



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **123496** (13) **C2**  
(51) МПК (2021.01)**A61K 38/48** (2006.01)**A61K 47/02** (2006.01)**A61K 47/10** (2017.01)**A61K 47/18** (2017.01)**C12N 9/68** (2006.01)**A61P 43/00**НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ"**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>а 2017 07663</b>	<b>(73)</b> Володілець (володільці):	<b>ПРОМЕТІК БАЙО ТЕРАП'ЮТИКС, ІНК.,</b> 1330 Piccard Drive, Suite 201, Rockville, MD 20850, United States of America (US)
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>18.12.2015</b>	<b>(74)</b> Представник:	<b>Михайлюк Ганна Валентинівна, реєстр.</b> <b>№184</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	<b>15.04.2021</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 2007/134231 A1, 14.06.2007 US 4 297 344 A, 27.10.1981 JP 2005 272403 A, 06.10.2005 EP 0 217 379 A2, 08.04.1987 US 2008/008698 A1, 10.01.2008 US 5 290 764 A, 01.03.1994 WO 94/15631 A1, 21.07.1994 CA1187411, 21.05.1985 JP1744091, 08.07.1987 CA2796729, 27.10.2011 SCHOTT, D. et al., "Therapy with a purified plasminogen concentrate in an infant with ligneous conjunctivitis and homozygous plasminogen deficiency", The New England Journal of Medicine, (19981203), vol. 339, no. 23, ISSN 1533-4406, pages 1679 - 1686, XP 002665670 [X] 1-15, 29 and 34-37 * . * [Y] 15-28, 30-33 and 38-61 WATTS, P. et al., "Effective treatment of ligneous conjunctivitis with topical plasminogen", American Journal of Ophthalmology, (20020401), vol. 133, no. 4, ISSN 0002-9394, pages 451 - 455, XP 055337002 [Y] 21, 22, 26-28, 30-33, 38-61 * . * HEIDEMANN, D.G. et al., "Treatment of ligneous conjunctivitis with topical plasmin and topical plasminogen", Cornea, (20031101), vol. 22, no. 8, ISSN 0277-3740, pages 760 - 762, XP009503790 [Y] 21, 22, 26-28, 30-33, 38-61 * . * DARTON, N., "Formulation for Improved Liquid Biotherapeutics.", International Pharmaceutical Industry, vol. 5, no. 3, (20130000), URL: <a href="http://ipimediaworld.com/wp-content/uploads/2013/10/Formulation-for-...pdf">http://ipimediaworld.com/wp- content/uploads/2013/10/Formulation-for-...pdf</a> , (20160414), XP 055337005 [Y] 21, 22, 26-28, 30-33, 38-61.
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>62/094,556</b>		
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>19.12.2014</b>		
<b>(33)</b> Код держави- учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	<b>US</b>		
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку:	<b>11.12.2017, Бюл.№ 23</b>		
<b>(46)</b> Публікація відомостей про державну реєстрацію:	<b>14.04.2021, Бюл.№ 15</b>		
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	<b>PCT/CA2015/000606,</b> <b>18.12.2015</b>		
<b>(72)</b> Винахідник(и):	<b>Блекмен Давіда (US),</b> <b>Плам Стейсі (US),</b> <b>Гарзон-Родрігес Вільям (US),</b> <b>Юй Бетті (US),</b> <b>Робітайл Мартін (CA)</b>		

**(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, ЩО МІСТИТЬ ПЛАЗМІНОГЕН, ТА ЇЇ ЗАСТОСУВАННЯ**

UA 123496 C2

**(57) Реферат:**

Запропоновані фармацевтичні композиції, які містять Glu-плазміноген. В одному варіанті реалізації винаходу композиція містить модифікатор осмотичного тиску, наповнювач і стабілізатор, причому значення рН композиції становить від близько 5,0 до близько 8,0. В іншому варіанті реалізації винаходу композиція містить в суспензії кількість частинок розміром 10 мкм або більше, що становить менш ніж 6000 частинок на ємність, де номінальним вмістом ємності становить 100 мл або менше. Включено застосування вказаних композицій як лікарського засобу.

## ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

[001] Цей винахід відноситься до галузі медицини. Більш конкретно, винахід відноситься до фармацевтичної композиції, що містить плазміноген, та її терапевтичного застосування.

## РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

5 [002] Плазміноген являє собою зимоген плазміну, як проілюстровано на Фіг. 1A. Амінокислотна послідовність прекурсор плазміногену людини зображена на Фіг. 1B. Плазміноген людини містить 791 амінокислоту (прекурсор = 810 амінокислот) з молекулярною масою близько 90 кДа і рІ близько 7,0, хоча диференціальне глікозилювання та/або видалення N-кінцевого активаційного пептиду може давати діапазон рІ від 6,2 до 8,0. Він являє собою  
10 одноланцюговий білок із 24 внутрішньоланцюговими дисульфідними містками, 5 кринг-доменами (залученими до зв'язування із фібрином та інгібітором альфа 2-антиплазміну), домен серинпротеази (P) і активаційний пептид (AP), що складається із перших 77 амінокислот. Наявний один N-зв'язаний сайт глікозилювання та один O-зв'язаний сайт, хоча другий O-зв'язаний сайт вже був ідентифікований (Goldberg 2006). Приблизно 70 % плазміногену в  
15 циркуляції містить тільки O-зв'язане глікозилювання, тоді як решта містить N- і O-зв'язані цукри.

[003] Нативний плазміноген одержаний у двох основних формах, Glu-плазміноген (Glu-Pg) і Lys-плазміноген (Lys-Pg), названі за N-кінцевою амінокислотою, що являє собою глутамінову кислоту або лізин. Glu-Pg складається із повної амінокислотної послідовності, позначеної як  
20 генна послідовність (виключаючи активаційний пептид), тоді як Lys-Pg є результатом розщеплення Glu-Pg між Lys-77 і Lys78 (підкреслені на Фіг. 1B). Період напіввиведення Lys-Pg є значно коротшим, ніж Glu-Pg (2-2,5 дні для Glu-Pg, 0,8 днів для Lys-Pg). Glu-Pg є доміантною формою Pg, яка присутня в плазмі, з дуже невеликою кількістю Lys-Pg, виявленого в циркуляції (Violand, B.N., Byrne, R., Castellino F.J. (1978) The effect of  $\alpha$ , $\omega$ -Amino Acids on Human Plasminogen Structure and Activation. J Biol Chem. 253 (15): 5395-5401; Collen D, Ong EB, Johnson  
25 A.J. (1975) Human Plasminogen: In Vitro and In Vivo Evidence for the Biological Integrity of NH<sub>2</sub>-Terminal Glutamic Acid Plasminogen. Thrombosis Research. 7 (4):515-529)).

[004] Плазміноген синтезується в печінці і секретується у плазму. Плазміноген розподіляється по всьому організму, і, якщо присутні умови для активації, профермент плазміногену перетворюється на активний фермент, плазмін, під дією активатора плазміногену  
30 тканинного типу (t-PA) або урокіназного активатора плазміногену (u-PA). Далі плазмін розщеплює фібрин і перетворює латентні матричні металопротеїнази (pro-MMP) на активні MMP, які, в свою чергу, руйнують позаклітинний матрикс (ПКМ), що є частиною процесу ремоделювання/загоєння тканини. Активація плазміногену, опосередкована t-PA, в першу чергу залучена до гомеостазу фібрину, тоді як генерація плазміну за допомогою u-PA, в ході якої  
35 утворюється комплекс з його рецептором u-PAR, приймає участь в ремоделюванні тканини.

[005] Плазмін досліджують або досліджували щодо його потенційного застосування з метою кліренсу тромботичних оклюзій у штучних пристроях і трансплантатах для гемодіалізу та для лікування заднього відшарування скловидного тіла (PVD) (US 6969515; US 2010/0104551).

[006] Плазміноген досліджується для застосування при терапевтичних показаннях, таких як загоєння ран, загоєння перфорації барабанної перетинки, загоєння рани періодонту, інфекційне захворювання, оздоровлення порожнини рота, діабетичні виразки, показання для тромболізу, таких як коронарний тромбоз, реперфузійне ураження тканини, ішемія, інфаркт, набряк мозку, покращення мікроциркуляції і модуляція шляху активації комплементу (US 8637010; US  
40 8679482; US 8318661; WO 95/12407; EP 0631786). До цього часу плазміноген ще не був виведений на ринок як фармацевтичний препарат.

[007] Історично, Lys-Pg був присутній на фармацевтичному ринку для гематологічних цілей протягом певного періоду часу, але не застосовувався в науковій або медичній галузі з 2000 року. Склад Lys-Pg описаний у Schott et al., 1998, The New England Journal of Medicine, Vol. 339, No. 23, pp. 1679-1686. Хоча доступний Lys-Pg досліджували в клініці для лікування  
50 дерев'янистих кон'юнктивітів, клінічного прояву базового стану гіпоплазміногенемії (дефіцит плазміногену типу I). Отже, Kraft et al випробовували системне введення концентратів Lys-Pg (Kraft, J, Lieb W, Zeitler P, Schuster V (2000) при дерев'янистому кон'юнктивіті у дівчинки з тяжким дефіцитом плазміногену типу I. У Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 238(9):797-800 повідомлялося, що щоденна інфузія Lys-Pg дитині з тяжкою гіпоплазміногенемією призводила до часткового лізису кон'юнктивальної псевдомембрани. Schott et al. (1998) повідомляли, що у  
55 дитини 6-місячного віку лікування препаратом Lys-Pg у вигляді безперервної інфузії і пізніше у вигляді щоденної ін'єкції болюсу приводило до повної регресії дерев'янистого кон'юнктивіту в межах 4 тижнів і нормалізації гіперв'язкого секрету дихальних шляхів, а також загоєння шкірної рани. Schuster et al (Schuster V, Hogle B, Tefs K (2007) Plasminogen deficiency. J Thromb Haemost  
60 5(12):2315-2322) повідомляли, що рівні плазміногену у пацієнтів з гомозиготною або

гетерозиготною (наявність двох різних мутантних алелів у певному генному локусі, по одній на кожній із пари хромосом) гіпоплазміногенемією становили від < 1 до 9 мг/дл для рівнів у плазмі антигену плазміногену та від < 1 % до 51 % для функціональної активності плазміногену. Важливо відзначити, що у більшості з таких пацієнтів присутні певні залишкові рівні активності плазміногену. Таким чином, очікується, що заміщення плазміногену буде ефективним, оскільки він є ендogenous білком і не спричинятиме проблем з імуногенністю або фібринолітичною активністю. Хоча концентрати плазміногену для системного або місцевого застосування були явно описані як ефективна терапія, що приводить до усунення і зупиняє повторне утворення уражень (Watts P, Suresh P, Mezer E, Ells A, Albisetti M, Bajzar L, Marzinotto V, Andrew M, Massicotte P, Rootman D (2002) Effective treatment of ligneous conjunctivitis with topical plasminogen. *Am J Ophthalmol* 133(4):451-455, Heidemann DG, Williams GA, Hartzer M, Ohanian A, Citron ME (2003) Treatment of ligneous conjunctivitis with topical plasmin and topical plasminogen. *Cornea* 22(8):760-762; and Schott, 1998), на ринку відсутній очищений продукт плазміногену для місцевої або системної терапії.

[008] Тільки зовсім нещодавно були проведені клінічні випробування застосування Glu-Pg для лікування дефіциту плазміногену типу I: (ідентифікатор Clinical Trials.gov NCT02312180) і одного з його клінічних проявів — дерев'янистого кон'юнктивіту — із застосуванням локальних очних крапель Glu-Pg (ідентифікатор ClinicalTrials.gov: NCT01554956).

[009] Білки можуть бути стабілізовані шляхом зміни їх структурних характеристик (внутрішньо) та/або шляхом управління компонентами, що знаходяться у контакті з ними (іззовні). Зберігання деяких білків у фармацевтичних препаратах є проблематичним через їх фізико-хімічні характеристики, що, на жаль, часто призводить до структурної нестабільності. Вони, наприклад, можуть зазнавати різних видів деградації, прикладами яких є наступні: 1) хімічні процеси, що призводять до утворення споріднених домішок, які можуть включати реакції гідролізу, окиснення, дезамідування або структурні перебудови, такі як ізо-asr або внутрішньомолекулярні вкорочення, або 2) фізичний процес, що призводить до агрегації/полімеризації, створюючи структурні зміни, що можуть вплинути на біологічну активність і потенційно посилити імуногенність.

[0010] Розробка рецептури звичайно позначає процес, в ході якого активний фармацевтичний інгредієнт (АФІ) характеризують достатньою мірою для того, щоб він міг бути перетворений на фармацевтично прийнятну субстанцію лікарського засобу. Необхідне дослідження біофізичних характеристик лікарських речовин для підтвердження наявності правильно складеної та біологічно активної структури. Для вивчення третинної структури білків у розчині та для оцінки стабільності і впливу різних умов складання на структуру білка можуть бути застосовані декілька спектроскопічних способів (флуоресценція, КД, ДСК, ДРС і т.д.). (Volkin, D.B. et al. "Preformulation studies as an essential guide to formulation development and manufacture of protein pharmaceutical." Development and manufacture of protein pharmaceuticals. Edited by Steve L. Nail and Michael J. Akers, Kluwer Academic 2002 Chapter 1, page 1-39; Cheng, W. et al. "Comparison of High-Throughput Biophysical Methods to Identify Stabilizing Excipients for a Model IgG2 Monoclonal Antibody: Conformational Stability and Kinetic Aggregation Measurements" *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 101, No 5, page 1701-1720, 2012). Крім того, у фармацевтичній промисловості структурна цілісність АФІ часто підтверджується шляхом проведення біологічного аналізу вивільнення лікарської речовини. Узяті разом, вони підтверджують, що переважна композиція не була ненавмисно модифікована в процесі складання. Плазміноген являє собою білок, який головним чином застосовується для одержання плазміну при показаннях для тромболізу, таких як коронарний тромбоз, кліренс тромботичних оклюзій у штучних пристроях і трансплантатах для гемодіалізу, при реперфузійному ураженні тканини, для лікування ішемії, інфаркту, набряку мозку або для покращення мікроциркуляції (WO 95/12407; US 6969515; EP 0631786).

[0011] Введення плазміногену також може бути корисним при багатьох терапевтичних показаннях, таких як показання для тромболізу, такі як коронарний тромбоз, лікування реперфузійного ураження тканини, лікування ішемії, інфаркту, набряку мозку або для покращення мікроциркуляції, загоєння ран, загоєння перфорації барабанної перетинки, загоєння рани періодонту, інфекційні захворювання, оздоровлення порожнини рота, діабетичні виразки, лікування суб'єктів з дефіцитом плазміногену та модуляції шляху активації комплементу (WO 95/12407; EP 0631786; US 8637010; US 8679482; US 8318661).

[0012] Існує декілька проблем, що зустрічаються при введенні плазміногену в композиції. Деякі проблеми є результатом забруднення композиції плазміногену плазміном, який розкладає плазміноген. Для запобігання деградації плазміногену застосовувалися різні підходи, в тому числі додавання аprotиніну, лізину, фенілметансульфонілфлуориду, соєвого інгібітору трипсину

або інгібітору серинпротеази (US 4177262; US 4361653, US 5304383).

[0013] Інші труднощі представлені каламутністю або присутністю нитчастих речовин, коли плазміноген солюбілізується у водному розчиннику. Для подолання цього недоліку було запропоновано комбінувати плазміноген, наприклад, з неіонною поверхнево-активною речовиною або сумішшю сахарози, амінокислот і альбуміну (WO 94/15631).

[0014] Не існує відомого промислового складу Glu-Pg для терапевтичного застосування у людини. Єдиними відомими складами Glu-Pg є склади для дослідження.

[0015] Таким чином, існує потреба в розробці фармацевтичної композиції плазміногену.

[0016] В цьому документі присутні посилання на декілька інших документів, вміст яких включений до цього документу шляхом посилання у всій їх повноті.

#### КОРОТКИЙ ОПИС СУТІ ВИНАХОДУ

[0017] Цей винахід стосується фармацевтичної композиції, що містить плазміноген, та її застосування.

[0018] Цей винахід стосується наступних пунктів 1-61:

[0019] 1. Фармацевтична композиція, що містить:

[0020] - плазміноген, або його біологічно активний варіант;

[0021] - модифікатор осмотичного тиску; і

[0022] - стабілізатор;

[0023] причому рН композиції становить від близько 3,0 до близько 10,0.

[0024] 2. Фармацевтична композиція за п. 1, яка відрізняється тим, що її значення рН становить від 5,0 до 8,0; або від 6,0 до 8,0; або від 6,5 до 7,5.

[0025] 3. Фармацевтична композиція за п. 1, яка відрізняється тим, що концентрація плазміногену або його біологічно активного варіанту становить від близько 0,01 мг/мл до близько 80 мг/мл, або від близько 5 мг/мл до близько 60 мг/мл.

[0026] 4. Фармацевтична композиція за п. 3, яка відрізняється тим, що концентрація плазміногену або його біологічно активного варіанту становить близько 40, 30, 20, 10 або 5 мг/мл.

[0027] 5. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-4, яка відрізняється тим, що плазміноген або його біологічно активний варіант представляє, щонайменше, 80 % від загального вмісту білка в композиції або більше 90 % від загального вмісту білка в композиції.

[0028] 6. Фармацевтична композиція за п. 5, яка відрізняється тим, що вміст плазміногену або його біологічно активного варіанту становить більш ніж 95 або 98 % від загального вмісту білка в композиції.

[0029] 7. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-6, яка відрізняється тим, що стабілізатор містить (i) амінокислоту, (ii) сіль амінокислоти, (iii) аналог амінокислоти або (iv) будь-яку суміш (i), (ii) та/або (iii).

[0030] 8. Фармацевтична композиція за п. 7, яка відрізняється тим, що амінокислота, сіль амінокислоти або аналог амінокислоти являє собою аргінін, пролін, глютамінову кислоту, аспарагінову кислоту, гліцин, аланін, цистеїн, лізин, аналог лізину або епсилон-амінокапронову кислоту.

[0031] 9. Фармацевтична композиція за п. 8, яка відрізняється тим, що стабілізатор є аргініном.

[0032] 10. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-9, яка відрізняється тим, що стабілізатор присутній у концентрації від близько 20 мМ до близько 200 мМ

[0033] 11. Фармацевтична композиція за п. 10, яка відрізняється тим, що стабілізатор присутній у концентрації від близько 25 мМ до близько 75 мМ.

[0034] 12. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-11, яка відрізняється тим, що модифікатор осмотичного тиску являє собою натрій хлорид, кальцій хлорид, магній хлорид, сахарозу, трегалозу, сорбіт, маніт, гліцерол, лактозу, сорбіт, декстрозу, циклодекстрин, рафінозу, поліетиленгліколь, гідроксиетилкрохмаль, гліцин, глютамінову кислоту, аланін, декстран, ПВП (полівінілпіролідон) або будь-яку їх комбінацію.

[0035] 13. Фармацевтична композиція за п. 12, яка відрізняється тим, що модифікатор осмотичного тиску є натрій хлоридом.

[0036] 14. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-13, яка відрізняється тим, що модифікатор осмотичного тиску присутній у концентрації від близько 30 мМ до близько 250 мМ.

[0037] 15. Фармацевтична композиція за п. 14, яка відрізняється тим, що модифікатор осмотичного тиску присутній у концентрації від близько 25 мМ до близько 50 мМ, або в концентрації близько 35 мМ.

[0038] 16. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-15, що додатково містить наповнювач.

[0039] 17. Фармацевтична композиція за п. 16, яка відрізняється тим, що наповнювач являє собою гліцин, глютамінову кислоту, аланін, маніт, сорбіт, гідроксиетилкрохмаль, декстран, ПВП (полівінілпіролідон), маніт, поліетиленгліколь, сорбіт, мальтит, лактит, мальтотриїтол, ксиліт або будь-яку їх комбінацію.

5 [0040] 18. Фармацевтична композиція за п. 17, яка відрізняється тим, що наповнювач є манітом або сорбітом.

[0041] 19. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 16-18, яка відрізняється тим, що наповнювач присутній у концентрації від близько 50 мМ до близько 300 мМ.

10 [0042] 20. Фармацевтична композиція за п. 19, яка відрізняється тим, що наповнювач присутній у концентрації від близько 50 до близько 125 мМ.

[0043] 21. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-20, що додатково містить відновлюючий цукор.

15 [0044] 22. Фармацевтична композиція за п. 21, яка відрізняється тим, що відновлюючий цукор являє собою фруктозу, манозу, мальтозу, лактозу, арабінозу, ксилозу, рибозу, рамнозу, галактозу, глюкозу, сахарозу або будь-яку їх комбінацію.

[0045] 23. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-22, що додатково містить невідновлюючий цукор.

20 [0046] 24. Фармацевтична композиція за п. 23, яка відрізняється тим, що невідновлюючий цукор являє собою сахарозу, трегалозу, сорбозу, мелецитозу, рафінозу або будь-яку їх комбінацію.

[0047] 25. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-24, яка відрізняється тим, що осмоляльність фармацевтичної композиції становить від близько 180 мОсм до близько 350 мОсм.

25 [0048] 26. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-25, що додатково містить консервант.

30 [0049] 27. Фармацевтична композиція за п. 26, яка відрізняється тим, що консервант являє собою м-крезол, бензиловий спирт, метанол, етанол, ізопропанол, бутилпарабен, етилпарабен, метилпарабен, фенол, гліцерол, ксиліт, резорцин, катехол, 2,6-диметилциклогексанол, 2-метил-2,4-пентадіол, декстран, полівінілпіролідон, 2-хлорфенол, бензетоній хлорид, мертіолет (тимеросал), бензойну кислоту (пропілпарабен) М.м. 180,2, бензойну кислоту М.м. 122,12, бензалконій хлорид, хлорбутанол, натрій бензоат, натрій пропіонат, цетилпіридиній хлорид або будь-яку їх комбінацію.

[0050] 28. Фармацевтична композиція за п. 26 або п. 27, яка відрізняється тим, що концентрація консерванту становить від близько 0,005 до близько 10 % мас./об.

35 [0051] 29. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-28, яка відрізняється тим, що вказаний плазміноген або його біологічно активний варіант є плазміногеном людини.

[0052] 30. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-29, яка відрізняється тим, що вказаний плазміноген або його біологічно активний варіант більш ніж близько на 80 % складається із Glu-плазміногену.

40 [0053] 31. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-29, яка відрізняється тим, що вказаний плазміноген або його біологічно активний варіант є Glu-плазміногеном.

[0054] 32. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-31, яка відрізняється тим, що в композиції кількість частинок розміром 10 мкм або більше становить менш ніж 6000 частинок на 100 мл.

45 [0055] 33. Фармацевтична композиція за п. 32, яка відрізняється тим, що кількість частинок становить менш ніж 2000 або 1000 частинок на 100 мл.

[0056] 34. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-33, придатна для внутрішньовенного, підшкірного, місцевого, внутрішньошкірного, офтальмологічного та/або внутрішньом'язового введення.

50 [0057] 35. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-34, що являє собою рідку композицію, придатну для ліофілізації рідку композицію, придатну для заморожування рідку композицію, ліофілізовану композицію, заморожену композицію або відновлену композицію.

[0058] 36. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-34, що являє собою рідину, гель, крем або мазь.

55 [0059] 37. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-36 для застосування як лікарський засіб.

[0060] 38. Фармацевтична композиція, що містить плазміноген або його біологічно активний варіант, в якій кількість частинок розміром 10 мкм або більше становить менш ніж 6000 частинок на 100 мл.

60 [0061] 39. Фармацевтична композиція за п. 38, яка відрізняється тим, що кількість частинок

становить менш ніж 2000 або 1000 частинок на 100 мл.

[0062] 40. Фармацевтична композиція за п. 38 або п. 39, що додатково містить стабілізатор.

[0063] 41. Фармацевтична композиція за п. 40, яка відрізняється тим, що стабілізатор містить (i) амінокислоту, (ii) сіль амінокислоти, (ii) аналог амінокислоти або (iv) будь-яку суміш (i), (ii) та/або (iii).

[0064] 42. Фармацевтична композиція за п. 41, яка відрізняється тим, що амінокислота, сіль амінокислоти або аналог амінокислоти являє собою аргінін, пролін, глутамінову кислоту, аспарагінову кислоту, гліцин, аланін, цистеїн, лізин, аналог лізину або епсилон-амінокапронову кислоту.

[0065] 43. Фармацевтична композиція за п. 42, яка відрізняється тим, що стабілізатор є аргініном.

[0066] 44. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 40-43, яка відрізняється тим, що стабілізатор присутній у концентрації від близько 25 мМ до близько 75 мМ.

[0067] 45. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-44, яка відрізняється тим, що концентрація плазміногену або його біологічно активного варіанту становить від близько 0,01 мг/мл до близько 80 мг/мл.

[0068] 46. Фармацевтична композиція за п. 45, яка відрізняється тим, що концентрація плазміногену або його біологічно активного варіанту становить від близько 5 мг/мл до близько 60 мг/мл.

[0069] 47. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-46, яка відрізняється тим, що вміст плазміногену або його біологічно активного варіанту становить більш ніж близько 95 % від загального вмісту білка в композиції або більш ніж 98 % від загального вмісту білка в композиції.

[0070] 48. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-47, яка додатково містить модифікатор осмотичного тиску.

[0071] 49. Фармацевтична композиція за п. 48, яка відрізняється тим, що модифікатор осмотичного тиску являє собою натрій хлорид, кальцій хлорид, магній хлорид, сахарозу, трегалозу, сорбіт, маніт, гліцерол, лактозу, сорбіт, декстрозу, рафінозу, поліетиленгліколь, гідроксиетилкрохмаль, гліцин, глутамінову кислоту, аланін, декстран, ПВП (полівінілпіролідон) або будь-яку їх комбінацію.

[0072] 50. Фармацевтична композиція за п. 49, яка відрізняється тим, що модифікатор осмотичного тиску є натрій хлоридом.

[0073] 51. Фармацевтична композиція за п. 48, п. 49 або п. 50, яка відрізняється тим, що модифікатор осмотичного тиску присутній в концентрації від близько 30 мМ до близько 250 мМ.

[0074] 52. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-51, яка додатково містить наповнювач.

[0075] 53. Фармацевтична композиція за п. 52, яка відрізняється тим, що наповнювач являє собою гліцин, глутамінову кислоту, аланін, маніт, сорбіт, гідроксиетилкрохмаль, декстран, ПВП (полівінілпіролідон), маніт, поліетиленгліколь, сорбіт, мальтит, лактит, мальтотріїтол, ксиліт або будь-яку їх комбінацію.

[0076] 54. Фармацевтична композиція за п. 53, яка відрізняється тим, що наповнювач є манітом або сорбітом.

[0077] 55. Фармацевтична композиція за п. 52, п. 53 або п. 54, яка відрізняється тим, що наповнювач присутній в концентрації від близько 50 мМ до близько 300 мМ.

[0078] 56. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-55, яка відрізняється тим, що осмоляльність фармацевтичної композиції становить від близько 180 мОсм до близько 350 мОсм.

[0079] 57. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-61, яка відрізняється тим, що значення рН фармацевтичної композиції становить від близько 6,5 до близько 8,0.

[0080] 58. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-57, яка відрізняється тим, що плазміноген або його біологічно активний варіант є плазміногеном людини.

[0081] 59. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-58, яка відрізняється тим, що вказаний плазміноген або його біологічно активний варіант складається із понад 80 % Glu-плазміногену.

[0082] 60. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-58, яка відрізняється тим, що вказаний плазміноген або його біологічно активний варіант є Glu-плазміногеном.

[0083] 61. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 38-60 для застосування як лікарський засіб.

[0084] Інші аспекти винаходу будуть очевидними для фахівця в цій галузі техніки з наступного опису, формули винаходу та узагальнення в цьому документі.

КОРОТКИЙ ОПИС ФІГУР

[0085] Фіг. 1А являє собою схематичне зображення первинної структури плазміногену, на якому проілюстровано його крингл-домени, сайт розщеплення плазміном і сайт зв'язування із стрептокіназою.

5 [0086] На Фіг. 1В проілюстрована амінокислотна послідовність прекурсор плазміногену людини. Послідовність зрілої форми наведена напівжирним накресленням шрифту, і два залишки лізіну, між якими відбувається розщеплення з утворенням Lys-Pg, підкреслені.

[0087] Фіг. 2 являє собою зображення флакона, що містить плацебо (без Pg) Складу 1 після ліофілізації.

10 [0088] Фіг. 3 являє собою зображення флакона, що містить Склад 1 (описаний у Табл. 1А) після ліофілізації.

[0089] Фіг. 4 являє собою зображення флакона, що містить плацебо (без Pg) Складу 2 після ліофілізації.

[0090] Фіг. 5 являє собою зображення флакона, що містить Склад 2 (описаний у Табл. 1А) після ліофілізації.

15 [0091] Фіг. 6 являє собою зображення флакона, що містить плацебо (без Pg) Складу 3 після ліофілізації.

[0092] Фіг. 7 являє собою зображення флакона, що містить Склад 3 (описаний у Табл. 1А) після ліофілізації.

20 [0093] Фіг. 8 являє собою зображення флакона, що містить плацебо (без Pg) Складу 4 після ліофілізації.

[0094] Фіг. 9 являє собою зображення флакона, що містить Склад 4 (описаний у Табл. 1А) після ліофілізації.

[0095] Фіг. 10 являє собою зображення флакона, що містить плацебо (без Pg) Складу 5 після ліофілізації.

25 [0096] Фіг. 11 являє собою зображення флакона, що містить Склад 5 (описаний у Табл. 1А) після ліофілізації.

[0097] Фіг. 12 являє собою зображення флаконів ліофілізованої композиції № F0498, що містить 20 мг/мл плазміногену в 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, і 28,5 мМ аргініну (0,5 %).

30 [0098] Фіг. 13 являє собою зображення флаконів ліофілізованої композиції № F0449, що містить 10 мг/мл плазміногену в 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 28,5 мМ аргініну (0,5 %) і 54 мМ маніту (1 %).

[0099] Фіг. 14 являє собою зображення флаконів ліофілізованої композиції № F0459, що містить 20 мг/мл плазміногену в 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 28,5 мМ аргініну (0,5 %) і 54 мМ маніту (1 %).

35 [00100] Фіг. 15 являє собою зображення флаконів, що містять 5 мг/мл плазміногену у воді (Зразок 0), у 10 мМ натрій-цитратному буфері, рН 6,5 (Зразок 1), 10 мМ натрій-фосфатному буфері, рН 7,2 (Зразок 2), і 10 мМ Трис-НСІ буфері рН 8,0 (Зразок 3), окрім стандартів каламутності 0,02, 20, 100, 800 нефелометричних одиниць каламутності (НОК), відповідно.

40 [00101] Фіг. 16 являє собою зображення тих же флаконів, що проілюстровані на Фіг. 12, за винятком того, що 35 мМ NaCl і 28,5 мМ (0,5 %) Arg були додані для Зразків 1, 2 і 3.

[00102] На Фіг. 17, 18 і 19 представлені графіки, що ілюструють каламутність протягом 4 годин для композицій, що містять 10 мг плазміногену, 35 мМ NaCl, 0,5 % гліцину, аргініну, аланіну і без амінокислоти, при рН 6,5 у натрій-цитратному буфері (Фіг. 17), при рН 7,2 в натрій-фосфатному буфері (Фіг. 18), і при рН 8,0 у Трис-буфері (Фіг. 19).

45 [00103] Фіг. 20, 21 і 22 являють собою графіки, що ілюструють каламутність протягом 4 годин для композицій, що містять 10 мг плазміногену, 35 мМ NaCl, 0,5 % маніту і 0,5 % гліцину, аргініну, аланіну та без амінокислоти, при рН 6,5 в натрій-цитратному буфері (Фіг. 20), рН 7,2, в натрій-фосфатному буфері (Фіг. 21) і при рН 8,0 у Трис-буфері (Фіг. 22).

#### ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВІНАХОДУ

50 [00104] В цьому документі описана фармацевтична композиція, що містить плазміноген або його біологічно активний варіант.

[00105] В цьому документі також описана фармацевтична композиція, що містить:

- плазміноген або його біологічно активний варіант;
- модифікатор осмотичного тиску; і
- 55 - стабілізатор;

причому значення рН композиції становить від близько 3,0 до близько 10,0; переважно від близько 5,0 до близько 8,0; більш переважно, від близько 6,0 до близько 8,0; і, ще більш переважно, від близько 6,5 до близько 7,5.

60 [00106] Цей винахід відноситься до фармацевтичної композиції, що містить плазміноген або його біологічно активний варіант з підвищеною робастністю. Цей винахід відноситься до



фармацевтичної композиції, що містить плазміноген або його біологічно активний варіант, в якій кількість частинок розміром 10 мкм або більше становить менш ніж 6000 частинок на 100 мл композиції або менш ніж 5000 частинок на 100 мл композиції, або менш ніж 4000 частинок на 100 мл композиції, або менш ніж 3000 частинок на 100 мл композиції, або менш ніж 2000 частинок на 100 мл композиції, або менш ніж 1000 частинок на 100 мл композиції. В одному варіанті реалізації цього винаходу кількість частинок залишається низькою після ліофілізації і відновлення. В одному варіанті реалізації цього винаходу у відтворюваних складах однієї і тієї ж композиції варіація кількості частинок відсутня.

[00107] Термін "плазміноген" в цьому документі відноситься до будь-якої форми нативного поліпептиду плазміногену (наприклад, плазміногену, Glu-плазміногену або Lys-плазміногену) будь-якої тварини, наприклад ссавця (наприклад, людини). Плазміноген являє собою профермент, що перетворюється на активний фермент плазмін під дією активатора плазміногену тканинного типу (t-PA) або урокіназного активатора плазміногену (u-PA). Далі плазмін розщеплює фібрин і перетворює латентні матричні металопротеїнази (pro-MMP) на активні MMP, які, у свою чергу, додатково руйнують позаклітинний матрикс (ПКМ), що є частиною процесу ремоделювання/загоєння тканини. Термін "біологічно активний варіант" в цьому документі відноситься до мутантного поліпептиду плазміногену, що зберігає біологічну активність нативного плазміногену, тобто можливість перетворюватися на поліпептид плазміну (t-PA та/або u-PA), що здатний розщеплювати фібрин і перетворювати латентні матричні металопротеїнази (pro-MMP) на активні MMP. Варіант може містити одну або декілька амінокислотних замінів, делецій/вкорочень (N-кінцевих, C-кінцевих та/або делецій/вкорочень внутрішніх амінокислот), додавань (N-кінцевих, C-кінцевих та/або внутрішніх амінокислотних додавань). Біологічно активні варіанти можуть виявляти біологічну активність (наприклад, ферментативну активність результуючого плазміну), що є нижчою, вищою або аналогічною по відношенню до нативного поліпептиду плазміногену. У варіантах реалізації винаходу варіант володіє щонайменше 60, 70, 75, 80, 85, 90 або 95 % ідентичністю амінокислотної послідовності з амінокислотною послідовністю нативного поліпептиду плазміногену. Біологічно активні варіанти плазміногену описані, наприклад, у WO2012/093132, WO2013/024074 і Wang et al. (1995, Protein Science 4, 1758-1767) і включають вкорочені варіанти плазміногену, звичайно під назвою "мідіплазміноген", "мініплазміноген", "мікроплазміноген" і "дельта-плазміноген", які позбавлені одного або більше крингл-доменів та/або їх частин. В одному варіанті реалізації винаходу плазміноген є плазміногеном людини. У відповідності до ще одного варіанту реалізації винаходу композиція містить нативний плазміноген людини. Плазміноген може бути одержаний з декількох джерел. Він може бути одержаний за допомогою рекомбінантного синтезу або екстрагований із крові, плазми або одержаного із крові розчину та очищений. Плазміноген може бути добутий із крові або плазми шляхом фракціонування за Sohn або осадження. Плазміноген може бути очищений із плазми або одержаного із крові розчину шляхом зв'язування в ході афінної хроматографії, як у способі, описаному у WO 2006/120423, або одержаний рекомбінантним шляхом.

[00108] В одному варіанті реалізації винаходу плазміноген або його біологічно активний варіант присутній у концентрації від близько 0,01 мг/мл до близько 80 мг/мл; переважно від близько 1 мг/мл до близько 60 мг/мл, переважно від близько 5 мг/мл до близько 60 мг/мл; переважно від близько 5 мг/мл до близько 40 мг/мл; переважно від близько 2 мг/мл до близько 30 мг/мл, більш переважно, від близько 2 мг/мл до близько 20 мг/мл, і, більш переважно, близько 80, 70, 60, 50, 40, 30, 25, 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,1, 0,05 або 0,01 мг/мл.

[00109] В одному варіанті реалізації цього винаходу чистота плазміногену або його біологічно активного варіанту, що міститься у фармацевтичній композиції, становить більш ніж близько 80 % або більш ніж близько 90 %, або більш ніж близько 95 %, або більш ніж 98 %.

Термін "близько" позначає варіацію значення в межах 10 %.

[00110] pH композиції може становити від близько 3,0 до близько 10,0; від близько 5,0 до близько 8,0; від близько 6,0 до близько 8,0; або від близько 6,5 до близько 7,5. У варіантах реалізації цього винаходу pH композиції становить близько 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0 або 10,0. Для підтримання такого pH композиції ця композиція переважно містить буферну речовину. Численні буферні речовини можуть застосовуватися в межах об'єму цього винаходу, що включає наступні буферні речовини, в залежності від бажаного значення pH.

Буфер	Бажане значення pH
Цитратний/фосфатний	3,0,3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, від 6,5 до 7,0, 7,5, 8,0 і будь-яке значення pH від 2,0 до 8,0
Цитратний	від 3,0 до 6,5
Ацетатний	будь-яке значення pH від 3,6 до 5,6, наприклад, 4,0, 4,5, 5,0 або 5,5
Ацетат натрій	3,6 до 5,6
Форміатний	3,0 до 4,5
Форміат натрій	будь-яке значення pH від 5,0 и 6,0, наприклад, 5,0, 5,5 або 6,0
Малатний	4,0 до 6,0
Фосфатний	будь-яке значення pH від 6,5 и 8,0, наприклад, 6,5, 7,0, 7,5 або 8,0
ФСБ, ТСБ, ТНТ, ФБТ	7,0 до 7,5
Фосфатний буфер Соренсена	5,8 до 8,0
Сукцинатний	будь-яке значення pH від 5,5 до 6,5, наприклад, 6,0
Карбонатний	будь-яке значення pH від 6,0 до 8,0, наприклад, 6,5
Гістидиновий	будь-яке значення pH від 5,0 и 7,0, наприклад, 5,0, 5,5, 6,0 або від 6,5 до 7,0
Боратний	від 9 до 10
Гліцин-NaOH	від 8,6 до 10
Сукцинатний	від 5,5 до 6,5
Малеатний	від 5,5 до 7,2
Трис	від 7,2 до 9,0
БІС-трис	будь-яке значення pH від 5,8 до 7,2
PIPES	будь-яке значення pH від 6,1 до 7,5
МОПС	будь-яке значення pH від 6,2 до 7,6
ГЕПЕС	будь-яке значення pH від 6,8 до 8,2
МЕС	будь-яке значення pH від 5,5 до 6,7
АЦЕС	будь-яке значення pH від 6,1 до 7,5

[00111] В одному варіанті реалізації цього винаходу буфер містить комбінацію двох буферних речовин; таку як цитрат/фосфат, цитрат/гістидин, ацетат/гістидин або сукцинат/гістидин. В одному варіанті реалізації цього винаходу буфер не містить цитратної буферної речовини. В іншому варіанті реалізації цього винаходу буфер є цитратним, фосфатним ( $K_2HPO_4/NaHPO_4$ ), гістидиновим або сукцинатним. У іншому варіанті реалізації винаходу буфер є фосфатним ( $K_2HPO_4/NaHPO_4$ ), гістидиновим або сукцинатним.

[00112] У варіанті реалізації винаходу концентрація буфера становить від близько 10 мМ до близько 50 мМ або від близько 10 мМ до близько 30 мМ, наприклад, від близько 2 мМ до близько 10 мМ.

[00113] В цьому документі термін "модифікатор осмотичного тиску" відноситься до сполуки, яка застосовується для корекції осмотичного тиску фармацевтичної композиції. В одному варіанті реалізації винаходу модифікатор осмотичного тиску присутній у кількості, яка робить композицію ізотонічною. В іншому варіанті реалізації винаходу модифікатор осмотичного тиску присутній у кількості, яка робить композицію гіпертонічною або гіпотонічною. В одному варіанті реалізації винаходу модифікатор осмотичного тиску є натрій хлоридом, кальцій хлоридом, магній хлоридом, калій хлоридом,  $Na_2SO_4$ ,  $ZnCl_2$ , боратом, фармацевтично прийнятною одноосновною сіллю, фармацевтично прийнятною двоосновною сіллю, фармацевтично прийнятною трьохосновною сіллю, фармацевтично прийнятною тетраосновною сіллю, сахарозою, трегалозою, сорбітом, манітом, гліцеролом, лактозою, сорбітом, декстрозою, циклодекстрином, рафінозою, цукровим спиртом, поліетиленгліколем, гідроксиетилкрахмалем, гліцином, глутаміновою кислотою, аланіном, ПВП (полівінілпіролідон) декстраном або будь-якою їх комбінацією. Термін "ізотонічний" означає, що композиція за цим винаходом має по суті такий же осмотичний тиск, як осмотичний тиск крові людини. Осмотичний тиск ізотонічних композицій звичайно становить від близько 250 до близько 330 мОсм. Осмотичний тиск можна виміряти із застосуванням, наприклад, осмометра, що вимірює тиск пари або температуру замерзання. В одному варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція містить суміш двох модифікаторів осмотичного тиску. В іншому варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція містить суміш трьох модифікаторів осмотичного тиску. В одному варіанті реалізації

винаходу модифікатор осмотичного тиску є цукром або містить цукор або суміш цукрів. У одному варіанті реалізації винаходу модифікатор осмотичного тиску є натрій хлоридом. В одному з варіантів реалізації винаходу концентрація модифікатора осмотичного тиску становить від близько 30 мМ до близько 250 мМ, або від близько 20 мМ до близько 150 мМ, або від  
 5 близько 30 мМ до близько 100 мМ. В одному варіанті реалізації винаходу концентрація модифікатора осмотичного тиску становить близько 34 мМ або близько 35 мМ або близько 68 мМ або близько 75 мМ. У варіанті реалізації винаходу концентрацію модифікатора осмотичного тиску регулюють таким чином, щоб результуючий осмотичний тиск композиції знаходився у межах необхідного діапазону.

10 [00114] В одному варіанті реалізації винаходу композиція додатково містить наповнювач. У цьому документі термін "наповнювач" відноситься до сполуки/агента, яка збільшує об'ємну масу композиції. Приклади наповнювачів включають, але не обмежуючись цим, гліцин, глутамінову кислоту, аланін, манітол, гідроетилкрохмаль, декстран, ПВП (полівінілпіролідон), маніт, сорбіт, одержаний з олігосахариду цукровий спирт, мальтит, лактит, мальтотрітол, ксиліт, поліетиленгліколь, сахарозу, глюкозу, мальтозу, Xorbitol, NaCl або будь-яку їх комбінацію.  
 15 Додатково, вказані агенти можуть служити модифікаторами осмотичного тиску. У варіантах реалізації винаходу концентрація наповнювача становить від близько 50 мМ до близько 300 мМ або від близько 100 мМ до близько 200 мМ або близько 150 мМ або від близько 50 мМ до близько 150 мМ або близько 108 мМ або близько 54 мМ.

20 [00115] В одному варіанті реалізації цього винаходу модифікатор осмотичного тиску і наповнювач присутні в таких концентраціях, що співвідношення модифікатора осмотичного тиску/наповнювача становить від близько 1,0 до близько 15,0 (мас./мас.); від близько 1,0 до близько 10,0, від близько 3,0 до близько 10,0, від близько 5,0 до близько 10,0, наприклад, близько 5,0, близько 8,0 або 10,0. В одному варіанті реалізації винаходу концентрація наповнювача регулюється на базі концентрації модифікатора осмотичного тиску таким чином,  
 25 що співвідношення модифікатора осмотичного тиску/наповнювача знаходиться у бажаному діапазоні.

[00116] У варіантах реалізації винаходу композиція додатково містить один або більше додаткових фармацевтично прийнятних інгредієнтів, таких як носії, допоміжні речовини,  
 30 наповнювачі, розбавлювачі, стабілізатори, буфери і т.п.

[00117] В одному варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція додатково містить цукор, наприклад, відновлюючий та/або невідновлюючий цукор. В цьому документі "відновлюючий цукор" є таким, який містить геміацетальну групу, що здатна відновлювати іони металів або ковалентно реагувати з лізином та іншими аміногрупами у білках, а  
 35 "невідновлюючий цукор" позначає такий, що не володіє такими властивостями відновлюючого цукру. В одному з варіантів реалізації винаходу відновлюючий цукор являє собою фруктозу, манозу, мальтозу, лактозу, арабінозу, ксилозу, рибозу, рамнозу, галактозу, глюкозу або будь-яку їх комбінацію. В одному варіанті реалізації винаходу невідновлюючий цукор являє собою сахарозу, трегалозу, сорбозу, мелецитозу, рафінозу або будь-яку їх комбінацію. В одному  
 40 варіанті реалізації винаходу фармацевтичну композицію за цим винаходом ліофілізують у присутності відновлюючого цукру В одному варіанті реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію за цим винаходом ліофілізують у присутності невідновлюючого цукру.

[00118] У деяких варіантах реалізації винаходу осмотичний тиск фармацевтичної композиції за цим винаходом становить від близько 180 мОсм до близько 350 мОсм, або від близько 250  
 45 мОсм до близько 350 мОсм, або від близько 200 мОсм до близько 300 мОсм. У деяких варіантах реалізації, наприклад, в процесі приготування вказаної композиції для ліофілізації її осмотичний тиск може становити більш ніж 350 мОсм. В такому випадку розчин після розведення може мати об'єм, більший за об'єм композиції, для того, щоб розбавити компоненти і зменшити осмотичний тиск. Крім того, у випадку, якщо композиція призначена для введення  
 50 невеликого об'єму, осмотичний тиск композиції може бути вищим за 350 мОсм.

[00119] В цьому документі термін "стабілізатор" відноситься до агента, який стабілізує плазміноген у розчині. В одному варіанті реалізації винаходу стабілізатор містить амінокислоту, сіль амінокислоти, аналог амінокислоти або будь-яку їх суміш. У додатковому варіанті реалізації  
 55 винаходу амінокислота, сіль амінокислоти, аналог амінокислоти або їх суміш являє собою аргінін, пролін, глутамінову кислоту, аспарагінову кислоту, гліцин, аланін, цистеїн, лізин, аналог лізину, такий як епсилон-амінокапронова кислота або будь-яку їх комбінацію. У переважному варіанті реалізації винаходу вказана амінокислота може бути присутня у формі основи амінокислоти, такої як лізину гідрохлорид і аргініну гідрохлорид. У одному варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція містить дві амінокислоти, солі амінокислот та/або аналоги амінокислот. У іншому варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція містить три

амінокислоти, солі амінокислот та/або аналоги амінокислот. У деяких варіантах реалізації винаходу концентрація амінокислоти становить від близько 10 мМ до 300 мМ, від близько 20 мМ до близько 200 мМ або від близько 10 мМ до близько 100 мМ, або від близько 25 мМ до близько 75 мМ, або близько 10 мМ, або близько 25 мМ, або близько 50 мМ, або близько 75 мМ, або

близько 100 мМ, близько 150 мМ, близько 200 мМ, близько 250 мМ або близько 300 мМ.

[00120] В іншому варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція за цим винаходом додатково містить антиоксидант. В одному з варіантів реалізації винаходу антиоксидант являє собою метіонін, окиснений глутатіон (Glu-Cys-Gly)<sub>2</sub> (613 кДа), аскорбінову кислоту, N-ацетил-L-цистеїн/гомоцистеїн, глутатіон, 6-гідрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксильну кислоту (Trolox®), ліпоєву кислоту, натрій тіосульфат, платину, гліцин-гліцин-гістидин (трипептид), бутильований гідрокситолуен (БГТ) або будь-яку їх комбінацію. В деяких варіантах реалізації винаходу концентрація антиоксиданту становить від близько 10 мМ до близько 200 мМ, наприклад, близько 10 мМ, близько 50 мМ, близько 100 мМ, близько 150 мМ або близько 200 мМ.

[00121] В іншому варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція за цим винаходом додатково містить поверхнево-активну речовину. В цьому документі термін "поверхнево-активна речовина" відноситься до сполуки/агента, що знижує поверхневий натяг між рідиною і твердою речовиною при розчиненні у розчині. В одному варіанті реалізації винаходу поверхнево-активна речовина являє собою Полісорбат® 80, Полісорбат® 20, Pluronic® F-68 або Brij® 35; полуксамери (наприклад, полуксамер 188 або Pluronic® F-68); Triton®; натрій додецилсульфат (НДС); натрій лаурилсульфат; натрій октилглікозиду; лаурил-, міристил-, лінолеїл- або стеарилсульфобетаїн; лаурил-, міристил-, лінолеїл- або стеарилсаркозин; лінолеїл-, міристил- або цетилбетаїн; лауроамідопропіл-, кокамідпропіл-, лінолеамідопропіл-міристамідопропіл-, пальмідопропіл- або ізостеарамідопропіл-бетаїн (наприклад, лауроамідопропіл); міристамідопропіл-, пальмідопропіл- або ізостеарамідопропіл-диметиламін; -метил-кокоїл-натрій, олеїлтаурат або динатрійметил; і серія MONAQUAT™ (Mona Industries, Inc. Патерсон, Нью-Джерсі), поліетилгліколь, поліпропілгліколь або кополімери етилену і пропіленгліколю або будь-яку їх комбінацію. У варіанті реалізації винаходу концентрація поверхнево-активної речовини регулюється для зменшення агрегації плазміногену, його біологічно активного варіанту або фрагменту та/або мінімізації утворення частинок в композиції та/або зменшення адсорбції. В одному варіанті реалізації винаходу поверхнево-активна речовина присутня у композиції в концентрації від близько 0,001 до 1 % (мас./об.), від близько 0,002 % до близько 0,02 % (мас./об.) або від близько 0,002 % до близько 0,006 % (мас./об.). У деяких варіантах реалізації винаходу композиція містить поверхнево-активну речовину, що є полуксамером. У деяких варіантах реалізації цього винаходу композиція містить Pluronic® F68. У конкретних варіантах реалізації винаходу композиція містить від близько 0,01 % (мас./об.) до близько 1 % (мас./об.) Pluronic® F68, наприклад, близько 0,1 % (мас./об.) Pluronic® F68. В одному з варіантів реалізації винаходу композиція по суті не містить або взагалі не містить неіонної поверхнево-активної речовини, наприклад, композиція містить менш ніж близько 0,02 %, 0,01 %, 0,006 % або 0,004 % (мас./об.) неіонної поверхнево-активної речовини.

[00122] В іншому варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція за цим винаходом додатково містить полімерний стабілізатор. В одному варіанті реалізації винаходу полімерний стабілізатор являє собою гепарин (від 6 до 30 кДа); поліамінокислоту (від 2 до 100 кДа), таку як полі(Glu), полі(Asp) і полі(Glu, Phe); карбоксиметилцелюлозу (10-800 сП); циклодекстрин; сульфат декстрану або будь-яку їх комбінацію. У деяких варіантах реалізації винаходу концентрація полімерного стабілізатора становить від близько 0,001 % до близько 0,50 % або від близько 0,001 % до близько 0,25 %.

[00123] В іншому варіанті реалізації фармацевтична композиція за цим винаходом додатково містить поліетиленгліколь, наприклад, ПЕГ 200, ПЕГ 400, ПЕГ 1000, ПЕГ 4000, ПЕГ 8000, ПЕГ 10000 або будь-яку їх комбінацію. В одному з варіантів реалізації винаходу концентрація поліетиленгліколю становить від близько 0,5 % до близько 10 % (мас./мас.).

[00124] В одному варіанті реалізації цього винаходу фармацевтична композиція за цим винаходом додатково містить консервант. В цьому документі "консервант" відноситься до сполуки/агента, що може бути додана до фармацевтичної композиції для суттєвого зменшення активності бактерій у ній, і, таким чином, спрощується одержання, наприклад, багатодозової фармацевтичної композиції. Приклади консервантів включають м-крезол, бензиловий спирт, метанол, етанол, ізопропанол, бутилпарабен, етилпарабен, метилпарабен, фенол, гліцерол, ксиліт, резорцин, катехол, 2,6-диметилциклогексанол, 2-метил-2,4-пентадіолу, декстран, полівінілпіролідон, 2-хлорфенол, бензетоній хлориду, мертіолят (тимеросал), бензойну кислоту (пропілпарабен) М.м. 180,2, бензойну кислоту М.м. 122,12, бензалконій хлориду, хлорбутанол,

натрій бензоат, натрій пропіонат або цетилпіридиній хлорид. Консервант вибирають для сумісності з буфером та іншими компонентами фармацевтичної композиції (тобто, розчин є прозорим). Наприклад, якщо буфер є натрій ацетатом або натрій фосфатом, сумісні консерванти включають метанол, етанол, ізопропанол, гліцерол, резорцин, 2-метил-2,4-пентадіол, мертіолят (тимеросал), бензалконій хлорид, натрій бензоат або цетилпіридиній хлорид. Концентрація консерванту для застосовування у композиції за цим винаходом може бути визначена відповідно до рішення фахівців у цій галузі техніки. У деяких варіантах реалізації винаходу концентрація консерванту становить від близько 0,005 % до близько 10 % (мас./об.), від близько 0,1 до близько 1,0 % (мас./об.) або від близько 0,3 до близько 0,7 % (мас./об.). У деяких варіантах реалізації винаходу концентрація консерванту становить близько 0,005, 0,1, 0,3, 0,5, 0,7 або 1,0 % (мас./об.).

[00125] В іншому варіанті реалізації фармацевтична композиція за цим винаходом не містить консерванту.

[00126] Один або більше додаткових фармацевтично прийнятних носіїв, допоміжних речовин або стабілізаторів, таких як описані у Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th edition, Genarro A. Ed.(1995), можуть бути введені до цієї композиції за умови, що вони не чинять значного негативного впливу на бажані характеристики фармацевтичної композиції за винаходом. Додаткові складові елементи композиції за цим винаходом можуть включати воду, наприклад, воду для ін'єкцій, рослинне масло, загусник, такий як метилцелюлоза, анти-адсорбент, зволожуючий агент, антиоксиданти, в тому числі аскорбінову кислоту і метіонін, хелатувальні агенти, такі як ЕДТА; комплекси металів (наприклад, комплекси Zn-білок), біорозщеплювані полімери, такі як поліестери, та/або солеутворюючі протиіони, такі як натрій і т.д. Прийнятні носії, наповнювачі або стабілізатори присутні у такій кількості, що вони є нетоксичними для суб'єктів у застосовуваних дозах і концентраціях.

[00127] В одному варіанті реалізації винаходу загальна маса твердої речовини у фармацевтичній композиції за цим винаходом становить від близько 3,5 % до близько 8 % при ліофілізації, переважно від близько 3,5 % до близько 6 % та більш переважно від близько 3,8 % до 5,5 %. Збільшення концентрації компонентів у фармацевтичній композиції за винаходом приводить до збільшення загального % твердої речовини у ліофілізованій композиції і покращення зовнішнього вигляду осаду ліофілізованої композиції.

[00128] В одному з варіантів реалізації винаходу плазміноген або його варіант являє собою Lys- або Glu-плазміноген. У іншому варіанті реалізації винаходу плазміноген або його варіант являє собою Glu-плазміноген. В одному з варіантів реалізації винаходу плазміноген або його варіант складається із різних видів та/або варіантів плазміногену. Переважно, вміст Glu-плазміногену становить більш ніж 50 % від загального вмісту плазміногену або його варіантів або більш ніж 60 %, або більш ніж 70 %, або більш ніж 80 %, або більш ніж 90 %.

[00129] Варіантом реалізації цього винаходу є фармацевтична композиція, що містить плазміноген або його варіант, причому в композиції загальна кількість білка, що не є плазміногеном або його варіантом, становить менш ніж близько 10 %, менш ніж близько 5 % або менш ніж близько 2 %. Варіантом реалізації цього винаходу є фармацевтична композиція, що містить плазміноген або його варіант, причому композиція не містить або практично не містить додаткового білка (тобто, на додаток до плазміногену або його варіанту). В одному варіанті реалізації цього винаходу композиція не містить або практично не містить альбуміну. В одному варіанті реалізації цього винаходу композиція не містить або практично не містить апротиніну. В одному варіанті реалізації цього винаходу композиція не містить або по суті не містить інгібітору трипсину. В одному варіанті реалізації цього винаходу композиція не містить або по суті не містить інгібітору серинпротеази. В одному варіанті реалізації цього винаходу композиція не містить або практично не містить плазміну. В одному варіанті реалізації цього винаходу композиція по суті не містить або взагалі не містить поверхнево-активної речовини, тобто концентрація поверхнево-активної речовини становить менш ніж 0,01 mM.

[00130] В одному варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція, що містить плазміноген за цим винаходом, є стабільною при кімнатній температурі протягом щонайменш 2 годин, 24 годин, тижня або місяця.

[00131] В одному варіанті реалізації винаходу фармацевтична композиція, що містить плазміноген за цим винаходом, є стабільною при температурі нижче 0 °C протягом щонайменше 3 місяців, протягом щонайменше 6 місяців, протягом щонайменше 12 місяців або протягом щонайменше 24 місяців. Вказана температура нижче за 0 °C становить близько -20 °C, близько -30 °C, близько -60 °C, близько -70 °C або близько -80 °C.

[00132] У деяких варіантах реалізації винаходу фармацевтична композиція, що містить плазміноген, є рідкою композицією, придатною для ліофілізації рідкою композицією, придатною

для заморожування рідкою композицією, ліофілізованою композицією, замороженою композицією або відновленою композицією.

[00133] Термін "фармацевтична композиція" позначає композицію для фармацевтичних, медичних або терапевтичних цілей.

5 [00134] Всі комбінації компонентів, описаних в цьому документі (рН, буфер, модифікатор осмотичного тиску, наповнювач, стабілізатор і т.д.) та їх відповідні концентрації для фармацевтичної композиції за цим винаходом, конкретно включені до цього винаходу. Репрезентативні приклади фармацевтичних композицій плазміногену (Pg) відповідно до цього винаходу представлені у Табл. 1А.

10

Таблица 1А

№	Pg	Буфер	Наповнювач	Стабілізатор	Модифікатор осмотичного тиску	pH
1	5 мг/мл	10 мМ цитратний	73 мМ сахарози	67 мМ гліцину	68,4 мМ NaCl;	6,5
2	5 мг/мл	10 мМ цитратний	73 мМ сахарози	33.5 мМ гліцину	34,22 мМ NaCl	6,5
3	5 мг/мл	10 мМ цитратний	117 мМ сахарози	67 мМ гліцину	68,4 мМ NaCl;	6,5
4	5 мг/мл	10 мМ цитратний	117 мМ сахарози	67 мМ гліцину	34,22 мМ NaCl	6,5
5	5 мг/мл	10 мМ цитратний	73 мМ сахарози	67 мМ гліцину	34,22 мМ NaCl	6,5
6	5 мг/мл	10 мМ цитратний	73 мМ сахарози	67 мМ гліцину	75,3 мМ NaCl	6,5
7	5 мг/мл	10 мМ цитратний	79 мМ сахарози	40 мМ гліцину	75 мМ NaCl	6,5
8	5 мг/мл	10 мМ цитратний	77 мМ сахарози	47 мМ гліцину	75 мМ NaCl	6,5
9	5 мг/мл	10 мМ цитратний	75 мМ сахарози	54 мМ гліцину	75 мМ NaCl	6,5
10	5 мг/мл	10 мМ цитратний	50-150 мМ сахарози	25-75 мМ гліцину	35-150 мМ NaCl	6,5
11	5 мг/мл	10 мМ цитратний	50-150 мМ маніту	25-75 мМ гліцину	35-150 мМ NaCl	6,5
12	5 мг/мл	10 мМ цитратний	50-150 мМ сорбіту	25-75 мМ гліцину	35-150 мМ NaCl	6,5
13	5 мг/мл	10 мМ цитратний	50-150 мМ сахарози	25-75 мМ аргініну	35-150 мМ NaCl	6,5
14	5 мг/мл	10 мМ цитратний	50-150 мМ маніту	25-75 мМ аргініну	35-150 мМ NaCl	6,5
15	5 мг/мл	10 мМ цитратний	50-150 мМ сорбіту	25-75 мМ аргініну	35-150 мМ NaCl	6,5
16	5 мг/мл	10 мМ фосфатний	50-150 мМ сахарози	25-75 мМ гліцину	35-150 мМ NaCl	7,2
17	5 мг/мл	10 мМ фосфатний	50-150 мМ маніту	25-75 мМ гліцину	35-150 мМ NaCl	7,2
18	5 мг/мл	10 мМ фосфатний	50-150 мМ сорбіту	25-75 мМ гліцину	35-150 мМ NaCl	7,2
19	5 мг/мл	10 мМ фосфатний	50-150 мМ сахарози	25-75 мМ аргініну	35-150 мМ NaCl	7,2
20	5 мг/мл	10 мМ фосфатний	50-150 мМ маніту	25-75 мМ аргініну	35-150 мМ NaCl	7,2
21	5 мг/мл	10 мМ фосфатний	50-150 мМ сорбіту	25-75 мМ аргініну	35-150 мМ NaCl	7,2

[00135] Інші характерні приклади фармацевтичних композицій у відповідності до цього винаходу представлені у Табл. 1В нижче для композицій, що містять від близько 0,01 мг/мл до

близько 80 мг/мл і переважно від 5 до 60 мг/мл плазміногену або його варіанту, значення pH яких становить від 6,5 до 8,0. У всіх наведених прикладах переважна частина плазміногену в основному складається із Glu-плазміногену, а загальний вміст плазміногену або його варіанту знаходиться в діапазоні від 5 мг/мл до 60 мг/мл.

5

Таблиця 1В

№	Наповнювач	Стабілізатор	Модифікатор осмотичного тиску
1	-	-	35 мМ NaCl
2	-	25 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
3	-	50 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
4	50 мМ маніту	25 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
5	50 мМ маніту	50 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
6	100 мМ маніту	25 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
7	100 мМ маніту	50 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
8	50 мМ сорбіту	25 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
9	50 мМ сорбіту	50 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
10	100 мМ сорбіту	25 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
11	100 мМ сорбіту	50 мМ аргініну HCl	35 мМ NaCl
12	-	-	50 мМ NaCl
13	-	25 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
14	-	50 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
15	50 мМ маніту	25 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
16	50 мМ маніту	50 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
17	100 мМ маніту	25 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
18	100 мМ маніту	50 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
19	50 мМ сорбіту	25 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
20	50 мМ сорбіту	50 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
21	100 мМ сорбіту	25 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
22	100 мМ сорбіту	50 мМ аргініну HCl	50 мМ NaCl
23	-	25 мМ аргініну HCl	-
24	-	50 мМ аргініну HCl	-
25	-	75 мМ аргініну HCl	-
26	-	100 мМ аргініну HCl	-
27	-	25 мМ аргініну HCl	-
28	-	50 мМ аргініну HCl	-
29	-	75 мМ аргініну HCl	-
30	-	100 мМ аргініну HCl	-

[00136] В одному варіанті реалізації цього винаходу фармацевтична композиція, що містить плазміноген за цим винаходом, є придатною для внутрішньовенного, підшкірного, місцевого, внутрішньошкірного, офтальмологічного або внутрішньом'язового введення.

10 [00137] У відповідності до одного з варіантів реалізації винаходу фармацевтична композиція за цим винаходом призначена для введення людині. Переважно фармацевтична композиція за цим винаходом призначена для внутрішньовенного, підшкірного, місцевого, внутрішньом'язового або офтальмологічного введення. В одному варіанті реалізації винаходу композиція за цим винаходом знаходиться у формі рідини, гелю, крему або мазі.

15 [00138] Плазміноген, введений у композицію за цим винаходом, може бути одержаний із декількох джерел. Він може бути одержаний за допомогою рекомбінантного синтезу або екстрагований та очищений із крові, плазми або одержаного із крові розчину. Плазміноген може бути добутий із крові або плазми шляхом фракціонування за Соhn або осадження. Плазміноген може бути очищений із плазми або одержаного із крові розчину шляхом зв'язування в ході афінної хроматографії, наприклад, способом, описаним у WO 2006/120423. Варіант плазміногену включає, але не обмежуючись цим, будь-які модифікації амінокислотної послідовності або будь-яке додавання до нього хімічної групи або будь-яке додавання до нього амінокислоти або амінокислотної послідовності. Фрагмент плазміногену включає, але не обмежуючись цим, будь-які делеції амінокислот або амінокислотної послідовності у вказаному фрагменті.

[00139] В цьому документі термін "близько" передбачає охоплення + або -10 % від відповідної величини.

[00140] Термін "суб'єкт" включає живі організми, які можуть одержати користь від введення плазміногену, його варіанту або фрагменту. Термін "суб'єкт" включає тварин, таких як ссавці або птахи. Переважно суб'єктом є ссавець. Більш переважно, суб'єктом є людина. Найбільш переважно, суб'єктом є людина, яка потребує лікування.

[00141] В цьому документі "профілактика" або "попередження" означають щонайменше зниження вірогідності ризику (або сприйнятливості до) набуття захворювання або розладу (тобто, те, що перешкоджає щонайменше розвитку одного із клінічних симптомів захворювання у пацієнта, який може бути схильним або є схильним до захворювання, але який ще не зазнає або у якого не проявляються симптоми захворювання). Біологічні і фізіологічні параметри для ідентифікації таких пацієнтів наведені у цьому описі, а також добре відомі лікарям.

[00142] Терміни "лікування" або "лікувати" пацієнта включають застосування або введення композиції за винаходом суб'єкту (або нанесення, або введення композиції за винаходом у тканину або орган суб'єкта) з метою сповільнення, стабілізації, вилікування, зцілення, полегшення, послаблення, модифікації, усунення, зменшення тяжкості погіршення, полегшення, покращення або впливу на захворювання або стан, симптом захворювання або стану, або ризик (або сприйнятливості до) захворювання або стану. Термін "лікування" відноситься до будь-якого позначення успіху лікування або полегшення пошкодження, патології або стану, зокрема, будь-якого об'єктивного або суб'єктивного параметра, такого як полегшення; ремісія; зменшення швидкості погіршення; зменшення тяжкості захворювання; стабілізація, зменшення симптомів або утворення ураження, патології або стану, більш прийняттого для суб'єкта, сповільнення швидкості дегенерації або зниження функції; зменшення інвалідизації в кінцевій точці дегенерації; або покращення фізичного або психічного стану суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу термін "лікування" може включати збільшення тривалості життя суб'єкта та/або відтермінування необхідності у додатковому лікуванні.

[00143] В цьому документі термін "терапевтично ефективна кількість" позначає кількість сполуки, яка, при введенні суб'єкту з метою лікування або профілактики конкретного розладу, захворювання або стану, є достатньою для проведення такого лікування або профілактики вказаного розладу, захворювання або стану. В цьому документі термін "терапевтично ефективна кількість" додатково позначає кількість плазміногену, його варіанту або його фрагменту, що є ефективною з точки зору загоєння ран, загоєння перфорації барабанної перетинки, загоєння рани періодонту, лікування інфекційного захворювання, оздоровлення або підтримання здорового стану ротової порожнини, лікування заднього відшарування скловидного тіла (ВСТ), діабетичної виразки і показань для тромболізу у суб'єктів із дефіцитом плазміногену, таких як коронарний тромбоз, лікування реперфузійного ураження тканини, лікування ішемії, інфаркту, набряку мозку, для покращення мікроциркуляції, лікування суб'єктів з дефіцитом плазміногену та модуляції шляху активації комплементу у суб'єктів. Дози і терапевтично ефективні кількості можуть варіювати, наприклад, в залежності від різних факторів, включаючи вікову активність, масу тіла, загальний стан здоров'я, стать і раціон суб'єкта, час уведення, спосіб уведення, швидкість виведення і будь-яку комбінацію лікарських засобів, якщо це доречно, вплив на суб'єкта, якого лікар бажає досягти, і конкретний(і) розлад(и), на який страждає суб'єкт. Крім того, терапевтично ефективна кількість може залежати від параметрів крові суб'єкта (наприклад, ліпідний профіль, рівні інсуліну, глікемії), тяжкості патологічного стану, функції органу або базового захворювання або ускладнень. Такі придатні дози можуть бути визначені за допомогою будь-яких доступних аналізів, включаючи аналізи, описані в цьому документі. Якщо фармацевтичну композицію за винаходом слід вводити людям, наприклад, лікар може спочатку призначати відносно низьку дозу, в подальшому підвищуючи дозу до досягнення належної відповіді. В кінцевому рахунку, доза для введення буде залежати від рішення лікаря.

#### Набори

[00144] Сполука(и) за винаходом може бути упакована як частина набору, що може включати ємність (наприклад, упаковку, коробку, ампулу, тощо). Набір може комерційно застосовуватися у відповідності до способів, описаних у цьому документі, і може включати інструкції для застосування у способі за винаходом.

[00145] Композиція за винаходом може бути введена або не введена пацієнту одночасно з іншим активним інгредієнтом, перед або після нього, а також тим же способом введення або за допомогою іншого способу введення. Таким чином, до цього винаходу додатково включені набори, які, при застосуванні лікуючим лікарем, можуть спростити введення пацієнту відповідних кількостей композиції за цим винаходом, окремо або в поєднанні з іншим активним



інгредієнтом.

[00146] Набори за винаходом можуть додатково містити фармацевтично прийнятну рідину для розведення ліофілізованої композиції. Наприклад, якщо активний інгредієнт постачається у твердому вигляді і повинен бути розведений для парентерального введення, набір може включати герметично закупорений контейнер з придатною фармацевтично прийнятною рідиною, в якій активний інгредієнт може бути розчинений для утворення стерильного розчину без механічних включень, придатного для парентерального введення.

[00147] У деяких варіантах реалізації винаходу композиція за цим винаходом міститься в ампулі, флаконі, пробірці, шприці або іншій ємності для одноразового або багаторазового введення. Такі ємності можуть бути виготовлені із скла або полімерного матеріалу, наприклад, такого як поліпропілен, поліетилен, полівінілхлорид, або поліолефін. В деяких варіантах реалізації винаходу ємності можуть містити ущільнення або іншу систему закупорювання, таку як гумова пробка, крізь яку може проникати голка для відбору одиної дози і повторної герметизації після витягання голки. Всі такі ємності для ін'єкційних рідин, ліофілізованих композицій, розведених ліофілізованих композицій або порошків для розведення та ін'єкцій, відомі в цій галузі техніки, розглядаються для застосування в описаних у цьому документі композиціях і способах. У конкретному варіанті реалізації винаходу ємність являє собою пристрій для введення за типом шприц-ручки, що містить одну дозу або декілька доз. Такий пристрій для введення за типом ручки може бути багаторазовим, наприклад, багаторазова шприц-ручка, яка вміщує одноразовий картридж, який містить одну дозу або декілька доз, або весь пристрій може бути одноразовим, наприклад, одноразовою шприц-ручкою, що містить одну дозу або декілька доз. У деяких варіантах реалізації винаходу, в яких пристрій для введення за типом шприц-ручки містить декілька доз, доза може бути попередньо встановленою, тобто, фіксованою. В інших варіантах реалізації цього винаходу доза може бути варіюючою, тобто, відбирається користувачем. У деяких варіантах реалізації винаходу пристрій для доставки за типом шприц-ручки обладнаний люеровським наконечником, люеровським конусом або іншим з'єднувальним наконечником для голки, який полегшує приєднання одноразової голки. В інших варіантах реалізації винаходу пристрій за типом шприц-ручки обладнаний закріпленою, тобто незйомною голкою. В іншому конкретному варіанті реалізації винаходу ємність є шприцем. У деяких варіантах реалізації винаходу шприц обладнаний люеровським наконечником, люеровським конусом або іншим з'єднувальним наконечником для голки, який полегшує приєднання одноразової голки. В інших варіантах реалізації винаходу шприц обладнаний закріпленою, тобто незйомною голкою. У деяких варіантах реалізації винаходу шприц попередньо заповнений однією дозою або декількома дозами.

Аналізи стабільності

[00148] "Стабільні" композиції включають композиції, у яких білок (плазміноген або його варіант) в композиції по суті зберігає свою фізичну стабільність та/або хімічну стабільність та/або біологічну активність в процесі зберігання. Різні аналітичні методи для визначення стабільності білка доступні в цій галузі техніки і розглянуті, наприклад, у Lee, V, 1991, Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301 (Marcel Dekker, Inc, New York, NY) і Jones, 1993, Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90. Стабільність може бути виміряна при вибраній температурі протягом вибраного періоду часу. В одному варіанті реалізації винаходу композиція є стабільною при кімнатній температурі (близько 25 °C) або при 40 °C протягом щонайменше 1, 2, 3, 4, 5 або 6 місяців та/або є стабільною при 2-8 °C протягом щонайменше 1, 2, 3, 4, 5 або 6 місяців. Крім того, у деяких варіантах реалізації винаходу композиція є стабільною після заморожування (наприклад, -30 °C). У деяких варіантах реалізації винаходу критерії стабільності є наступними: (1) композиція залишається прозорою при візуальній інспекції; (2) варіації концентрації, pH і осмотичного тиску композиції становлять не більш ніж близько  $\pm 10\%$ ; (3) утворюється не більш ніж близько 10 %, не більш ніж близько 5 % або не більш ніж близько 1 % агрегатів, за даними ЕК-ВЕРХ; і (4) руйнується не більш ніж 10 мас. %, не більш ніж близько 5 % або не більш ніж 3 % плазміногену, за даними відомих в цій галузі техніки і добре валідованих аналітичних методів.

[00149] Термічна денатурація: Можуть бути проведені експерименти з термічною денатурацією у форматі високопродуктивного скринінгу (ВСП) складу для плазміногену або його варіанту або фрагменту із застосуванням Optim 2™ виробництва Pall; або іншої(их) альтернативної(их) біофізичної(их) методик(и) для контролю деградації білка (стандартна ПЦР (з використанням нагрівального блоку)), флуориметр або КД-спектрофотометр (з контролем температури). Для прикладу, система Optim 2 одночасно вимірює діапазон показників стабільності білка, в тому числі температуру переходу розгортання (Tm) температуру початку агрегації (Tagg) і швидкість агрегації.

[00150] Вплив допоміжних речовин на термостабільність: Вузкий діапазон значення pH визначають при оптимальному діапазоні pH та більш високій температурі плавлення ( $T_m$ ) і температурі початку агрегації ( $T_{agg}$ ). Якщо більш висока  $T_m$  одержана у фізіологічному діапазоні 6,5-7,5; проводять наступне(і) випробування, щонайменше із 3 буферними системами.

[00151] Крім того, ІЕФ (ізоелектрофокусування) або кІЕФ (капілярне ізоелектрофокусування) може бути проведене для оцінки фізичної конформації плазміногену в розчині.

[00152] Відсоток стабілізації базується на вимірюваннях ферментативної активності плазміногену для кожного буфера/допоміжної речовини і для контрольного розчину, що містить тільки плазміноген, через 1-8 годин інкубації при 60 °С. В іншому випробуванні стабілізація може бути оцінена при 37 °С протягом 1-8 годин. Відсоток стабілізації обчислюється наступним чином:

$$\text{Відсоток Стабілізації} = 100 \times [S-T]/[T]$$

[00153] Де S являє собою залишкову ферментативну активність ферментного розчину з допоміжною речовиною, яка повинна бути протестована через 10 днів при 35 °С; а T позначає активність контролю без допоміжної речовини, що зберігається в таких же умовах.

[00154] Агрегація і підрахунок частинок (ПЧ): ПЧ здійснюють за допомогою тесту підрахунку частинок із затінюванням світла. Фахівці з аналізу повинні використовувати відповідний прилад, дія якого заснована на принципі затінювання світла, і який забезпечує можливість автоматичного визначення розміру і кількості частинок. Вибраний датчик повинен бути придатним для передбачуваного діапазону розміру частинок і очікуваної кількості частинок. Стандартний діапазон розміру частинок звичайно варіює від 2 до 100 мкм. Фахівці з аналізу повинні перевіряти характеристики пристрою, використовуючи USP Підрахунок частинок RS, диспергованих у відповідному об'ємі вільної від механічних включень води. Необхідно дотримуватися обережності, щоб уникнути агрегації частинок під час диспергування в процесі калібрування.

[00155] Методи: зразки продукту випробовують у такий спосіб, якийнайбільш адекватним чином відображає введення (наприклад, витісняється вміст шприца). Для парентеральних препаратів достатнього об'єму (тобто достатньо великого об'єму для спрощення тестування), тестування окремих блоків часто є діагностичним. Для парентеральних продуктів недостатнього об'єму обережно, але ретельно змішують кожен блок, потім об'єднують вміст відповідної кількості блоків в окремій ємності, щоб одержати об'єм, необхідний для одного випробування (звичайно 0,2-5,0 мл). Якщо здійснюється розведення, слід упевнитися, що об'єм холостого контейнера є достатнім для продукту і розбавлювачів, і що в аналіз уведена невелика кількість механічних включень, якщо уведена взагалі. Обережно відкривають кожен блок, видаляють герметичну пробку, уникаючи забруднення вмісту перед відбором проб, розведенням або, при необхідності, об'єднанням. Якщо вказаний розчинник продукту, наприклад, для твердих речовин або ліофілізованих порошків для парентерального введення, розведення або розбавлення необхідно здійснювати відповідною кількістю вказаного розчинника. В такому випадку власне розчинник може бути протестований, щоб гарантувати, що він не є суттєвим джерелом частинок. Віднімання кількості частинок розчинника від загальної кількості не дозволяється. Усунення пухирців газу є ключовою стадією, зокрема, для білкових продуктів, які легко захоплюють гази. Рекомендується два способи: залишити рідкий продукт відстоюватися при тиску навколишнього середовища або під слабким (наприклад, 75 мм. рт.ст.) вакуумом. Можуть бути застосовані інші способи, які продемонстрували свою придатність. Слід уникати ультразвуку. Після дегазації зразків їх слід обережно збовтати для суспендування всіх частинок шляхом обережного, але ретельного перемішування вмісту зразка за допомогою відповідних засобів, наприклад, повільно обертаючи ємність в руках. В будь-якому випадку не рекомендується перемішувати рідкий продукт, перевертаючи ємність. негайно після перемішування відбирають не менше чотирьох аліквот, об'єм кожної з яких відповідає пропускній спроможності приладу (звичайно 0,2-5,0 мл). Підраховують кількість частинок з розміром у вибраному діапазоні, зокрема, частинок з розміром 10 і 25 мкм або більше. Відкидають результат, одержаний для першої аліквоти, та обчислюють середню кількість частинок у кожному діапазоні розміру для інших аліквот випробовуваного препарату. Для контролю відбору зразків використовують об'єм тари, який повинен бути характерним для датчика динамічного діапазону та об'єму голки.

[00156] Оцінка: Вимоги регуляторних органів, таких як Управління санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і лікарських засобів (FDA) та USP/EP/JP (Об'єднана Державна Фармакопея), Розділи (787, 788 та 789), Європейська Фармакопея (EP 2.9.20 Механічні включення) і Японська Фармакопея (JP 16: 6.06, 6.07 Випробування на нерозчинні механічні включення), щодо механічних включень наступним чином визначають прийнятний рівень частинок в рідкому препараті для застосування у людини. Для парентеральних продуктів, що

являють собою розчини терапевтичного білка для інфузій або ін'єкцій, які постачаються в контейнерах з номінальним вмістом 100 мл або менше: середня кількість частинок, присутніх у випробовуваних блоках, не повинна перевищувати 6000 на ємність для частинок розміром 10 мкм або більше, і не повинна перевищувати 600 на ємність для частинок розміром 25 мкм або більше. Для ін'єкційних розчинів терапевтичного білка, що постачаються у контейнерах з номінальним вмістом більш ніж 100 мл, і препаратів для парентеральної інфузії або ін'єкцій із номінальним вмістом більше 100 мл: середня кількість частинок, присутніх у випробовуваних блоках, не повинна перевищувати 25 на мл для частинок розміром 10 мкм або більше і не повинна перевищувати 3 на мл для частинок розміром 25 мкм або більше. Крім того, загальна кількість частинок розміром 10 мкм або більше не повинна перевищувати 6000 на ємність і частинок розміром 25 мкм або більше не повинна перевищувати 600 на ємність. Продукти, які використовуються з кінцевим фільтром під час введення (в лінії), звільнені від цих вимог, за умови, що доступні наукові дані для виправдання звільнення від вимог. Однак, очікується, що фільтрати будуть відповідати вимогам. Для продуктів, що постачаються або спочатку розводяться в об'ємі < 100 мл, і далі розводяться для інфузії в об'ємі > 100 мл, вміст частинок слід оцінювати як до, так і після розведення, причому його оцінюють на базі їх кінцевого об'єму. Отже, спосіб USP/EP/JP таким чином включений до цього документу. У цьому документі термін "частинка" відноситься до "механічного включення" і навпаки; вказані терміни можуть бути використані взаємозамінним чином.

[00157] Дослідження кінетики з вимірюванням за методом розсіювання світла при 476 нм/600 нм з використанням Optim-2™ або стандартного УФ-спектрофотометра в УФ-діапазоні на довжині хвилі 350 нм: для швидшого скринінгу різних стабілізуючих допоміжних речовин обирають умови прискореного старіння, такі як підвищена температура (65 °C) і кислий розчин (pH 4,5) або основний розчин (pH 9,5). Компоненти композиції для підвищення Tagg оцінюють як функцію часу при постійній температурі (55-60 °C) протягом щонайменше 1-4 годин. Кінетичну поведінку агрегації плазміногену в розчині вимірюють при температурі 55-60 °C з контролем температури (визначається початкова Tm) протягом до 4 годин. Здійснюють скринінг допоміжних речовин щодо їх впливу на інгібування агрегації плазміногену, за даними вимірювання методом розсіювання світла при 267 нм, 467 нм і 350 нм (Cheng, W. et al. "Comparison of High-Throughput Biophysical Methods to Identify Stabilizing Excipients for a Model IgG2 Monoclonal Antibody: Conformational Stability and Kinetic Aggregation Measurements" Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 101, No 5, page 1701-1720, 2012).

[00158] Вплив концентрації білка на термічну стабільність: однією з переваг Optim-2™ або Флуориметра з подвійним скануванням (ФПС з фарбником Sypro) є можливість проводити вимірювання Tm і Tagg у висококонцентрованих білкових розчинах. Незалежно від того, чи проводиться дослідження потенційних кандидатів щодо відносної стабільності, чи скринінг різних умов для стабілізації білків у складі, може бути важливим ідентифікувати властивості білкового розчину при високих концентраціях, коли кількість доступних методів визначення є обмеженою.

[00159] Вплив складу композиції на кінцевий осмотичний тиск: у кінцевій фармацевтичній композиції концентрація буферної речовини, допоміжної речовини і солі переважно не повинна бути дуже високою через практичні обмеження парентеральної ін'єкції. Натомість, більш помірні концентрації, такі як більшою мірою фізіологічні, є переважними для одержання осмотичного тиску в діапазоні від 240 до 400 МОсм. Таким чином, осмотичний тиск обчислюють з метою початкового визначення цього діапазону; однак у випадку в/в ін'єкції додатково можуть бути застосовані концентрації з вищим осмотичним тиском в ході розробки способу ліофілізації, якщо після розведення плазміноген або його варіант або фрагмент буде розбавлений розчином для розведення.

[00160] Слід зазначити, що терміни "склад" і "композиція" можуть бути використані в цьому документі альтернативно і призначені для позначення одного і того.

[00161] Заголовки включені до цього документу для цілей посилання і допомоги у знаходженні конкретних розділів. Вказані заголовки не призначені для обмеження об'єму концепцій, описаних у цьому документі, і вказані концепції можуть знаходити застосування в інших розділах по всьому опису. Таким чином, цей винахід не слід інтерпретувати як обмежений варіантами його реалізації, проілюстрованими у цьому документі, але слід інтерпретувати в найширшому об'ємі, що узгоджується з розкритими у цьому документі принципами і новими ознаками.

[00162] Форми однини включають відповідні посилання на множину, якщо контекст явно не диктує іншого.

[00163] Якщо не вказано інше, всі числа, що виражають кількості інгредієнтів, умови реакції,

концентрації, властивості і т.п., використані в описі і формулі винаходу, слід розуміти як модифіковані у всіх випадках терміном "близько". Щонайменше, кожен чисельний параметр слід розуміти принаймні у світлі кількості приведених значущих цифр, та із застосуванням звичайних методів округлення. Відповідно, якщо не вказано зворотне, кількісні параметри, наведені у цьому документі і доданій формулі винаходу, являють собою наближення та можуть варіювати в залежності від необхідних властивостей, які повинні бути одержані. Незважаючи на те, що чисельні діапазони і параметри, які встановлюють широкий об'єм винаходу, є наближеннями, чисельні значення, наведені у конкретних прикладах, вказані настільки точно, наскільки це можливо. Однак, будь-яке чисельне значення за своєю природою містить певні похибки, що виникають в результаті варіацій в умовах експериментів, тестових вимірюваннях, статистичних аналізах і т.п.

[00164] Необхідно розуміти, що приклади і варіанти реалізації винаходу, описані в цьому документі, слугують тільки меті ілюстрації, і що в їх світлі різноманітні модифікації або варіації будуть запропоновані фахівцям в цій галузі техніки і повинні бути включені в об'єм цього винаходу та об'єм доданої формули винаходу.

#### ПРИКЛАДИ

[00165] Наступні приклади додатково ілюструють цей винахід, але не призначені для його обмеження.

Приклад 1: Стабільність плазміногену в замороженому складі

[00166] Результати випробування стабільності фармацевтичної композиції, що містить 5 мг/мл плазміногену людини, добутого із плазми у відповідності до способу афінності зв'язування, описаного у WO 2006/120423, 10 мМ цитрату, 150 мМ NaCl, pH 6,5 (серія: 2002.pc02 Pg140210.01) зберігають при -20 °C, -30 °C і -80 °C протягом періоду до 6 місяців. Дані стабільності показують, що плазміноген є стабільним у вказаних умовах заморожування. Плазміноген серії: 2002.pc02\_Pg140210.01 випробовували при -20 °C, -30 °C і -80 °C. Рівень агрегації досліджували за допомогою ЕК-ВЕРХ, рівень чистоти — за допомогою ДНС-ПААГ у відновлюючих і невідновлюючих умовах, рівень активності — за активністю BCS, і концентрацію білка — за оптичною густиною при довжині хвилі 280 нм (ABS<sub>280</sub>). Результати даних стабільності через 6 місяців показали, що всі аналізи індикації продемонстрували стабільність необхідних параметрів специфікації.

Приклад 2: Аналіз осмотичного тиску та аналізи загального відсоткового вмісту твердих речовин

[00167] Осмотичний тиск складів 1-6 і загальний відсоток твердих речовин після ліофілізації для складів 1-9 представлені у Табл. 2. Вміст складів 1-9 визначений у Табл. 1А.

Таблица 2

Склад	Плазміноген	Сахароза	Гліцин	NaCl	Загальний % твердого залишку	Осмотичний тиск
№	мг/мл	мМ	мМ	мМ	%	мОсм
1	5	73	67	68	3,9	265
2	5	73	34	34	3,4	198
3	5	117	67	68	5,4	309
4	5	117	67	34	5,2	275
5	5	73	67	34	3,7	231
6	5	73	67	75	3,9	272
7	5	27	40	75	3,9	в розробці
8	5	26,5	47	75	3,9	в розробці
9	5	26	54	75	3,9	в розробці

[00168] Осмотичний тиск знаходиться у фізіологічному діапазоні 240-400 мОсм. Одержаний осмотичний тиск випробовуваних композицій переважно знаходиться в межах або дуже близько до фізіологічного діапазону осмотичного тиску. Загальний % твердого осаду (г твердої композиції після ліофілізації на 100 мл рідкої композиції до ліофілізації) становить близько 4 % для всіх композицій і плацебо, що знаходиться в переважному діапазоні від 3,5 до 8 %.

Приклад 3: Молекулярна маса плазміногену

[00169] Молекулярна маса очищеного і введеного у фармацевтичну композицію за цим винаходом плазміногену становить 87000 (М.м.), що визначено шляхом обчислення первинної амінокислотної послідовності плазміногену і підтверджено за допомогою мас-спектрометрії.

Приклад 4: Дослідження зовнішнього вигляду залишку після ліофілізації

[00170] Склади 1-5 були ліофілізовані у відповідності до циклічного способу, детально описаного в Табл. 5. Вміст Складів 1-5 визначений у Табл. 1А.

Таблиця 5

Стадія	Температура зберігання, базове значення [°C]	Підвищення температури [хвилини]	Час просочування [хвилини]	Базове значення тиску [мТ]
Завантаження продукту	5	-	60	Атмосферний
Заморожування	-50	120	240	Атмосферний
Евакуація	-50	-	-	50
Первинна	-22	90	3860	50
Вторинна	35	120	270	50

5 [00171] Фіг. 2-11 являють собою зображення флаконів, що містять по 12,5 мл Складів 1-5, відповідно, або відповідного плацебо (без плазміногену). Таким чином, було досліджено вплив присутності плазміногену на стабільність композиції. Органолептична інспекція зовнішнього вигляду осаду, який був утворений за допомогою способу ліофілізації. Усі зневоднені брикети зберегли рівномірну щільність, без будь-якої зміни кольору. Оплавлення було присутнє менше ніж у 10 % досліджених флаконів для плацебо Складів 2, 3 і 5. Зсідання було присутнє менше ніж у 10 % досліджених флаконів для плацебо Складу 1. Менше 10 % випробовуваних флаконів для Складів 1-5 і плацебо Композиції 4 продемонстрували базальну ретракцію. В цілому, зовнішній вигляд брикету є задовільним.

15 [00172] Вміст композиції диктує температуру зсідання. Кожна чиста аморфна допоміжна речовина має характерну температуру Tg' і зсідання; температура зсідання для складу являє собою усереднену по масі температуру всіх композицій в аморфній фазі. Важливою є розробка складу з максимальною температурою зсідання, оскільки швидкість сушіння є прямо пропорційною температурі зразка під час ліофілізації.

20 [00173] Нарешті, температура зсідання буде знижуватися, якщо солі (NaCl) і допоміжні речовини не є максимально кристалізованими. Наприклад, Tg' гліцину становить -45 °C, і його внесок в аморфну фазу може зменшити температуру зсідання до неприйнятно низьких значень.

Приклад 5: Вплив амінокислоти на агрегацію плазміногену в розчині

25 [00174] Плазміноген сам по собі утворює у воді ряд агрегатів плазміногену, які є неприйнятними з точки зору FDA, тобто в кількості, більшій ніж 6000 частинок розміром 10 мкм або більше на 100 мл композиції (див. зразок F0406 у Табл. 6). Різноманітні склади на базі сахарози були розроблені для введення плазміногену у склади. Хоча більшість із цих складів успішно проходять поріг 6000 частинок розміром 10 мкм або більше на 100 мл, були розроблені склади з меншим вмістом частинок, та було вивчено вплив амінокислоти на стабілізацію плазміногену. Такі додаткові композиції містять 10 мг плазміногену і 35 мМ NaCl, причому були випробувані три буферні склади/pH, тобто 10 мМ натрій цитрату (pH 6,5), 10 мМ натрій фосфату (pH 7,2) і 10 мМ Трис-HCl (pH 8,0). Були співставлені присутність і відсутність амінокислоти, вибраної з аргініну, аланіну і гліцину в концентрації 0,5 %. Склади досліджували свіжовиготовленими, тобто перед ліофілізацією. В Табл. 6 наведений ПЧ для частинок розміром 10 мкм або більше і розміром 25 мкм або більше. Присутність амінокислоти показала, що

35 стабілізуючий вплив сприяє зниженню рівня агрегації.

Таблиця 6

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ (к-сть/мл)	
		10 мкм	25 мкм
F0406	Pg нерозфасований у воді 10 мг/мл	1,039,061	20,181
Rx1	Pg (5 мг/мл), 67 мМ гліцину	5,793	155
Rx5	Pg (5 мг/мл), 12 мМ цитратного буфера, 73 мМ сахарози, 68 мМ NaCl, 67 мМ гліцину, pH 6,5	5,495	243
Rx6	Pg (5 мг/мл), 12 мМ цитратного буфера, 117 мМ сахарози, 68 мМ NaCl, pH 6,5	4,068	94
Rx7	Pg (5 мг/мл), 12 мМ цитратного буфера, 117 мМ сахарози, 68 мМ NaCl, pH 6,5	3,349	96

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ (к-сть/мл)	
		10 мкм	25 мкм
F0080	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5	147	0
F0081	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 66 мМ (0,5 %) гліцину, pH 6,5	109	0
F0082	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, pH 6,5	122	1
F0083	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 26 мМ (0,5 %) аланіну, pH 6,5	91	1
F0102	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2	271	18
F0103	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 66 мМ (0,5 %) гліцину, pH 7,2	124	6
F0104	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, pH 7,2	128	3
F0105	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 26 мМ (0,5 %) аланіну, pH 7,2	180	2
F0106	Pg (10 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, pH 8,0	118	5
F0107	Pg (10 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 66 мМ (0,5 %) гліцину, pH 8,0	91	7
F0108	Pg (10 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, pH 8,0	75	3
F0109	Pg (10 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 26 мМ (0,5 %) аланіну, pH 8,0	46	1

Приклад 6: Вплив маніту в поєднанні з амінокислотою на агрегацію плазміногену

- 5 [00175] Досліджено вплив присутності наповнювача, 0,5 % маніту, на склади, що містять 10 мг плазміногену, 35 мМ NaCl і 10 мМ натрій цитрату (pH 6,5), 10 мМ натрій фосфату (pH 7,2) або 10 мМ Трис-HCl (pH 8,0) з амінокислотою (0,5 % аргінін гідрохлориду, аланіну або гліцину) та без неї, і результати наведені у Табл. 7. У цьому дослідженні випробовували свіжевиготовлені склади (перед ліофілізацією). Як правило, присутність маніту зменшувала кількість частинок. Як правило, комбінація маніту і амінокислоти сприяє зменшенню кількості частинок, і, зокрема, у
- 10 випадку комбінації аргініну з манітом.

Таблиця 7

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ (к-сть/мл)	
		10 мкм	25 мкм
F0114	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5	3610	61
F0115	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 27 мМ (0,5 %) маніту, pH 6,5	805	8
F0116	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 66 мМ (0,5 %) гліцину, 27 мМ (0,5 %) маніту, pH 6,5	962	13
F0117	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 27 мМ (0,5 %) маніту, pH 6,5	520	11
F0118	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 26 мМ (0,5 %) аланіну, 27 мМ (0,5 %) маніту, pH 6,5	990	1
F0119	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2	133	6
F0120	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 27 мМ (0,5 %) маніту, pH 7,2	107	3
F0121	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 66 мМ (0,5 %) гліцину, 27 мМ (0,5 %) маніту, pH 7,2	191	6
F0122	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 27 мМ (0,5 %) маніту, pH 7,2	95	2
F0123	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 26 мМ (0,5 %) аланіну, 27 мМ (0,5 %) маніту, pH 7,2	113	5
F0124	Pg (9 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, pH 8,0	86	2

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ (к-сть/мл)	
		10 мкм	25 мкм
F0125	Pg (9 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 27 мМ (0,5 %) маніту, рН 8,0	578	10
F0126	Pg (9 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 66 мМ (0,5 %) гліцину, 27 мМ (0,5 %) маніту, рН 8,0	163	5
F0127	Pg (9 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 27 мМ (0,5 %) маніту, рН 8,0	13	3
F0128	Pg (9 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 26 мМ (0,5 %) аланіну, 27 мМ (0,5 %) маніту, рН 8,0	119	8

Приклад 7: Вплив консерванту на агрегацію плазміногену

- 5 [00176] Досліджено вплив присутності консерванту, такого як 0,1 % фенолу, у складах, що містять 9 або 10 мг плазміногену. 35 мМ NaCl і 10 мМ натрій цитрату (рН 6,5), 10 мМ натрій фосфату (рН 7,2) або 10 мМ Трис-HCl (рН 8,0)) з 0,5 % аргінін гідрохлориду або комбінації 0,5 % маніту і 0,5 % аргінін гідрохлориду. В цьому дослідженні випробовували свіжевиготовлені склади (перед ліофілізацією). Кількість частинок (ПЧ) наведена у Табл. 8. Переважно, присутність фенолу не здійснює істотного впливу на кількість частинок.

10

Таблиця 8

Номер зразка	Опис зразка	ПЧ перед ліофілізацією (к-сть/мл)	
		10 мкм	25 мкм
F0114	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5	3610	61
F0143	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, рН 6,5	609	8
F0144	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 0,1 % фенолу, рН 6,5	3191	27
F0145	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 27 мМ (0,5 %) маніту, 0,1 % фенолу, рН 6,5	1538	9
F0155	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, рН 7,2	1097	7
F0156	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 0,1 % фенолу, рН 7,2	4370	6
F0157	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 27 мМ (0,5 %) маніту, 0,1 % фенолу, рН 7,2	747	9
F0158	Pg (10 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, рН 8,0	169	4
F0159	Pg (10 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 0,1 % фенолу, рН 8,0	168	3
F0160	Pg (10 мг/мл), 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 27 мМ (0,5 %) маніту, 0,1 % фенолу, рН 8,0	175	1

[00177] Порівнювали декілька консервантів. У Табл. 9 наведено порівняння 0,5 % КМЦ, 0,1 % фенолу і 0,5 % декстрану у варіаціях складів, що містять 10 мг плазміногену, 35 мМ NaCl і 10 мМ натрій цитрату (рН 6,5), 10 мМ натрій фосфату (рН 7,2) або 10 мМ Трис-HCl (рН 8,0) і 0,5 % аргініну гідрохлориду. В цьому дослідженні випробовували свіжевиготовлені склади (перед ліофілізацією). Наявність декстрану або фенолу не має значного впливу на агрегацію. Однак, КМЦ значно збільшувала агрегацію. Це не є дивним, оскільки відомо, що КМЦ підвищує в'язкість розчину і часто застосовується при виготовленні очних крапель.

15

Таблиця 9

Номер зразка	Опис зразка	ПЧ перед ліофілізацією (к-сть/мл)	
		10 мкм	25 мкм
F0119	Pg (9 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2	133	6
F0569	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, pH 7,2, профільтрований (F0199), F/T=1x	19	1
F0570	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 0,5 % KМЦ, pH 7,2	7783	1
F0571	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 0,1 % фенолу, pH 7,2	25	1
F0572	Pg (10 мг/мл), 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 0,5 % декстрану, pH 7,2	37	1

Приклад 8: Вплив амінокислоти і її концентрації на агрегацію плазміногену

- 5 [00178] Аргінін у кількості 0,5 % і 1 % випробовували в складах, що містять 10 мг/мл плазміногену, 35 мМ NaCl, 10 мМ натрій фосфату (NaPi), pH 7,2, після ліофілізації і розведення. Кількість частинок (ПЧ) наведена у Табл. 10, з якої можна побачити, що обидві концентрації аргініну ефективно підтримують низьке значення ПЧ.

Таблиця 10

Номер зразка	Опис зразка	Розведення dH <sub>2</sub> O (мл)	Об'єм (мл)	Перед ліофілізацією ПЧ (к-сть/мл)	
				10 мкм	25 мкм
F0211	Pg 10 мг/мл, 28 мМ (0,5 %) Arg, 35мМ NaCl, 10 мМ NaPi, pH 7,2	12.5	4	87	2
F0213	Pg 10 мг/мл, 57 мМ (1 %) Arg, 35 мМ NaCl, 10 мМ NaPi, pH 7,2	12.5	4	124	11

- 10 [00179] Аргінін, гліцин і аланін в кількості 1 % порівнювали у складах, що містять 10 мг/мл плазміногену, 35 мМ NaCl, 10 мМ натрій фосфату, pH 7,2 (NaPi), після ліофілізації і розведення. Кількість частинок (ПЧ) наведена у Табл. 11, з якої можна побачити, що аргінін краще, ніж аланін і гліцин, підтримує низьке значення ПЧ в умовах дослідження, хоча всі три вказані амінокислоти забезпечують прийнятні значення ПЧ, тобто, менш ніж 6000 частинок розміром 10 мкм або більше на 100 мл.
- 15

Таблиця 11

Номер зразка	Опис зразка	Розведення dH <sub>2</sub> O (мл)	Об'єм (мл)	Перед ліофілізацією ПЧ (к-сть/мл)	
				10 мкм	25 мкм
F0215	Pg 10 мг/мл, 57 мМ (1 %) Arg, 35 мМ NaCl, 10 мМ NaPi, pH 7,2	12,5	4	178	6
F0217	Pg 10 мг/мл, 57 мМ (1 %) Gly, 35мМ NaCl, 10 мМ NaPi, pH 7,2	12,5	4	881	5
F0219	Pg 10 мг/мл, 57 мМ (1 %) Ala, 35 мМ NaCl, 10 мМ NaPi, pH 7,2	12,5	4	5713	9

Приклад 9: Загальний відсоток твердої речовини і осмотичний тиск

- 20 [00180] Осмотичний тиск декількох складів із вмістом 10 мг/мл плазміногену та відсоток твердих речовин, застосовуваних для одержання вказаних препаратів, наведені у Табл. 12. Осмотичний тиск декількох складів із вмістом 20 мг/мл плазміногену та відсоток твердих речовин, застосовуваних для одержання вказаних складів, наведені у Табл. 13. Одержаний осмотичний тиск випробовуваних складів переважно знаходиться в межах або дуже близько до фізіологічного діапазону осмотичного тиску. Загальний відсоток твердих речовин обчислюється



на базі вмісту плазміногену, модифікатора осмотичного тиску і наповнювача у складі і є хорошим індикатором розміру одержаного осаду після ліофілізації.

Таблиця 12

Номер зразка	Опис зразка	Загальний % твердих речовин	мОсм/кг H <sub>2</sub> O
Контроль	Pg нерозфасований (10 мг/мл) у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5	1,0 %	104
F0468	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5мМ (0,5 %) аргініну	1,5	157
F0469	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	2,5	209
F0470	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	3,5	377
F0471	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	2,5	205
F0472	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	3,5	298
F0473	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну	2,0	204
F0474	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	3,0	263
F0475	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	4,0	325
F0476	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	3,0	252
F0477	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	4,0	294
Контроль	Pg нерозфасований (10 мг/мл) у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2	1,0 %	106
F0448	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	1,5	155
F0449	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	2,5	248
F0450	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	3,5	345
F0451	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	2,5	235
F0452	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	3,5	374
F0453	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну	2,0	283
F0454	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	3,0	304

Номер зразка	Опис зразка	Загальний % твердих речовин	мОсм/кг H <sub>2</sub> O
F0455	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	4,0	255
F0456	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	3,0	277
F0457	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	4,0	284
Контроль	Pg нерозфасований (10 мг/мл) у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0	1,00 %	86
F0488	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	1,5	144
F0489	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	2,5	176
F0490	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	3,5	324
F0491	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	2,5	200
F0492	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	3,5	199
F0493	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну	2,0	186
F0494	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	3,0	248
F0495	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	4,0	277
F0496	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	3,0	239
F0497	Pg (10 мг/мл) нерозфасований P2146 у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	4,0	290

Таблиця 13

Номер зразка	Опис зразка	Загальний % твердих речовин	мОсм/кг H <sub>2</sub> O
Контроль	Pg нерозфасований (20 мг/мл) у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5	2,0 %	112
F0478	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	2,5	170
F0479	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	3,5	245
F0480	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	4,5	307
F0481	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	3,5	255

Номер зразка	Опис зразка	Загальний % твердих речовин	мОсм/кг H <sub>2</sub> O
F0482	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	4,5	306
F0483	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну	3,0	243
F0484	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	4,0	264
F0485	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	5,0	341
F0486	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	4,0	337
F0487	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	5,0	370
Номер зразка	Опис зразка	Загальний % твердих речовин	мОсм/кг H <sub>2</sub> O
Контроль	Pg нерозфасований P24129 (20 мг/мл) у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2	2,0 %	113
F0458	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	2,5	200
F0459	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	3,5	265
F0460	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	4,5	293
F0461	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	3,5	279
F0462	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	4,5	310
F0463	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну	3,0	259
F0464	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	4,0	350
F0465	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	5,0	412
F0466	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	4,0	366
F0467	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, рН 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	5,0	419
Номер зразка	Опис зразка	Загальний % твердих речовин	мОсм/кг H <sub>2</sub> O
Контроль	Pg нерозфасований (20 мг/мл) у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, рН 8,0	2,0 %	89
F0498	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	2,5	201

Номер зразка	Опис зразка	Загальний % твердих речовин	мОсм/кг H <sub>2</sub> O
F0499	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	3,5	260
F0500	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	4,5	313
F0501	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	3,5	200
F0502	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	4,5	319
F0503	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну	3,0	246
F0504	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	4,0	314
F0505	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	5,0	310
F0506	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	4,0	282
F0507	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НСІ, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	5,0	279

Приклад 10: Підрахунок частинок (ПЧ)

[00181] Кількість частинок (ПЧ) для частинок розміром 10 мкм або більше для складів, описаних у Табл. 12, наведений у Табл. 14; а кількість частинок (ПЧ) для частинок розміром 10 мкм або більше для складів, описаних у Табл. 13, наведена у Табл. 15.

Таблиця 14

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)	Ліофілізація / розведення ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)
Контроль	Pg нерозфасований (10 мг/мл) у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5	379	389
F0468	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	35	224
F0469	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	37	136
F0470	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	33	152
F0471	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	21	159
F0472	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	94	258
F0473	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, рН 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну	45	342

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)	Ліофілізація / розведення ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)
F0474	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	61	218
F0475	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	129	138
F0476	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	112	401
F0477	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	155	159
Контроль	Pg нерозфасований (10 мг/мл) у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2	2400	3,819
F0448	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	135	198
F0449	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	171	104
F0450	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	267	254
F0451	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	122	133
F0452	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	214	176
F0453	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну	37	262
F0454	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	63	84
F0455	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	109	150
F0456	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	86	169
F0457	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	85	229
Контроль	Pg нерозфасований (10 мг/мл) у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0	3341	4,007
F0488	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	150	414
F0489	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	151	387
F0490	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	91	528

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)	Ліофілізація / розведення ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)
F0491	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	240	589
F0492	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	120	507
F0493	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну	103	229
F0494	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	90	507
F0495	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	67	256
F0496	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	131	375
F0497	Pg (10 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	62	456

Таблиця 15

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)	Ліофілізація / розведення ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)
Контроль	Pg нерозфасований (20 мг/мл) у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5	1100	793
F0478	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	171	358
F0479	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	118	572
F0480	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	132	515
F0481	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	96	427
F0482	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	101	585
F0483	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну	132	286
F0484	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	115	537
F0485	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	154	362

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)	Ліофілізація / розведення ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)
F0486	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	114	535
F0487	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	194	384
Контроль	Pg нерозфасований (20 мг/мл) у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2	3784	2,619
F0458	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	75	398
F0459	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	96	193
F0460	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	128	198
F0461	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	123	659
F0462	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	103	317
F0463	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну	93	270
F0464	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	99	386
F0465	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	139	172
F0466	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	67	681
F0467	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ розчині Na фосфату, 35 мМ NaCl, pH 7,2, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	93	261
Контроль	Pg нерозфасований (20 мг/мл) у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0	6315	7,123
F0498	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну	629	3,382
F0499	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	1329	1,596
F0500	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	1007	896
F0501	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-HCl, 35 мМ NaCl, pH 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	649	1,401

Номер зразка	Опис зразка	Перед ліофілізацією ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)	Ліофілізація / розведення ПЧ 10 мкм (к-сть/мл)
F0502	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	793	684
F0503	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну	459	703
F0504	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) маніту	505	608
F0505	Pg (20 мг/мл) Нерозфасований P2147 у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) маніту	155	382
F0506	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 54 мМ (1 %) сорбіту	213	898
F0507	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Трис-НCl, 35 мМ NaCl, рН 8,0, 57 мМ (1 %) аргініну, 108 мМ (2 %) сорбіту	101	431

[00182] На Фіг. 12, 13 і 14 наведені зображення флаконів, що містять склади F0498, F0449 і F0459, відповідно, як характерні приклади зовнішнього вигляду ліофілізованих складів, представлених у Табл. 12-15.

5 Приклад 10: Оборотна агрегація плазміногену

[00183] Агрегація плазміногену є оборотною, як продемонстровано в цьому дослідженні. Заморожені зразки плазміногену (Pg нерозфасований) 5 мг/мл піддають діалізу в dH<sub>2</sub>O та інтенсивно осаджують, розморожують, фільтрують крізь шприц-фільтр з розміром отворів 1,2 мкм та використовують як початковий матеріал для контролю (контроль Pg). Аліквоти контролю Pg по 2 мл вміщують у скляні флакони, попередньо додаючи запасний буферний розчин 1 М натрій цитрату, рН 6,5 (Зразок 1), 0,5 М Na фосфату, рН 7,2 (Зразок 2) або 1 М Трис-НCl, рН 8,0 (Зразок 3) з одержанням кінцевої концентрації 10 мМ буфера при кожному значенні рН, відповідно. Зразки 1, 2 і 3 проілюстровані на Фіг. 15, де контролем без Pg є Зразок 0. Зразки 1, 2 і 3 були додатково навантажені запасними розчинами 5 М NaCl і 0,8 М аргініну до одержання кінцевої концентрації 35 мМ NaCl і 28,5 мМ (0,5 %) Arg в кожному зразку і проілюстровані на Фіг. 16. Каламутність стандартів 0,02, 20, 100, 800 НОК, відповідно, були використані на Фіг. 15 і 16 як еталон. На Фіг. 15 можна побачити, що при корекції рН розчиняється значна кількість агрегатів. На Фіг. 16 Зразки 1, 2 і 3 стають прозорими при додаванні аргініну і NaCl, тобто при візуальній інспекції агрегати відсутні.

[00184] Каламутність зразків 0, 1, 2 і 3 на Фіг. 16 вимірювали шляхом зчитування оптичної густини (OD) на довжині хвилі 550 нм, застосовуючи стандартне калібрування з референтними стандартами каламутності, проілюстрованими на Фіг. 15 і 16. Каламутність наведена у нефелометричних одиницях каламутності (НОК) у Табл. 16. Аліквоти по 1 мл кожного зразка вимірювали до (T=0) та після навантаження зразків 1, 2 і 3 буфером, NaCl і аргініном в точках часу 0,1 години, 17 годин, 21 година і 24 години. Дезагрегація відбувається швидко, її можна помітити тільки через 0,1 години після навантаження, причому вона зберігається протягом 24 годин.

Таблиця 16

Номер зразка	Опис зразка	Каламутність (НОК за даними OD 550)				
		T=0	T=0,1 год.	T=17 год.	T=21 год.	T=24 год.
F0138	Pg нерозфасований (5 мг/мл), конц. 2х dH <sub>2</sub> O обмін	1008	1008	1209	858	372
F0139	Pg нерозфасований (5 мг/мл) у 10 мМ натрій цитрату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, рН 6,5	1008	30	37	39	60



Номер зразка	Опис зразка	Каламутність (НОК за даними OD 550)				
		T=0	T=0,1 год.	T=17 год.	T=21 год.	T=24 год.
F0140	Pg нерозфасований (5 мг/мл) у 10 мМ натрій фосфату, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, pH 7,2	1008	49	60	68	100
F0141	Pg нерозфасований (5 мг/мл) у 10 мМ Трис, 35 мМ NaCl, 28,5 мМ (0,5 %) аргініну, pH 8,0	1008	49	56	66	92

Приклад 11: Вплив амінокислоти на каламутність композиції в часі

5 [00185] Каламутність виміряна у композиціях, що містять 10 мг плазміногену і 35 мМ NaCl з 0,5 % гліцину, аргініну, аланіну та без амінокислоти, при pH 6,5 у натрій-цитратному буфері (Фіг. 17), у натрій-фосфатному буфері pH 7,2 (Фіг. 18) та у Трис-буфері при pH 8,0 (Фіг. 19).

[00186] Досліджувані композиції на Фіг. 17, 18 і 19 були відтворені у присутності 0,5 % маніту як наповнювача і представлені на Фіг. 20, 21 і 22, відповідно.

10 [00187] У всіх випадках присутність амінокислоти забезпечує стабілізуючий ефект і підтримує або знижує каламутність. Якщо порівнювати види амінокислот, аргінін показує найкращий стабілізуючий ефект і нижчу каламутність при всіх досліджених значеннях pH та в присутності і за відсутності наповнювача, тобто 0,5 % маніту.

Приклад 12: Композиція з підвищеною концентрацією плазміногену

15 [00188] Досліджені композиції з високою концентрацією плазміногену. Значення ПЧ для частинок розміром 10 мкм або більше та 25 мкм або більше були наведені у Табл. 17 для композицій із вмістом 20 мг/мл плазміногену у 10 мМ або 100 мМ розчині натрію цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, з 1 % аргініну і без нього, і композицій із вмістом 37 і 56 мг/мл плазміногену у 100 мМ розчині натрію цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, що містить 1 % аргініну.

20 В Табл. 17 проілюстровано, що склади за цим винаходом забезпечують одержання композицій, які містять підвищені концентрації плазміногену (37 і 56 мг/мл) та не містять неприйнятної рівня частинок.

Таблиця 17

Номер зразка	Опис зразка	ПЧ/флакон	
		10 мкм	25 мкм
P24138	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5	983	8
F0483	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 35 мМ NaCl, pH 6,5, 57мМ (1 %) аргініну	525	0
F0614	Pg (20 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 100 мМ NaCl, pH 6,5, 57мМ (1 %) аргініну	667	33
F0615	Pg (37 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 100 мМ NaCl, pH 6,5, 57мМ (1 %) аргініну	325	33
F0616	Pg (56 мг/мл) нерозфасований у 10 мМ Na цитрату, 100 мМ NaCl, pH 6,5, 57мМ (1 %) аргініну	292	17

Приклад 13: Активність плазміногену

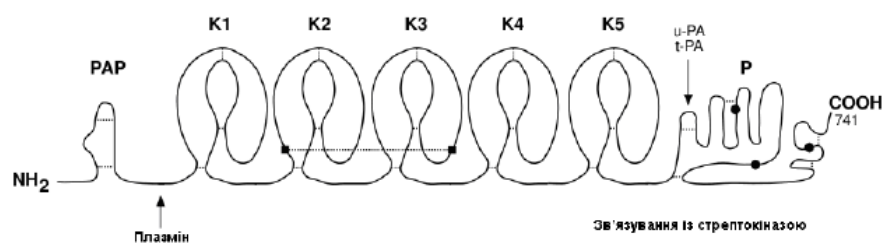
25 [00189] Активність плазміногену у кожному складі, наведеному в цьому документі для прикладу, випробовували і порівнювали з активністю плазміногену в початковому складі препарату або нерозфасованому складі (Pg). Необхідно відзначити, що жоден із вказаних складів не впливає на активність

### 30 ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

1. Рідка фармацевтична композиція, що містить:

- Glu-плазміноген у концентрації від близько 1 мг/мл до близько 60 мг/мл;
  - модифікатор тоничності, присутній у концентрації, скорегованій таким чином, щоб досягти
- 35 осмольності композиції від близько 180 мОсм до близько 350 мОсм; причому модифікатор тоничності являє собою натрію хлорид та присутній у концентрації від близько 30 мМ до близько 100 мМ; і

- стабілізатор, що являє собою аргінін або гліцин, у концентрації від близько 10 мМ до близько 100 мМ;
- і при цьому значення рН композиції становить від близько 5,0 до близько 8,0.
- 2. Фармацевтична композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що рН становить від близько 6,0
- 5 до близько 8,0 або від близько 6,5 до близько 7,5.
- 3. Фармацевтична композиція за п. 1 або п. 2, яка **відрізняється** тим, що концентрація Glu-плазміногену становить від близько 5 мг/мл до близько 60 мг/мл.
- 4. Фармацевтична композиція за п. 3, яка **відрізняється** тим, що концентрація Glu-плазміногену становить близько 40, 30, 20, 10 або 5 мг/мл.
- 10 5. Фармацевтична композиція за п. 1 або п. 2, яка **відрізняється** тим, що концентрація Glu-плазміногену становить від близько 2 мг/мл до близько 20 мг/мл.
- 6. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-5, яка **відрізняється** тим, що Glu-плазміноген складає щонайменше 80 % від загального вмісту білка в композиції.
- 7. Фармацевтична композиція за п. 6, яка **відрізняється** тим, що Glu-плазміноген складає більш
- 15 ніж 95 % від загального вмісту білка у композиції.
- 8. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-7, яка **відрізняється** тим, що стабілізатор є аргініном.
- 9. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-7, яка **відрізняється** тим, що стабілізатор є гліцином.
- 20 10. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-9, яка **відрізняється** тим, що стабілізатор присутній у концентрації від близько 25 мМ до близько 75 мМ.
- 11. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-10, яка **відрізняється** тим, що модифікатор тоничності присутній в концентрації від близько 25 мМ до близько 50 мМ.
- 12. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-11, яка **відрізняється** тим, що додатково
- 25 містить невідновлюючий цукор, що являє собою сахарозу.
- 13. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-12, яка **відрізняється** тим, що композиція є істотною мірою вільною від апротиніну.
- 14. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-13, яка **відрізняється** тим, що вказаний Glu-плазміноген являє собою Glu-плазміноген людини.
- 30 15. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-14, яка **відрізняється** тим, що кількість частинок розміром 10 мкм або більше в композиції є меншою за 6000 частинок на ємність, де номінальний вміст ємності становить 100 мл або менше.
- 16. Фармацевтична композиція за п. 15, яка **відрізняється** тим, що кількість частинок є меншою за 2000 частинок на ємність.
- 35 17. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-16, яка придатна для внутрішньовенного, підшкірного, місцевого, внутрішньошкірного, офтальмологічного та/або внутрішньом'язового введення.
- 18. Фармацевтична композиція за будь-яким із пп. 1-17, що являє собою придатну для ліофілізації рідку композицію, придатну для заморожування рідку композицію або розведену
- 40 композицію.
- 19. Фармацевтична композиція за п. 1, причому значення рН вказаної композиції становить від 6,0 до 8,0, і вказана композиція містить:
  - від 2 до 20 мг/мл Glu-плазміногену;
  - від 30 до 100 мМ натрію хлориду;
  - 45 - від 10 до 100 мМ гліцину;
  - сахарозу; і
  - від 2 до 30 мМ цитратного буферу.
- 20. Фармацевтична композиція за п. 19, причому значення рН вказаної композиції становить від 6,0 до 7,0, і вказана композиція містить:
  - 50 - від 2 до 20 мг/мл Glu-плазміногену;
  - від 35 до 75 мМ натрію хлориду;
  - від 25 до 75 мМ гліцину;
  - сахарозу; і
  - 10 мМ цитратного буферу.
- 55 21. Застосування фармацевтичної композиції за будь-яким із пп. 1-20 як лікарського засобу.



ФІГ. 1А

Прекурсор плазміногену людини (UniProt обліковий номер № P00747)

1 mehkevvlll llflksgqge plddyvntqg aslfsvtkkq lgagsieeca akceedeef  
 61 crafqyhske qqcvimaenr kssiiirmrd vvlfekkvyl secktgngkn yrgtmsktkn  
 121 gitcqkwsst sphrprfspa thpsegleen ycrnpdndpq gpwcyttde krydycdile  
 181 ceecmhcsge enydgkiskt msglecawd sqsphahgyi pskfpnkulk knycrnpdre  
 241 lrpwcfttdp nkrwelcdip rcttpppsg ptyqclkgtg enyrgnavt vsghtcqlhws  
 301 aqtphthrt penfpckuld enycrnpdgk rapwchttns qvrweyckip scdsspvrte  
 361 qlaptappel tpvvqdcyhg dgqsyrgtss tttgkkcqs wssmtphrhq ktpenypnag  
 421 ltmnycrnpd adkgpwcftt dpsvrweyca lkkcsgeas vvapppvvl pdvetpseed  
 481 cmfgngkgyr gkrattvtgt pcqdwaqep hrhsiftpet npraglekny crnpdgdvvg  
 541 pwcytnprk lydycdvpqc aapsfdcgpq qvepkcpgv vvggcvahph swpwqvslrt  
 601 rfgmhfcggt lispewvta ahcleksprp ssykvilgah qevnlephvq eievsrlfe  
 661 ptrkdiallk lsspavitdk vipaclpspn yvvadrtec fvtgwgetqgt fgagllkeaq  
 721 lpvienkvcn ryeflgrvq stelcaghla ggtscqgds ggplvcfekd kyilqgvtsw  
 781 glgcarpnkp gvyrvsrfv twiegvmrnn

ФІГ. 1В



ФП. 2



ФП. 3



ФП. 4



ФП. 5



ФП. 6



ФП. 7



ФП. 8



ФП. 9



ФП. 10



ФП. 11



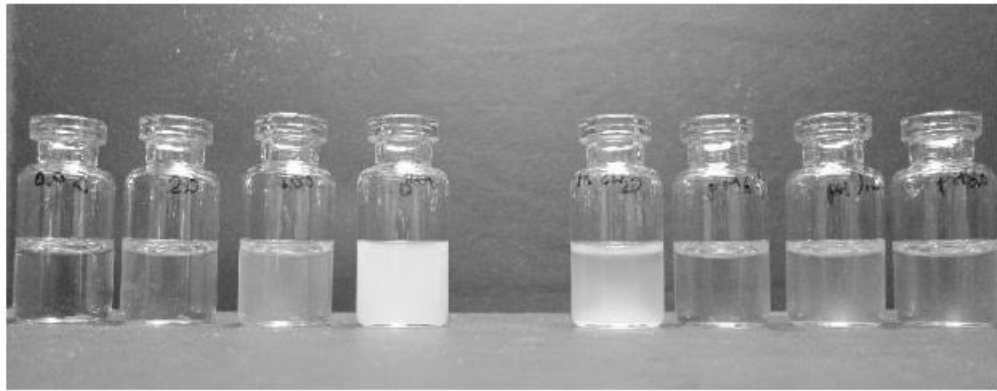
ФП. 12



ФП. 13



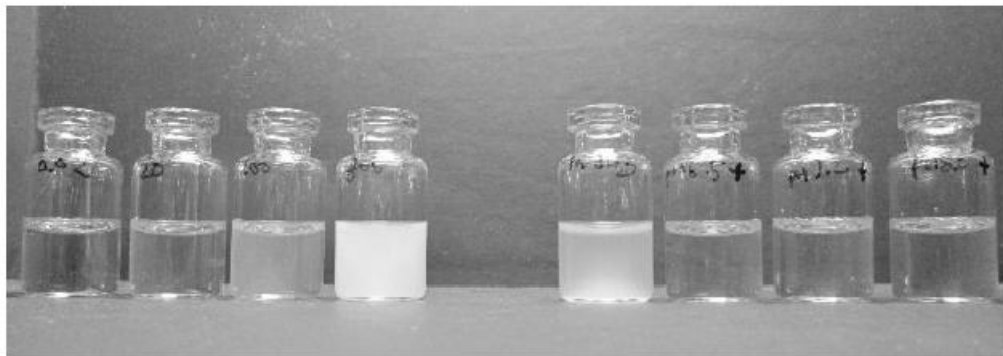
ФП. 14



Стандарты

Зразок 0 1 2 3

ФГ. 15

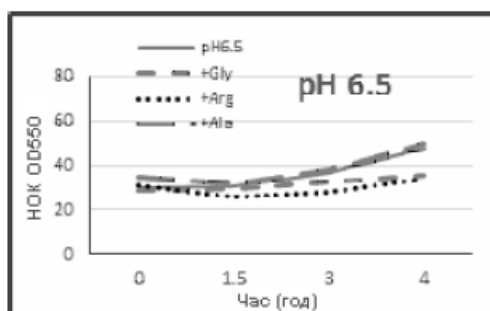


Стандарты

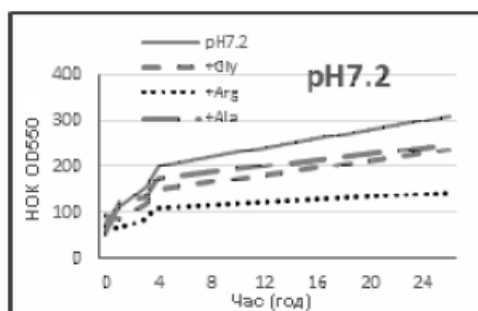
Зразок 0 1 2 3

ФГ. 16

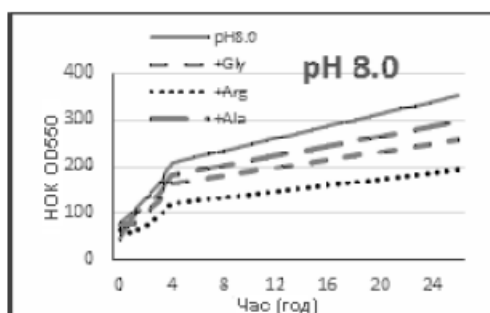




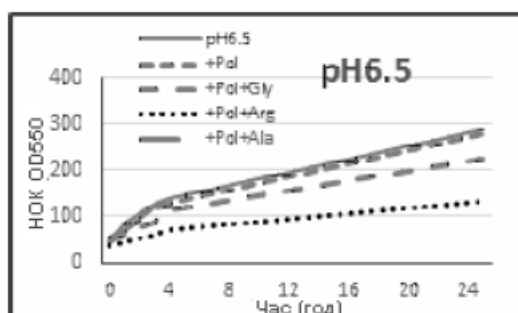
ФП.17



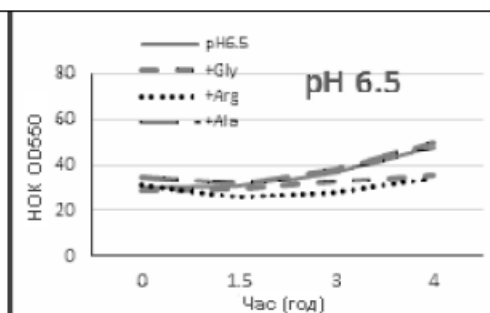
ФП.18



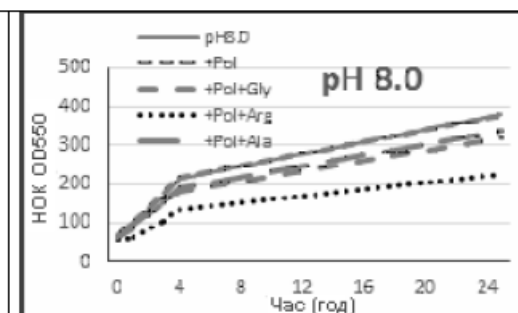
ФП.19



ФП.20



ФП.21



ФП.22