы. Такой дизайн допускается согласно британскому и европейскому руководствам по исследованиям, проводимым впервые у человека, в случае, если исследуемый препарат является низкомолекулярным химическим соединением, не является высокотоксичным и имеет короткий период полувыведения [15, 16]. При этом были соблюдены необходимые условия: наличие “сигнальных” добровольцев и последовательная оценка безопасности.

Исследуемый препарат (ИП) Ангипур (0,02% концентрат для приготовления раствора для инфузий) в разведении физиологическим раствором натрия хлорида 0,9% (в соотношении 1:1) вводился каждому добровольцу 1 раз/сут. утром 3 дня подряд в/в с помощью перфузора в течение 15 мин последовательно в разовых однократных дозах 0,015, 0,05 и 0,09 мг/кг, что, с учетом разведения, составляло 0,15, 0,5 и 0,9 мл/кг готового раствора ИП, соответственно.

Критериями включения в исследование были:

- мужской пол;
- возраст 18-45 лет;
- индекс массы тела 18,5-28 кг/м²;
- верифицированный диагноз “здоров” по данным стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования;

• наличие письменного информированного согласия добровольца на участие в исследовании, согласно действующему законодательству.

Основными критериями невключения в исследование являлись: отягощенный аллергологический анамнез; непереносимость действующего вещества или вспомогательных компонентов исследуемого препарата; наличие в анамнезе заболеваний системы крови, хронических заболеваний сердечно-сосудистой, бронхолегочной, нервной, эндокринной систем, желудочно-кишечного тракта, печени, почек; хирургические вмешательства на

желудочно-кишечном тракте в анамнезе; острые инфекционные заболевания за <4 нед. до начала исследования; отклонения от физиологической нормы данных параметров жизненно-важных функций — артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений, электрокардиограммы (ЭКГ) и лабораторных анализов; прием лекарственных препаратов, оказывающих выраженное влияние на гемодинамику, функцию печени; алкоголизм, наркомания, токсикомания, положительный анализ мочи на содержание наркотических и психотропных веществ.

На основании представленных выше критериев отбора по результатам скринингового обследования в исследование было включено 20 здоровых добровольцев мужского пола в возрасте 19-44 лет (средний возраст 30,8±7,7 лет) с массой тела 59-95 кг (в среднем, 77,4±12,1 кг). Все участники полностью прошли все процедуры исследования и завершили его согласно протоколу.

Оценку безопасности (количество, тяжесть нежелательных явлений (НЯ), их связь с ИП) проводили по данным клинического (жалобы, результаты физикального осмотра по системам органов, состояние жизненно-важных функций), инструментального (ЭКГ в 12-ти отведениях) и лабораторного (клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, анализ коагулограммы, анализ кала на скрытую кровь) мониторинга.

Критериями непереносимости ИП были: возникновение аллергической или псевдоаллергической реакции, большого или умеренного кровотечения, тромбоцитопении IV ст. или тромбоцитопении III ст. с кровотечением, другого НЯ ≥III ст. тяжести по критериям СТСАЕ 4.03 (Common terminology criteria for adverse events — “Общие терминологические критерии для нежелательных явлений”) или серьезных НЯ, связанных с введением препарата.

В исследовании изучались следующие *фармакокинетические параметры*:

- C_{max} (нг/мл) — максимальная концентрация;
- AUC_{0-t} (нг×ч/мл) — площадь под кривой зависимости концентрации от времени от нулевого момента (т.е. от начала введения) до последнего момента измерения;
- $AUC_{0-\infty}$ (нг×ч/мл) — площадь под кривой зависимости концентрации от времени от нулевого момента (т.е. от начала введения) с экстраполяцией до бесконечности;
- V_d (л) — объем распределения;
- $T_{1/2}$ (ч) — период полувыведения;
- k_{el} (1/ч) — константа скорости элиминации;
- Cl (л/ч) — общий (плазменный) клиренс;
- MRT (mean residence time) (ч) — среднее время удержания препарата.

Все ФК параметры были рассчитаны индивидуально для каждого здорового добровольца с помощью некомпартментного метода на основании его данных время—концентрация препарата в крови с использованием фактических значений времени взятия образцов крови, собранных до начала введения и в следующие временные точки после окончания в/в введения каждой дозы ИП: через 1, 15, 30 мин, 1, 2, 4, 7, 9, 12 ч.

Определение концентрации ИП в плазме крови проводили в биоаналитической лаборатории ООО “Экзакт Лабс” методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/

Таблица 1

НЯ, зарегистрированные после однократного в/в введения препарата Ангипур здоровым добровольцам (n=20) в изучаемых дозах

НЯ	n (%)	Доза*, мг/кг	Степень тяжести	Связь с препаратом
Увеличение скорости оседания эритроцитов	1 (5)	0,05	легкая	возможная
Снижение содержания гемоглобина	1 (5)	0,015	легкая	возможная
Снижение гематокрита	1 (5)	0,05	легкая	возможная
Местная реакция на фиксирующий пластырь	1 (5)	0,05	легкая	не подлежит классификации
Носовое кровотечение	1 (5)	0,05	легкая	возможная
Положительная реакция на скрытую кровь в кале	1 (5)	0,09	легкая	вероятная

Примечание: * — НЯ считалось относящимся к определенной дозе ИП, если оно развилось в течение суток после введения этой дозы и до введения следующей дозы. НЯ — нежелательное явление.

МС). Нижний предел количественного определения для препарата Ангипур составлял 0,1 нг/мл.

Оценка ФД ИП проводилась посредством определения аденозиндифосфат (АДФ)-индуцированной агрегации тромбоцитов импедансным методом с помощью агрегометра “Chrono-Log” (модель 590) на образцах цельной крови [17], собранных до начала введения и в следующие временные точки после окончания в/в введения каждой дозы ИП: через 15, 30 мин, 1, 2, 4, 7 ч. Для исследования АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов использовался АДФ в конечной концентрации 5 мкМ. Запись агрегатограмм осуществлялась в течение 6 мин при постоянном перемешивании образцов (1000 об./мин) и температуре 37° С. Для количественного описания агрегации тромбоцитов применялись следующие параметры:

- степень агрегации (Amplitude, Ом) — оценивается по максимальной амплитуде агрегатограммы, которая соответствует наибольшему увеличению сопротивления (импеданса) на электроде после добавления индуктора (АДФ);
- AUC, т.е. произведение амплитуды на скорость ее достижения;
- время задержки (Lag Time, сек) — оценивается по времени, прошедшему после добавления индуктора и до начала агрегации.

Исходя из полученных данных, рассчитывалась дельта (%) ингибирования агрегации тромбоцитов на фоне введения ИП для каждого вышеуказанного параметра.

Статистический анализ выполнен с помощью программы IBM SPSS Statistics, версия 26.0. Для представления описательной статистики количественных показателей демографических характеристик и фармакодинамических параметров использовали среднее (M) и стандартное отклонение (SD) при незначительных отличиях от нормального закона распределения или медиану (Me) и интерквартильный размах [Q1-Q3], если графические методы демонстрировали значительное отличие распределения значений показателя от нормального закона. Качественные показатели представлены в виде абсолютных и относительных (долей в процентах) значений. Различия между дозовыми уровнями для ФД показателей тестировались с помощью непараметрического парного критерия знаковых рангов Уилкоксона. Соотношение пропорциональности между основными ФК параметрами (AUC, C_{max}) и вводимой дозой (dose) ИП

анализировали на основе модели степенной функции (the power model: $y=a \times \text{dose}^b$, где a — константа и b — константа пропорциональности). Статистически значимыми считались различия на уровне значимости 5%.

Результаты

Оценка безопасности. На всем протяжении клинического исследования участники жалоб не предъявляли. Общее состояние добровольцев на всех визитах было удовлетворительным. Физикальное обследование по основным системам органов отклонений от нормы не выявило, за исключением местной реакции (гиперемия) на фиксирующий кубитальный катетер пластырь, развившейся у одного добровольца. Введение ИП во всех трех дозах не оказало значимого влияния на показатели систолического и диастолического АД, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений и температуры тела, которые оставались в пределах нормы в течение всего периода наблюдения. Также инфузии ИП не оказали значимого влияния на показатели биохимического анализа крови, коагулограммы, общего анализа мочи и параметры ЭКГ.

В ходе исследования после в/в введения препарата Ангипур у 4 (20%) добровольцев развилось в общей сложности 6 НЯ (таблица 1). Все НЯ были классифицированы как имеющие легкую степень тяжести, не требовали отмены ИП, специального лечения и разрешились самостоятельно. 3 НЯ, возникшие у одного и того же добровольца, представляли собой клинически значимые (по оценке исследователей) отклонения показателей общего анализа крови: снижение гемоглобина со 137 до 109 г/л и гематокрита с 41,8 до 34,0%, повышение скорости оседания эритроцитов до 18 мм/ч.

Легкое носовое кровотечение, зарегистрированное у одного добровольца через 12 ч после введения ИП в дозе 0,05 мг/кг, прекратилось самостоятельно без медицинского вмешательства и больше не возобновлялось. Также только у одного добровольца была выявлена слабо положительная реак-

ФК параметры препарата Ангипур при однократном в/в введении здоровым добровольцам (n=20) в изучаемых дозах

ФК параметры	Доза	0,015 мг/кг, M±SD	0,05 мг/кг, M±SD	0,09 мг/кг, M±SD
AUC _{0-t} , нг×ч/мл		27,11±3,653	92,04±14,388	180,39±34,354
AUC _{0-∞} , нг×ч/мл		37,03±6,663	125,76±30,163	239,61±72,446
C _{max} , нг/мл		12,44±4,689	46,10±14,295	92,48±33,896
k _{el} , 1/ч		0,1073±0,0231	0,1109±0,03307	0,1257±0,03443
T _{1/2} , ч		6,72±1,290	6,84±2,341	6,06±2,287
Cl, л/ч		32,19±6,919	32,29±8,357	31,55±10,113
V _d , л		304,01±55,300	299,67±64,244	252,96±47,790
MRT, ч		8,94±1,678	8,93±2,762	8,18±2,798

Примечание: ФК — фармакокинетика, MRT — mean residence time (среднее время удержания препарата).

ция на скрытую кровь в кале через 24 ч после введения ИП в дозе 0,09 мг/кг, однако при повторном анализе спустя 8 дней реакция на скрытую кровь была отрицательной. Причинно-следственная связь для данного НЯ была оценена как вероятная.

Возникновение среднетяжелого или тяжелого кровотечения, тромбоцитопении IV ст. или тромбоцитопении III ст. с кровотечением, другого НЯ ≥III ст. тяжести по критериям STCAE 4.03 или серьезных НЯ у ≥5 добровольцев, получивших какую-либо дозу ИП, означало бы непереносимость этой дозы, и у остальных добровольцев она бы не применялась. Максимально переносимой дозой в таком случае считалась бы предыдущая доза. В проведенном исследовании ни у одного из добровольцев после введения каждой дозы ИП не отмечалось НЯ указанной выше тяжести, что позволило считать переносимость всех доз препарата хорошей.

Анализ ФК. Концентрация Ангипура в плазме крови была измерена у всех здоровых добровольцев во всех запланированных временных точках, что позволило определить основные ФК параметры ИП при однократном в/в введении (таблица 2).

Максимальная концентрация (C_{max}) ИП в плазме крови после однократного в/в введения доз 0,015, 0,05 и 0,09 мг/кг отмечалась через 1 мин после окончания введения. Спустя 15 мин после завершения инфузии концентрация ИП быстро снижалась с последующим медленным снижением в течение 12 ч (рисунок 1). Концентрация и площадь под кривой “концентрация–время” напрямую зависели от дозы. Другими словами, выявлена прямая пропорциональная зависимость параметров C_{max}, AUC_{0-t} и AUC_{0-∞} от величины дозы, т.е. линейность фармакокинетики ИП, поскольку 90% доверительный интервал для коэффициента пропорциональности (b) указанных параметров содержал 1 (p=0,000).

Объем распределения (V_d) составил не <250 л, что свидетельствует об интенсивном распределении ИП в ткани и биологические жидкости организма.

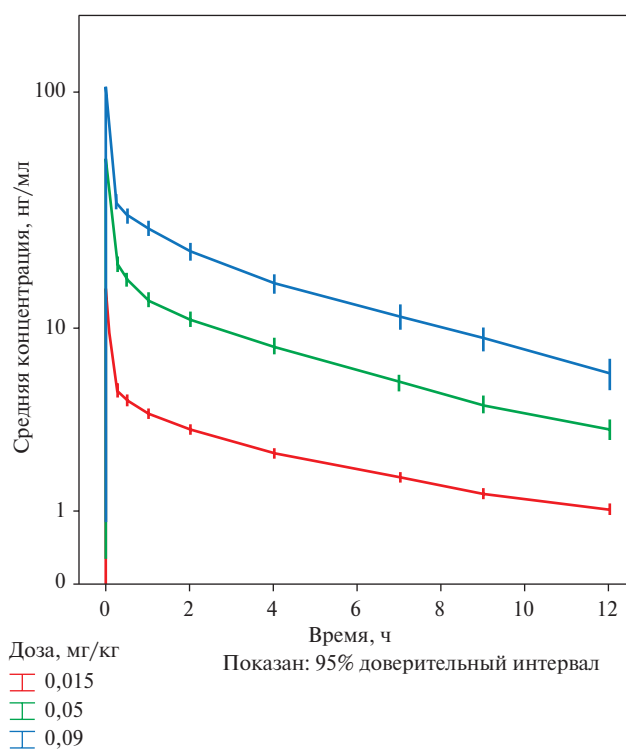


Рис. 1 Средние ФК кривые при однократном в/в введении препарата Ангипур в изучаемых дозах здоровым добровольцам (n=20) по полулогарифмической шкале. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

Период полувыведения (T_{1/2}) после введения изучаемых доз был равен ~6,5 ч, а общий клиренс (Cl) препарата составил ~32 л/ч.

Анализ ФД. В рамках исследования влияния препарата Ангипур на индуцированную агрегацию тромбоцитов были изучены агрегатограммы, полученные в каждой временной точке после введения индуктора АДФ (в конечной концентрации 5 мкМ) до и после введения ИП в изучаемых дозах.

Снижение максимальной амплитуды (Amplitude) агрегатограммы (наибольшего сопротивления на электроде), характеризующей степень агрегации

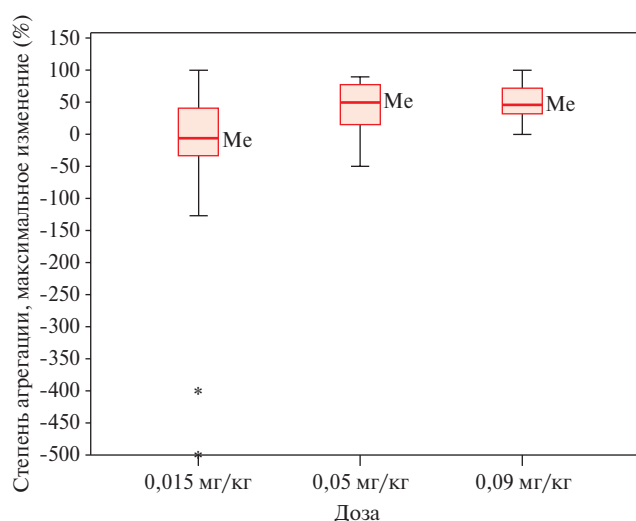


Рис. 2 Максимальное изменение (%) степени агрегации (Amplitude) после в/в однократного введения препарата Ангипур в изучаемых дозах здоровым добровольцам.

Примечание: * — наблюдения (экстремальные выбросы) со значениями, превышающими три интерквартильных размаха, Me — медиана.

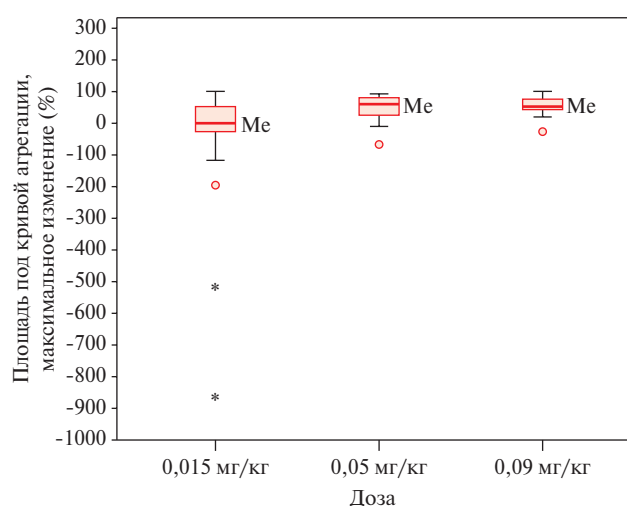


Рис. 3 Максимальное изменение (%) AUC после однократного в/в введения препарата Ангипур в изучаемых дозах здоровым добровольцам.

Примечание: * — наблюдения (экстремальные выбросы) со значениями, превышающими три интерквартильных размаха; ° — наблюдения (выбросы) со значениями, лежащими в диапазоне от 1,5 до 3 интерквартильных размахов; Me — медиана.

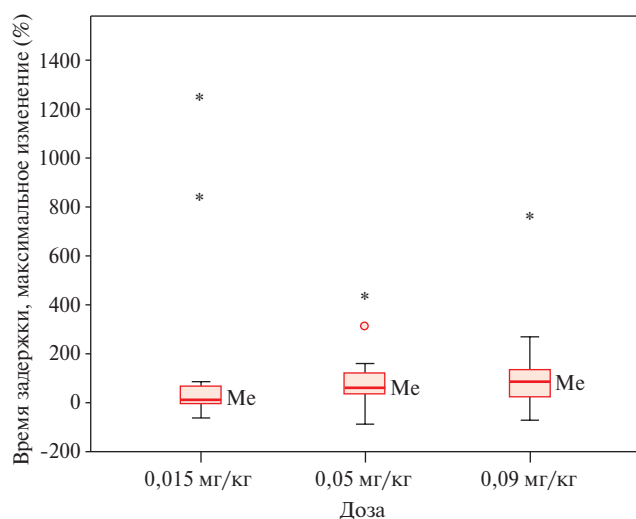


Рис. 4 Максимальное изменение (%) времени задержки агрегации (Lag Time) после однократного в/в введения препарата Ангипур в изучаемых дозах здоровым добровольцам.

Примечание: * — наблюдения (экстремальные выбросы) со значениями, превышающими три интерквартильных размаха; ° — наблюдения (выбросы) со значениями, лежащими в диапазоне от 1,5 до 3 интерквартильных размахов; Me — медиана.

тромбоцитов, было зафиксировано в период от 15 мин до 2-4 ч после введения ИП в дозах 0,05 и 0,09 мг/кг. Максимальное снижение степени агрегации (по снижению максимальной амплитуды) составляло, в среднем, 51,79% и наблюдалось после введения препарата в дозе 0,09 мг/кг (рисунок 2). После введения ИП в дозе 0,05 мг/кг оно было в среднем несколько меньше (42,60%), но статистически не отличалось (медианы 47,73 и 50,00%, соответственно). Максимальное снижение степени

агрегации после введения препарата Ангипур в дозе 0,015 мг/кг было статистически значимо меньше, чем после его введения в дозах 0,05 и 0,09 мг/кг (непараметрический критерий знаковых рангов Уилкоксона, $p=0,015$ и $p=0,006$, соответственно).

Снижение AUC агрегации тромбоцитов имело место также в период от 15 мин до 2-4 ч после введения ИП в дозах 0,05 и 0,09 мг/кг. Максимальное снижение данного показателя составляло, в среднем, 54,13% после введения ИП в дозе 0,09 мг/кг. После введения ИП в дозе 0,05 мг/кг оно было, в среднем, меньше — 45,71%, но статистически не отличалось (медианы 52,24% и 57,68%, соответственно). При этом снижение AUC агрегации тромбоцитов после введения ИП в дозе 0,015 мг/кг было статистически значимо меньше по сравнению с дозами 0,05 и 0,09 мг/кг (непараметрический критерий знаковых рангов Уилкоксона, $p=0,031$ и $p=0,005$, соответственно) (рисунок 3).

Увеличение времени задержки агрегации тромбоцитов (Lag Time) было зарегистрировано в период от 15 мин до 7 ч после введения ИП в различных дозах с тенденцией к увеличению максимального замедления агрегации для дозы 0,09 мг/кг (рисунок 4). Соответственно, именно при введении этой дозы наблюдалось максимальное повышение данного параметра — в среднем, на 123,45% (медиана 83,90%). После введения ИП в меньших дозах время задержки увеличивалось максимально на 89,68% (доза 0,05 мг/кг) и 119,4% (доза 0,015 мг/кг), однако статистически не отличалось (медианы 61,63 и 11,15%, соответственно).

Таким образом, ИП в дозах 0,05 и 0,09 мг/кг вызывал дозозависимое снижение степени и пло-

шадя под кривой АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в период от 15 мин до 2-4 ч после его введения.

Обсуждение

На основании результатов, полученных в ходе данного клинического исследования, можно сделать вывод о хорошей переносимости препарата Ангипур при однократном в/в введении здоровым добровольцам. Самочувствие участников в ходе всего исследования было хорошим, жалоб не возникло. По данным клинического и лабораторного мониторинга не было зарегистрировано состояний, соответствующих установленным критериям непереносимости, а также НЯ средней тяжести или выше. При этом необходимо отметить, что было зафиксировано несколько НЯ легкой степени тяжести, для которых причинно-следственная связь с ИП была классифицирована как возможная или вероятная.

У одного добровольца после введения исследуемого препарата имело место клинически значимое снижение гемоглобина, гематокрита и повышение скорости оседания эритроцитов. Альтернативной причиной данных отклонений могла быть индивидуальная реакция на частые заборы крови с установкой кубитального катетера на трое сут. Также у одного добровольца отмечалась слабо положительная проба на скрытую кровь в кале через сут. после введения максимальной изучаемой дозы (0,09 мг/кг). Здесь следует отметить, что данный анализ проводился иммунохроматографическим методом, который, с одной стороны отличается хорошими показателями чувствительности и специфичности, но с другой — может давать ложноположительные результаты по ряду причин [18, 19]. Нельзя не выделить и единственный случай легкого кратковременного носового кровотечения, зафиксированного у добровольца после введения ИП в дозе 0,05 мг/кг. При этом данное НЯ развилось спустя 12 ч после инфузии, когда концентрация препарата в плазме крови была уже низкой. В любом случае, описанные выше возможные нарушения гемостаза требуют особого внимания при дальнейшей разработке ИП.

Результаты исследования также позволили впервые охарактеризовать ФК профиль препарата Ангипур, что необходимо для разработки режима дозирования в дальнейших фазах клинических исследований. Интересно, что по ФК у здоровых добровольцев Ангипур близок к тирофибану, который также относится к низкомолекулярным миметическим ингибиторам ГП IIb/IIIa-рецепторов тромбоцитов. При этом Ангипур имеет несколько больший объем распределения и период полувыведения по сравнению с тирофибаном [20].

Для оценки ингибирующего действия ИП на агрегацию тромбоцитов у здоровых субъектов

использовался метод электронного импеданса. Данный метод отличается от других тем, что агрегация происходит не в объеме жидкой среды образца, а на поверхности электродов, тем самым моделируя образование слоя тромбоцитов на поврежденном участке ткани, что приближает методику к условиям *in vivo*. Кроме того, метод импедансной агрегатометрии способен быстро определять параметры индуцированной агрегации тромбоцитов [21, 22]. В настоящем исследовании удалось выявить дозозависимое ингибирующее действие препарата Ангипур на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов в дозах 0,05 и 0,09 мг/кг. При этом статистически значимые результаты показаны по двум параметрам агрегации (Amplitude и AUC) из трех, подвергшихся анализу.

Говоря в целом о количественных методах изучения агрегационной способности тромбоцитов, следует отметить их разнообразие (турбидиметрический метод Борна и О'Брайена, метод флукуаций светопропускания З.А. Габбасова, электронно-импедансный метод, люминесцентная агрегатометрия и др.). Однако ни один из перечисленных методов не является унифицированным и стандартизированным, лишенным недостатков. В частности, результаты используемого в настоящем исследовании метода импедансной агрегатометрии могут варьировать в зависимости от количества тромбоцитов и гематокрита. Кроме того, результаты различных методик не всегда коррелируют между собой и, что особенно важно, с клиническими исходами. По этим причинам клиническая практика для контроля эффективности антиагрегантной терапии находится под вопросом [17, 21, 22].

Завершая обсуждение проведенного клинического исследования, важно отметить, что пилотные данные по безопасности, ФК и ФД препарата Ангипур у человека позволили разработать дизайн последующего клинического исследования II фазы (пациенты с острым коронарным синдромом), которое продолжается в настоящее время [23].

Заключение

Результаты проведенного клинического исследования I фазы применения препарата Ангипур (0,02% концентрат для приготовления раствора для инфузий) в однократных последовательных дозах 0,015, 0,05 и 0,09 мг/кг на здоровых добровольцах:

- продемонстрировали безопасность и переносимость в/в введения препарата в изучаемых дозах;
- позволили определить основные ФК параметры препарата и выявить линейность его ФК;
- подтвердили показанное в доклинических исследованиях дозозависимое антиагрегантное действие препарата посредством метода импедансной агрегатометрии.

Отношения и деятельность. Глухов Ю. Ф., Лукьянов С. В. являются сотрудниками ООО “Компания “ЭЛТА”. Остальные авторы заявляют об отсутствии

потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье. Исследование проведено при финансовой поддержке ООО “Компания “ЭЛТА”.

Литература/References

- Zyrjanov SK, Ushkalova EA. Clinical pharmacology of cardiovascular drugs. Moscow: LLC “Medical Information Agency”, 2021. p. 432. (In Russ.) Зырянов С.К., Ушкалова Е.А. Клиническая фармакология сердечно-сосудистых средств. Москва: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2021. 432 с. ISBN: 978-5-9986-0441-6.
- Xie Z, Cao C, Feng S, et al. Progress in the research of GPIIb/IIIa antagonists. *Future Med Chem.* 2015;7(9):1149-71. doi:10.4155/fmc.15.53.
- Jamasbi J, Ayabe K, Goto S, et al. Platelet receptors as therapeutic targets: Past, present and future. *Thromb Haemost.* 2017;117(7):1249-57. doi:10.1160/TH16-12-0911.
- Neumann F-J, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. 2018 ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization. *Russ J Cardiol.* 2019;(8):151-226. (In Russ.) Neumann F-J, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. Рекомендации ESC/EACTS по реваскуляризации миокарда 2018. Российский кардиологический журнал. 2019;(8):151-226. doi:10.15829/1560-4071-2019-8-151-226.
- Tereshchenko AS, Merkulov EV, Samko AM. Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Inhibitors in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction and Primary Percutaneous Coronary Intervention. *Ration Pharmacother Cardiol.* 2020;15(6):918-27. (In Russ.) Терещенко А.С., Меркулов Е.В., Самко А.Н. Применение ингибиторов гликопротеиновых IIb/IIIa рецепторов у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST и первичным чрескожным коронарным вмешательством. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2019;15(6):918-27. doi:10.20996/1819-6446-2019-15-6-918-927.
- Tscharre M, Michelson AD, Gremmel T. Novel Antiplatelet Agents in Cardiovascular Disease. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2020;25(3):191-200. doi:10.1177/1074248419899314.
- Graidis C, Goliass C, Dimitriadis D, et al. Eptifibatide-induced acute profound thrombocytopenia: a case report. *BMC Res Notes.* 2014;7:107. doi:10.1186/1756-0500-7-107.
- Greinacher A, Fuerll B, Zinke H, et al. Megakaryocyte impairment by eptifibatide-induced antibodies causes prolonged thrombocytopenia. *Blood.* 2009;114(6):1250-3. doi:10.1182/blood-2009-02-203034.
- Valgimigli M, Tebaldi M. Safety evaluation of tirofiban. *Expert Opin Drug Saf.* 2010;9(5):801-19. doi:10.1517/14740338.2010.507189.
- King S, Short M, Harmon C. Glycoprotein IIb/IIIa inhibitors: The resurgence of tirofiban. *Vascul Pharmacol.* 2016;78:10-6. doi:10.1016/j.vph.2015.07.008.
- Smirnova LA, Spasov AA, Halliullin FA, et al. Biopharmaceutical study of an injectable dosage form of a new antiplatelet substance 3-methyl-8-(piperazine-1-yl)-7-(thietane-3-yl)-1-ethyl-1 H-purine-2,6(3H,7H)-dione hydrochloride. *Chemical and Pharmaceutical Journal.* 2021;55(1):16-8. (In Russ.) Смирнова Л.А., Спасов А.А., Халиуллин Ф.А. и др. Биофармацевтическое исследование инъекционной лекарственной формы нового антиагрегантного вещества 3-метил-8-(пиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1-этил-1 H-пурин-2,6(3H,7H)-диона гидрохлорида. Химико-фармацевтический журнал. 2021;55(1):16-8. doi:10.30906/0023-1134-2021-55-1-16-18.
- Smirnova LA, Rjabuha AF, Abramov OK, et al. Quantitative determination of angipur substance in blood plasma by HPLC with fluorescence detection. *Chemical and Pharmaceutical Journal.* 2021;55(2):60-4. (In Russ.) Смирнова Л.А., Рябуха А.Ф., Абрамов О.К. и др. Количественное определение субстанции ангипур в плазме крови методом ВЭЖХ с флуоресцентной детекцией. Химико-фармацевтический журнал. 2021;55(2):60-4. doi:10.30906/0023-1134-2021-55-2-60-64.
- Halliullin FA, Spasov AA, Kucherjavenko AF, et al. Angipur is a domestic antithrombotic agent. *Kardiologicheskij Vestnik.* 2020;15(S):17-8. (In Russ.) Халлиуллин Ф.А., Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф. и др. Ангипур — отечественное анти-тромботическое средство. Кардиологический вестник. 2020;15(S):17-8.
- Berezovskaja IV. Classification of chemicals according to the parameters of acute toxicity in parenteral methods of administration. *Chemical and Pharmaceutical Journal.* 2003;37(3):32-4. (In Russ.) Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. Химико-фармацевтический журнал. 2003;37(3):32-4. doi:10.30906/0023-1134-2003-37-3-32-34.
- The Association of the British Pharmaceutical Industry. Guidelines for Phase I clinical trials 2018 edition. 2018. Available on: <https://www.abpi.org.uk/publications/guidelines-for-phase-i-clinical-trials-2018-edition/>.
- Committee for Medicinal Products for Human Use. Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human and early clinical trials with investigational medicinal products. 2017. Available on: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-strategies-identify-mitigate-risks-first-human-early-clinical-trials-investigational_en.pdf.
- Stoljar MA, Ol'hovskij IA. Diagnostic value of determination of platelet aggregation activity by impedance measurement. *Bulletin of the Laboratory Service.* 2012;(15):27-42. (In Russ.) Столяр М.А., Ольховский И.А. Диагностическое значение определения агрегационной активности тромбоцитов методом импедансометрии. Бюллетень лабораторной службы. 2012;(15):27-42.
- Nikitina AV, Akinshina YA, Nishchakova NE, et al. Immunochromatographic test for detection of fecal occult blood. *Klin Lab Diagn.* 2019;64(9):536-40. (In Russ.) Никитина А.В., Акиншина Ю.А., Нищаклова Н.Е. и др. Иммунохроматографический тест для выявления скрытой крови в кале. Клиническая лабораторная диагностика. 2019;64(9):536-40. doi:10.18821/0869-2084-2019-64-9-536-540.
- Kościelniak-Merak B, Radosavljević B, Zając A, et al. Faecal Occult Blood Point-of-Care Tests. *J Gastrointest Cancer.* 2018;49(4):402-5. doi:10.1007/s12029-018-0169-1.
- Kondo K, Umemura K. Clinical pharmacokinetics of tirofiban, a nonpeptide glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist: comparison with the monoclonal antibody abciximab. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(3):187-95. doi:10.2165/00003088-200241030-00003.
- Bazaev IA, Przhijalgovskaja AV, Rudenko PA, et al. Modern methods of measuring blood clotting parameters. *Medical equipment.* 2015;3:9-13. (In Russ.) Базаев И.А., Пржижальговская А.В., Руденко П.А. и др. Современные методы измерения параметров свертываемости крови. Медицинская техника. 2015;3:9-13.

22. Hvas A-M, Grove EL. Platelet Function Tests: Preanalytical Variables, Clinical Utility, Advantages, and Disadvantages. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2017;1646:305-20. doi:10.1007/978-1-4939-7196-1_24.
23. № 02/19-ELTA "Multicenter randomized single-blind clinical study of dosage regimen, efficacy and safety of Angipur (0,02% concentrate for solution for infusion) compared to eptifibatid (solution for intravenous infusion) in patients with ST-segment elevation acute coronary syndrome undergoing high risk percutaneous transluminal coronary angioplasty with stenting". State register of medicines. 2021. (In Russ.) № 02/19-ELTA "Многоцентровое рандомизированное проспективное слепое клиническое исследование режима дозирования, эффективности и безопасности препарата Ангипур (концентрат для приготовления раствора для инфузий 0,02%) в сравнении с препаратом эптифибатида (раствор для внутривенного введения) у больных с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST ЭКГ при чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластике высокого риска со стентированием". Госреестр лекарственных средств. 2021. Доступно на: <https://grls.rosminzdrav.ru/CIPermissionMini.aspx?CIStatementGUID=762c3c7b-5576-4f01-a0ae-bee787d76d05&CIPermGUID=8E940830-13CC-43F7-8310-BF3CD867D20F>. (дата обращения 25.08.2021).