

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390525** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.11.09

(22) Дата подачи заявки
2021.10.19

(51) Int. Cl. *A61K 38/30* (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(54) **КОМПОЗИЦИИ, ПОДХОДЯЩИЕ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ**

(31) **63/093,696**

(32) **2020.10.19**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/055598**

(87) **WO 2022/086953 2022.04.28**

(71) Заявитель:
ОУК ХИЛЛ БИО ЛИМИТЕД (GB)

(72) Изобретатель:

**Саламат-Миллер Назила, Тэйлор
Кэтрин, Хэ Бин, Бхаттачарья
Индранил, Хан Линда, Амсен
Бенита, Кранц Джеймс (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В данном изобретении предложены стабильные, чистые и сильнодействующие композиции, оптимизированные для введения новорожденным и/или недоношенным младенцам, и их применение в способах лечения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) и/или хронического заболевания легких недоношенных (ХЗЛ), включающих введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, содержащей инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1) и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), и поверхностно-активное вещество полисорбат 20 в высоких эффективных дозах в малых объемах для младенцев, что приводит к высокому содержанию IGF-1 в сыворотке крови и лечению ВЖК, БЛД и/или ХЗЛ. В некоторых аспектах в данном документе предложены способы изготовления композиций, включающие использование одноразовых пакетов, при этом композиции обладают улучшенной стабильностью, сниженным окислением и повышенной активностью. В некоторых аспектах предложенные способы, которые приводят к снижению частоты возникновения симптомов и признаков внутрижелудочкового кровоизлияния, бронхолегочной дисплазии, гипертрофии правого желудочка (ГПЖ), легочной гипертензии (ЛГ), некротизирующего энтероколита или хронического заболевания легких недоношенных.

A1

202390525

202390525

A1

КОМПОЗИЦИИ, ПОДХОДЯЩИЕ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[01] Данная заявка заявляет приоритет и преимущество согласно предварительной заявки США № 63/093,696, поданной 19 октября 2020 г., содержание которой включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[02] Существует большая потребность в композициях, оптимизированных для терапевтического применения у новорожденных и/или недоношенных младенцев, например, для лечения или снижения частоты таких состояний, как внутрижелудочковое кровоизлияние, бронхолегочная дисплазия и хроническое заболевание легких недоношенных младенцев.

[03] Внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК) представляет собой опасное для жизни состояние у недоношенных младенцев, характеризующееся кровотечением в желудочки головного мозга и вокруг них, приводящее к острым и хроническим повреждениям головного мозга и возможным неблагоприятным последствиям для развития нервной системы в долгосрочной перспективе.

[04] ВЖК является серьезным осложнением при преждевременных родах. ВЖК может быть связано с серьезными осложнениями, включая перивентрикулярный геморрагический инфаркт, постгеморрагическую дилатацию желудочков, перивентрикулярную лейкомаляцию и кровоизлияние в мозжечок, что приводит к высокой смертности и тяжелому течению заболевания. Другие осложнения включают постгеморрагическую гидроцефалию, церебральный паралич и умственную отсталость, а также длительные нарушения развития нервной системы.

[05] ВЖК может привести к смертности и тяжелому течению заболевания у недоношенных младенцев. Текущее стандартное лечение основано на раннем лечении и стабилизации церебральной гемодинамики и респираторной поддержке. Предсказание дальнейшего течения болезни связано с тяжестью кровотечения, повреждением паренхимы головного мозга, наличием судорог и тяжестью перивентрикулярного геморрагического инфаркта.

[06] Хроническое заболевание легких (ХЗЛ) недоношенных младенцев является еще одним серьезным и опасным для жизни состоянием у недоношенных детей.

Экстремально недоношенные младенцы особенно подвержены очень высокому риску развития ХЗЛ. Бронхолегочная дисплазия (БЛД) в 36 недель постменструального возраста обычно является самым ранним проявлением ХЗЛ, но у младенцев без БЛД также может развиваться ХЗЛ. Термин «хроническое заболевание легких у недоношенных младенцев» охватывает широкий спектр симптомов и характеристик, которые часто совпадают с проявлениями БЛД.

[07] Текущие стандартные варианты лечения и предупреждения БЛД и ХЗЛ включают респираторную поддержку, например, дополнительный кислород, неинвазивный поток через нос, постоянное положительное давление в дыхательных путях и механическую вентиляцию легких с эндотрахеальной интубацией, введение легочного сурфактанта, бронхолитики, помогающие открыть дыхательные пути, кофеин, чтобы помочь уменьшить паузы дыхания (апноэ) и улучшить функцию дыхательных мышц, и стероиды, чтобы помочь уменьшить воспаление, диуретики, чтобы помочь уменьшить избыток жидкости в легких, сосудорасширяющие средства, чтобы помочь снизить кровяное давление в легких и антибиотики для борьбы с инфекциями. Долгосрочная перспектива легочных исходов у экстремально недоношенных младенцев обычно начинается с антенатальных факторов риска, за которыми следует респираторный дистресс-синдром (РДС) в первые часы или дни жизни, требующий респираторной поддержки, ведущий к БЛД, обычно диагностируемой в 36 недель послеменструального возраста и, наконец, хроническое заболевание легких в младенчестве, детстве, подростковом возрасте и даже зрелом возрасте. ХЗЛ может привести к более частым повторным госпитализациям и посещениям скорой помощи по поводу респираторных заболеваний, потребности в респираторных препаратах или респираторной поддержке на дому, и многие дети страдают от формы реактивного заболевания дыхательных путей (астмы), которое продолжает ограничивать качество их жизни.

[08] Медикаментозное лечение недоношенных новорожденных, масса тела которых иногда составляет от 1 до 2 фунтов (450–900 г), представляет множество проблем, не в последнюю очередь потому, что дозы, которые можно вводить, очень малы. Доставка точных доз белков путем инфузии для этой группы пациентов и обеспечение совместимости фармацевтических композиций с компонентами клинического введения (например, инфузионным оборудованием) имеет решающее значение.

[09] Более того, этот класс пациентов чрезвычайно слаб и уязвим. Токсикологические риски, связанные с воздействием таких веществ, как эксципиенты, в

ходе фармацевтического лечения, должны быть тщательно оценены. Новорожденные могут проявлять различную чувствительность к химическим веществам, таким как эксципиенты, используемые в составах, по сравнению со взрослыми и детьми старшего возраста. Это создает огромную проблему для тех, кто стремится лечить эту группу пациентов.

[010] Кроме того, каждый терапевтический белок имеет разные свойства, например баланс гидрофобных и заряженных фрагментов на поверхности свернутой молекулы. Таким образом, для каждого терапевтического белка требуется состав, оптимизированный специально для его свойств, например, такой, чтобы состав был совместим с фармакологической активностью и стабильностью терапевтического белка, а также его пригодностью для введения. Эта проблема становится еще более серьезной, когда терапевтическое средство представляет собой белковый комплекс.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[011] Данное изобретение относится к композициям, оптимизированным для введения новорожденным и/или недоношенным младенцам, и к способам лечения, в которых они применяются, например, к применению композиции в лечении (в частности, в указанной группе пациентов), например, при лечении внутрижелудочкового кровоизлияния, бронхолегочной дисплазии и хронического заболевания легких у недоношенных младенцев. В дополнительном независимом аспекте предложены способы изготовления состава композиции, например, с использованием одноразового пакета, в частности, сводящие к минимуму контакт состава с нержавеющей сталью, чтобы обеспечить надежный способ получения составов, имеющих пониженное окисление.

[012] Композиции, предложенные в данном документе, подходят для применения у новорожденных и обладают одним или более (например, всеми) из следующих преимуществ: минимальное количество эксципиентов (для сведения к минимуму нежелательных явлений и максимального уменьшения непереносимости/токсичности в данной группе пациентов); минимальная потеря белкового комплекса при парентеральном введении композиции (например, с использованием трубок, резиновых и/или пластиковых материалов и/или фильтров, например, при внутривенной (в/в) инфузии); являются стабильными (например, физически и/или химически стабильны, что обеспечивает срок годности не менее 3-6 месяцев); и обладают способностью доставлять активное терапевтическое средство при соответствующих уровнях концентрации в группе новорожденных пациентов.

[013] Таким образом, в одном аспекте предложена фармацевтическая композиция низкой концентрации, подходящая для введения терапевтического белкового комплекса новорожденному, содержащая: инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста, в комплексе (например, в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах); и неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбатное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 или полисорбат 80, в частности полисорбат 20) в диапазоне от 0,0025% до 0,0075%.

[014] В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическая композиция является изотонической.

[015] В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическая композиция является жидкой.

[016] В одном варианте реализации данного изобретения концентрация терапевтического комплекса находится в диапазоне от 10 до 100 мг/л (например, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мг/л), например 45-55 мг/л, в частности 50 мг/л.

[017] В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическая композиция является водной.

[018] В одном варианте реализации данного изобретения состав предложен в виде единицы, содержащей 50 мкг/мл раствора rhIGF-1/rhIGFBP-3 в 50 мМ ацетата натрия и 105 мМ хлорида натрия с 0,005% (об./об.) полисорбата 20, при уровне pH 5,5, при температуре хранения от 2°C до 8°C (от 36°F до 46°F).

[019] В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическая композиция согласно данному изобретения предложена в виде конечного продукта в инфузионном пакете или стеклянном флаконе, содержащем приблизительно 6,5 мл экстрагируемого объема.

[020] В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтический состав можно вводить парентерально без потери терапевтического белкового комплекса (например, без потери активности терапевтического белкового комплекса).

[021] В одном варианте реализации данного изобретения композиция содержит минимальное число и/или количество эксципиентов, например 1, 2, 3, 4 или 5 эксципиентов.

[022] В одном варианте реализации данного изобретения активность или другое свойство композиции измеряют с помощью анализа или способа, описанных в данном документе, например, в примерах.

[023] В одном варианте реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 или полисорбат 80, в частности полисорбат 20 %, находится в диапазоне от 0,0025% до 0,0075% об./об.

[024] В одном варианте реализации данного изобретения уровень pH композиции находится в диапазоне от pH 5 до pH 7 или от pH 5,3 до pH 5,8, например pH 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, в частности pH 5,5.

[025] В одном варианте реализации данного изобретения состав доставляет новорожденному по меньшей мере 80% дозы терапевтического белкового комплекса в активной форме, например 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%.

[026] Таким образом, в предпочтительном варианте реализации данного изобретения предложена фармацевтическая композиция с низкой концентрацией, подходящая для введения терапевтического белкового комплекса новорожденному (в частности, в активной форме), содержащая от 10 до 1000 микрограммов на мл (например, от 10 до 100 микрограммов/мл, то есть, например, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мкг/мл, например, 45-55 мкг/мл, в частности 50 мкг/мл) комбинации инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1) и белка-3, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3) (например, в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимоллярных количествах; и неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбатное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 или полисорбат 80, в частности полисорбат 20) в диапазоне от 0,0025% до 0,0075% (например, 0,005%); буфер (например, 50 мМ ацетата натрия), соль (например, 105 мМ хлорида натрия), причем уровень pH состава находится в диапазоне pH от 5,3 до 5,8 (например, pH 5,5).

[027] В дополнительных вариантах реализации данного изобретения предложено эффективное лечение заболеваний и осложнений у недоношенных младенцев, включая, но не ограничиваясь, лечение внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) и хронического заболевания легких (ХЗЛ) недоношенных младенцев. В данном изобретении частично предложены способы и фармацевтические композиции, содержащие комбинацию инсулиноподобного фактора

роста-1 (IGF-1) и белка 3, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), и дополнительно содержащие поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 20), которые вместе, например, при введении внутривенно сразу после рождения для замены IGF-1, потерянного из материнского источника, может облегчить или уменьшить внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК), бронхолегочную дисплазию и/или хроническое заболевание легких недоношенных младенцев. Данное изобретение частично основано на неожиданном открытии того, что добавление поверхностно-активного вещества (например, полисорбата 20) в низких концентрациях (например, 0,0025%-0,0075% об./об.) к фармацевтической композиции IGF-1/IGFBP-3 приводит к улучшению эффективности и повышению стабильности. Не желая быть связанными соответствием какой-либо конкретной теории, полагаем, что например, поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 20) в таких низких концентрациях сводит к минимуму потери продукта, связанные с адсорбцией, устраняя необходимость заполнения и промывки наборов для внутривенных инфузий перед введением лекарственного препарата, значительно снижая потерю лекарственного препарата и улучшая эффективность. Данное изобретение также частично основано на уменьшении накопления окисленных форм и улучшенной стабильности, достигаемой за счет использования контактной поверхности, отличной от нержавеющей стали, такой как одноразовый пакет во время смешивания комплекса с раствором состава. Улучшенная стабильность достигается при хранении при около 25°C (например, от около 23°C до около 27°C) или при хранении при около 40°C (например, от около 38°C до около 42°C), например, при хранении в течение около 3 – 6 месяцев. В дополнение к преимуществам сниженной агрегации и повышенной стабильности и чистоты, состав, содержащий поверхностно-активное вещество, позволяет точно дозировать и вводить небольшие объемы доз экстремально недоношенным новорожденным (см. [0008]) с риском развития осложнений у недоношенных младенцев, например, внутрижелудочкового кровоизлияния, бронхолегочной дисплазии и/или хронического заболевания легких недоношенных младенцев. Используемые в контексте данного документа термины «хроническое заболевание легких» (ХЗЛ) и «хроническое заболевание легких недоношенных младенцев» используются взаимозаменяемо. Состав по данному изобретению является стабильным и демонстрирует пониженную агрегацию в диапазоне концентраций от 10 микрограмм/мл до 1000 микрограмм/мл (например, 20 микрограмм/мл, 30, 40, 50 микрограмм/мл). В противоположность этому, в отсутствие полисорбата и при воздействии стандартных стрессов накапливаются высокомолекулярные соединения, которые способствуют снижению стабильности,

повышению агрегации и потенциальному повышению иммуногенности. Таким образом, в данном изобретении, среди прочего, предложен улучшенный состав IGF-1/IGFBP-3 с преимуществами повышенной активности и улучшенной стабильности при хранении, в частности, с минимальной токсичностью, предоставляя безопасный и эффективный продукт для введения новорожденным при лечении болезней недоношенных младенцев.

[028] В одном аспекте стабильные составы rIGF-1/rIGFBP-3, содержащие поверхностно-активное вещество, могут быть приготовлены и доставлены в дозе, такой как около 400 микрограмм/кг/24 часа. В одном аспекте стабильные составы rIGF-1/rIGFBP-3, содержащие поверхностно-активное вещество, могут быть приготовлены и доставлены в дозе, такой как около 1000 микрограмм /кг/24 часа. Добавление поверхностно-активного вещества также повышает стабильность продукта за счет снижения потерь белка из-за адсорбции. В одном аспекте способы, предложенные в данном документе, приводят к высокоэффективному воздействию IGF-1 в сыворотке путем введения фармацевтической композиции rIGF-1/rIGFBP-3 в дозе около 250 микрограмм/кг/24 часа или ниже при наличии поверхностно-активного вещества.

[029] Данная заявка частично основана на преимуществах, возникающих при включении полисорбатных поверхностно-активных веществ, например, полисорбата 20 или полисорбата 80, в фармацевтическую композицию rIGF-1/rIGFBP-3. В данной заявке описан сильнодействующий, стабильный состав, приводящий к высоким уровням экспозиции rIGF-1 в сыворотке крови при введении rIGF-1/rIGFBP-3 в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл для лечения заболеваний и осложнений у недоношенных младенцев, например, внутрижелудочкового кровоизлияния, бронхолегочной дисплазии и хронического заболевания легких недоношенных.

[030] В одном из аспектов данного изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая белковый комплекс, содержащий рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста-1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество в концентрации от около 0,0025% об./об. до около 0,0075% об./об., причем rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплексы в эквимольных количествах, и при этом rIGF-1/IGFBP-3 находится в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл.

[031] В некоторых аспектах в настоящем документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая белковый комплекс, содержащий рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество в концентрации от около 0,0025% до около 0,0075%, причем rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплекс в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20 или полисорбат 80.

[032] В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20. Полисорбат 20 также известен как полиоксиэтилен сорбитан монолаурат.

[033] В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80. Полисорбат 80 также известен как полиоксиэтилен сорбитан моноолеат.

[034] В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество находится в концентрации от около 0,001% до около 2,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество находится в концентрации от около 0,2% до около 0,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество находится в концентрации около 0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,05%, 0,10%, 0,15%, 0,2%, 0,5%, 0,7%, 1,0%, 1,2%, 1,5%, 1,8%, 2,0%, 2,2% или 2,4% об./об.

[035] В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество находится в концентрации от около 0,0025% до около 0,0075% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество находится в концентрации около 0,0025%, около 0,005% или около 0,0075% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество находится в концентрации около 0,005% об./об.

[036] В некоторых вариантах реализации данного изобретения около менее 20% IGF-1 в композиции находится в виде окисленных форм после хранения в течение около 6 месяцев при 25°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения около менее

окисленных форм после хранения в течение около 1 месяца при 40°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения около менее 3% IGF-1 находится в виде окисленных форм после хранения в течение около 1 месяца при 40°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения около менее 2% IGF-1 находится в виде окисленных форм после хранения в течение около 1 месяца при 40°C.

[038] В некоторых вариантах реализации данного изобретения процент окисленных форм в композиции определяют с помощью обращенно-фазовой сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (RP-UPLC). В некоторых вариантах реализации данного изобретения IGFBP-3 содержит менее 5% трисульфидных вариантов.

[039] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция дополнительно содержит буфер, содержащий ацетат натрия, уксусную кислоту и/или хлорид натрия. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция дополнительно содержит буфер, содержащий ацетат натрия или уксусную кислоту. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция дополнительно содержит буфер, содержащий хлорид натрия.

[040] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет от около 10 до около 100 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет около 10 мМ, 15 мМ, 20 мМ, 25 мМ, 30 мМ, 35 мМ, 40 мМ, 45 мМ, 50 мМ, 55 мМ, 60 мМ, 65 мМ, 70 мМ, 75 мМ, 80 мМ, 85 мМ, 90 мМ, 95 мМ, 100 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет около 50 мМ.

[041] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 20 мМ и 200 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 20 мМ, 25 мМ, 30 мМ, 35 мМ, 40 мМ, 45 мМ, 50 мМ, 55 мМ, 60 мМ, 65 мМ, 70 мМ, 75 мМ, 80 мМ, 85 мМ, 90 мМ, около 95 мМ, около 100 мМ, около 105 мМ, около 110 мМ, около 115 мМ, около 120 мМ, около 125 мМ, около 130 мМ, около 135 мМ, около 140 мМ, около 145 мМ, около 150 мМ, около 155 мМ, около 160 мМ, около 165 мМ, около 170 мМ, около 175 мМ, около 180 мМ, около 185 мМ, около 190 мМ, около 195 мМ или около 200 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 105 мМ.

[042] В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH композиции составляет от около 5,0 до около 7,0. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH составляет около 5,0, около 5,2, около 5,4, около 5,6, около 5,8, около 6,0, около 6,2, около 6,4, около 6,6, около 6,8 или около 7,0. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH композиции составляет около 5,1, около 5,3, около 5,5, около 5,7 или около 5,9, около 6,1, около 6,3, около 6,5, около 6,7 или около 6,9. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH композиции составляет от около 5,3 до около 5,8. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH композиции составляет около 5,5.

[043] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет от около 10 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет от около 10 микрограмм/мл до около 100 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет от около 20 микрограмм/мл до около 100 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 10 микрограмм/мл, около 20 микрограмм/мл, около 30 микрограмм/мл, около 40 микрограмм/мл, около 50 микрограмм/мл, около 60 микрограмм/мл, около 70 микрограмм/мл, около 80 микрограмм/мл, около 90 микрограмм/мл или около 100 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 10 микрограмм/мл, 25 микрограмм/мл, 50 микрограмм/мл, 75 микрограмм/мл, 100 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 45-55 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 50 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/rIGFBP-3 составляет около 75 микрограмм/мл.

[044] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет от около 100 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 100 микрограмм/мл, около 200 микрограмм/мл, около 300 микрограмм/мл, около 400 микрограмм/мл, около 500 микрограмм/мл, около 600 микрограмм/мл, около 700 микрограмм/мл, около 800 микрограмм/мл, около 900 микрограмм/мл, около 1000 микрограмм/мл.

[045] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция подходит для подкожной или внутривенной инъекции. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция подходит для подкожной инъекции. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция подходит для внутривенной инъекции.

[046] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция имеет срок хранения 20 месяцев или более при температуре от 2 до 8 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция имеет срок хранения по меньшей мере 24 месяцев при температуре от 2 до 8 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция стабильна при комнатной температуре и/или окружающем освещении. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция стабильна при комнатной температуре и/или при окружающем освещении в течение по меньшей мере 8 часов, 12 часов, 24 часов, 36 часов или 48 часов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция стабильна при комнатной температуре и/или при окружающем освещении в течение по меньшей мере 8 часов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция стабильна при комнатной температуре и/или при окружающем освещении в течение по меньшей мере 12 часов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция стабильна при комнатной температуре и/или при окружающем освещении в течение по меньшей мере 24 часов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция стабильна при комнатной температуре и/или при окружающем освещении в течение по меньшей мере 48 часов.

[047] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит комплексы rIGF-1 и rIGFBP-3 в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах. В некоторых вариантах реализации данного изобретения IGF-1 получают рекомбинантным путем. В некоторых вариантах реализации данного изобретения IGFBP-3 получают рекомбинантным путем. В некоторых вариантах реализации данного изобретения IGF-1 и IGFBP-3 образуют комплекс перед введением субъекту.

[048] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и

полисорбат 20, является более стабильной при комнатной температуре, чем фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), без полисорбата 20.

[049] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбат 20, в меньшей степени окисляется при комнатной температуре, чем фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), без полисорбата 20.

[050] В некоторых вариантах реализации данного изобретения процентное содержание окисленных форм IGF-1 не увеличивается более чем на 25% при хранении при температуре около 25°C через три месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения процентное содержание окисленных форм IGF-1 не увеличивается более чем на 10% при хранении при температуре около 25°C через три месяца.

[051] В некоторых вариантах реализации данного изобретения в данном документе предложена фармацевтическая композиция, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель.

[052] В некоторых вариантах реализации данного изобретения в данном документе предложен способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3).

[053] В некоторых аспектах в данном документе предложен способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество (*например*, полисорбат 20).

[054] В некоторых аспектах в данном документе предложен способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), включающий введение

субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 20) в концентрации от около 0,0025% об./об. до 0,0075% об./об., причем rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплекс в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах, и при этом концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет от около 10 мкг/мл до около 1000 мкг/мл.

[055] В некоторых аспектах в данном документе предложен способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), причем у нуждающегося в лечении субъекта гестационный возраст составляет менее 26 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения в данном документе предложен способ лечения или предотвращения ВЖК, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), причем у нуждающегося в лечении субъекта гестационный возраст составляет от около 23 недель до около 25 недель + 6 дней. В некоторых аспектах в данном документе предложен способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), в терапевтическом количестве, достаточном для снижения частоты внутрижелудочковых кровоизлияний по сравнению с контролем.

[056] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких патологических состояний достигается между около 36 и 40 неделями постменструального возраста (ПМВ) согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается между около 35 и 42 неделями постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается к 35 неделям постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается к 36 неделям

постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается к 37 неделям постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается к 38 неделям постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается к 39 неделям постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается к 40 неделям постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается к 41 недели постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний достигается к 42 недели постменструального возраста согласно оценке с помощью УЗИ или МРТ.

[057] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты таких состояний оценивают с помощью ультразвуковой диагностики.

[058] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты ВЖК составляет по меньшей мере около 30% снижения частоты ВЖК II, III или IV степени. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты ВЖК составляет по меньшей мере около 30% снижения частоты ВЖК II степени. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты ВЖК составляет по меньшей мере около 30% снижения частоты ВЖК III степени. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты ВЖК составляет по меньшей мере около 30% снижения частоты ВЖК IV степени.

[059] В некоторых вариантах реализации данного изобретения в данном документе предложен способ лечения или профилактики бронхолегочной дисплазии, включающий введение композиции субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах реализации данного изобретения в данном документе предложен способ лечения или профилактики хронического заболевания легких недоношенных, включающий введение композиции субъекту, нуждающемуся в лечении.

[060] В одном аспекте в данном документе предложен способ лечения или профилактики хронического заболевания легких недоношенных, включающий введение

субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и поверхностно-активное вещество.

[061] В некоторых вариантах реализации данного изобретения поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбатное поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20 (P20) или полисорбат 80 (P80). В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой P20. В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой P80.

[062] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация полисорбатного поверхностно-активного вещества составляет от около 0,001% до около 2,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация полисорбатного поверхностно-активного вещества составляет от около 0,2% до около 0,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация полисорбатного поверхностно-активного вещества составляет около 0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,05%, 0,10%, 0,15%, 0,2%, 0,5%, 0,7%, 1,0%, 1,2%, 1,5%, 1,8%, 2,0%, 2,2% или 2,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация полисорбатного поверхностно-активного вещества составляет около 0,0025%, около 0,005% или около 0,0075% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация полисорбата составляет 0,005%.

[063] В некоторых вариантах реализации данного изобретения субъект, нуждающийся в лечении, представляет собой младенца.

[064] В некоторых вариантах реализации данного изобретения младенец родился преждевременно по меньшей мере на 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 1 месяц, 2 месяца или 3 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения постменструальный возраст (ПМВ) младенца составляет от около 23 до около 34 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет около 23 недель, около 24 недель, около 25 недель, около 26 недель, около 27 недель, около 28 недель, около 29 недель, около 30 недель, около 31 недели, около 32 недель, около 33 недель или около 34 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет около 23 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 36 недель. В некоторых вариантах

реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 35 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 34 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 33 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 32 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 31 недели. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 30 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 29 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 28 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 27 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 26 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 25 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 24 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПМВ младенца составляет менее 23 недель.

[065] В некоторых вариантах реализации данного изобретения младенец рождается на сроке менее 32 недель гестационного возраста (ГВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения младенец рождается на сроке менее 31 недели ГВ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения младенец рождается на сроке менее 30 недель ГВ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения младенец рождается на сроке менее 29 недель ГВ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения младенец рождается на сроке менее 28 недель ГВ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения младенец рождается на сроке от 28 до 32 недель ГВ.

[066] В некоторых вариантах реализации данного изобретения субъекту, нуждающемуся в лечении, вводят композицию подкожно, внутривенно, внутримышечно или перорально. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает введение композиции подкожно или внутривенно. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят внутривенно.

[067] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от около 100 до около 1000 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от около 100 до около 800 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от около 100 до около 500 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых

вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от 100 микрограмм/кг/24 часа до 450 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от 100 микрограмм/кг/24 часа до 400 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от 150 микрограмм/кг/24 часа до 400 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от 200 микрограмм/кг/24 часа до 400 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от около 250 до около 1000 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе около 800 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от около 250 до около 800 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе от 250 микрограмм/кг/24 часа до 400 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе около 250 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят в дозе около 400 микрограмм/кг/24 часа.

[068] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят один, два, три или четыре раза в течение 24 часов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят один раз в течение 24 часов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят путем непрерывной инфузии в течение 24 часов.

[069] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят с момента рождения до постменструального возраста (ПМВ), составляющего от около 23 до около 34 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят с момента рождения до ПМВ, составляющего от около 23 до около 32 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят с момента рождения до ПМВ, составляющего около 29 плюс 6 недель. «ПМВ» или «постменструальный возраст» относится к гестационному возрасту плюс хронологический возраст. В некоторых вариантах реализации данного изобретения лечение или профилактика хронического заболевания легких (ХЗЛ) недоношенных приводит к снижению частоты бронхолегочной дисплазии (БЛД), гипертрофии правого желудочка (ГПЖ), легочной гипертензии (ЛГ), некротизирующего энтероколита или внутрижелудочкового кровоизлияния. Предложенный в данном документе способ включает варианты реализации, в которых введение IGF-I, или агониста, или аналога

приводит к снижению частоты хронических заболеваний легких (ХЗЛ) у недоношенных младенцев до 12-месячного скорректированного возраста (КВ). Корректированный возраст младенца представляет собой скорректированный возраст младенца в зависимости от даты родов. Принимая срок беременности за 40 недель (т. е. срок родов), недоношенный младенец имеет скорректированный возраст (КВ), когда дополнительное время, проведенное ребенком вне тела матери (т. е. количество недель, когда ребенок родился недоношенным) вычитается из реального возраста младенца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения хронических заболеваний легких у недоношенных младенцев в постменструальном возрасте (ПМВ) от 23 недель до 12 месяцев. Например, введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения ХЗЛ в ПМВ по меньшей мере 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 41 неделя, 42 недели, 43 недели, 44 недели, 45 недель, 46 недель, 47 недель, 48 недель, 49 недель, 50 недель, 51 неделя или 52 недели. В некоторых других вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения ХЗЛ в ПМВ по меньшей мере 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение композиции приводит к снижению частоты возникновения бронхолегочной дисплазией (БЛД) в постменструальном возрасте (ПМВ) от 23 недель до 12 месяцев. Например, введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения БЛД в ПМВ по меньшей мере 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 41 неделя, 42 недели, 43 недели, 44 недели, 45 недель, 46 недель, 47 недель, 48 недель, 49 недель, 50 недель, 51 неделя или 52 недели. В некоторых других вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения БЛД в ПМВ по меньшей мере 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения тяжелого внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК) II, III или IV степени в по меньшей мере постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36

недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения гипертрофии правого желудочка (ГПЖ) в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения легочной гипертензии (ЛГ) в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения некротизирующего энтероколита в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца.

[070] В некоторых вариантах реализации данного изобретения у субъекта снижены уровни IGF-1 в сыворотке крови. В некоторых вариантах реализации данного изобретения у субъекта уровни IGF-1 составляют ниже 60 микрограмм/л. В некоторых вариантах реализации данного изобретения у субъекта уровни IGF-1 составляют ниже 50 микрограмм/л. В некоторых вариантах реализации данного изобретения у субъекта уровни IGF-1 составляют ниже 40 микрограмм/л. В некоторых вариантах реализации данного изобретения у субъекта уровни IGF-1 составляют ниже 30 микрограмм/л. В некоторых вариантах реализации данного изобретения у субъекта уровни IGF-1 составляют от около 30 до около 50 микрограмм/л.

[071] В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к повышенным уровням IGF-1 в сыворотке крови по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения исходное значение уровней IGF-1 в сыворотке у младенца, который не получал лечение, составляет менее 60 микрограмм/л. В некоторых вариантах реализации данного изобретения исходное значение уровней IGF-1 в сыворотке составляет менее 50 микрограмм/л. В некоторых вариантах реализации данного изобретения исходное значение уровней IGF-1 в сыворотке составляет менее 40 микрограмм/л. В некоторых вариантах реализации данного изобретения исходное значение уровней IGF-1 в сыворотке составляет менее 30 микрограмм/л. В некоторых вариантах реализации данного изобретения исходное значение уровней IGF-1 в сыворотке составляет от около 30 до около 50 микрограмм/л.

[072] В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 25%-50% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% в сравнение с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 10% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 15% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 20% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 25% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 30% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 35% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 40% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 45% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 50% по

сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 55% по сравнению с исходным значением. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке повышены по меньшей мере на около 60% по сравнению с исходным значением.

[073] В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в течение по меньшей мере 24 часов после введения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в течение по меньшей мере около 48 часов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в течение по меньшей мере около 72 часов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в течение по меньшей мере около 7 дней. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в постменструальном возрасте (ПМВ) по меньшей мере от около 23 недель до около 34 недель. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в постменструальном возрасте (ПМВ) по меньшей мере от около 23 недель до около 12 месяцев.

[074] В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения хронического заболевания легких недоношенных, бронхолегочной дисплазии, гипертрофии правого желудочка (ГПЖ), легочной гипертензии (ЛГ), некротизирующего энтероколита или внутрижелудочкового кровоизлияния в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца. Предложенный в данном документе способ включает варианты реализации, в которых введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения хронического заболевания легких (ХЗЛ) у недоношенных младенцев до 12-месячного скорректированного возраста (КВ). Корректированный возраст младенца представляет собой скорректированный возраст младенца в зависимости от даты родов. Принимая срок беременности за 40 недель (т. е. срок родов), недоношенному младенцу присваивается

корректированный возраст, когда из его реального возраста вычитается дополнительное время, которое он провел вне тела матери. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения бронхолегочной дисплазией (БЛД) в постменструальном возрасте (ПМВ) от 23 недель до 24 месяцев. Например, введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения БЛД в ПМВ 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 40 недель, 45 недель, 50 неделя или 52 недели. В некоторых других вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения БЛД в ПМВ 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК) I, II, III или IV степени в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения гипертрофии правого желудочка (ГПЖ) в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения легочной гипертензии (ЛГ) в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение

фармацевтической композиции приводит к снижению частоты возникновения некротизирующего энтероколита в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца или 24 месяца.

[075] В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к повышению функционального состояния, оцениваемому по индексу недоношенных младенцев (PREMII), в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель или 40 недель.

[076] В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к повышенным целевым уровням IGF-1 в сыворотке от около 28 до около 109 микрограмм/мл (мкг/мл). В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции приводит к повышенным целевым уровням IGF-1 в сыворотке, которые составляют около 30 мкг/мл, около 40 мкг/мл, около 50 мкг/мл, около 60 мкг/мл, около 70 мкг/мл, около 80 мкг/мл, около 90 мкг/мл, около 100 мкг/мл или около 110 мкг/мл.

[077] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения патологических состояний составляет по меньшей мере около 20%-50% по сравнению с контрольной группой, которая не получала лечение. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения патологических состояний составляет около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60% или около 70% по сравнению с контрольной группой, которая не получала лечение.

[078] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения патологических состояний составляет по меньшей мере около 20-50% по сравнению с контрольной группой, получающей стандартное лечение. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения патологических состояний составляет около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60% или около 70% по сравнению с контрольной группой, получающей стандартное лечение.

[079] В некоторых вариантах реализации данного изобретения улучшение функционального состояния составляет по меньшей мере около 20%-50% по сравнению с контрольной группой, которая не получала лечение. В некоторых вариантах реализации данного изобретения улучшение функционального состояния составляет около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60% или около 70% по сравнению с контрольной группой, получающей стандартное лечение.

[080] В некоторых вариантах реализации данного изобретения улучшение функционального состояния составляет по меньшей мере около 20-50% по сравнению с контрольной группой, получающей стандартное лечение. В некоторых вариантах реализации данного изобретения улучшение функционального состояния составляет около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60% или около 70% по сравнению с контрольной группой, получающей стандартное лечение.

[081] В некоторых вариантах реализации данного изобретения в данном документе предложен способ лечения или профилактики хронического заболевания легких недоношенных, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и поверхностно-активное вещество полисорбат 20.

[082] Способ, описанный в данном документе, включает варианты реализации, в которых введение композиции приводит к улучшению функционального состояния, оцениваемому по индексу недоношенных младенцев (PREMII), в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель или 40 недель.

[083] В некоторых аспектах в данном документе предложен способ производства белкового комплекса, содержащего инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), причем способ включает использование контактной поверхности, отличной от нержавеющей стали, такой как одноразовый пакет, во время смешивания комплекса с раствором состава, при этом в белковом комплексе, изготовленном таким способом, увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет менее 20% при хранении в течение 6 месяцев при 25 °C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет менее 18%. В некоторых вариантах реализации

месяцев при 40°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет менее 3% при хранении в течение 3 месяцев при 40°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет менее 2% при хранении в течение 3 месяцев при 40°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет менее 1% при хранении в течение 3 месяцев при 40°C.

[085] В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовый пакет дополнительно используется на этапе фильтрации лекарственного препарата. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение по меньшей мере 30% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение по меньшей мере 40% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение 40% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение 50% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение 60% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение 70% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение по меньшей мере 75% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение 80% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение 85% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение 90% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способ включает заполнение 95% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации.

[091] В некоторых вариантах реализации данного изобретения менее 15% белкового комплекса находится в виде низкомолекулярных форм при хранении в течение 1 месяца при 40°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения менее 15% белкового комплекса находится в виде низкомолекулярных форм при хранении в течение 8 месяцев при 40°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения менее 15% белкового комплекса находится в виде низкомолекулярных форм при хранении в течение 10 месяцев при 40°C. В некоторых вариантах реализации данного изобретения менее 15% белкового комплекса находится в виде низкомолекулярных форм при хранении в течение 12 месяцев при 40°C.

[092] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическую композицию, содержащую выделенный белковый комплекс, содержащий инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), получают способом согласно аспектам или вариантам реализации данного изобретения, описанным выше. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция содержит поверхностно-активное вещество, например полисорбатное поверхностно-активное вещество.

[093] В некоторых вариантах реализации данного изобретения в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая выделенный белковый комплекс, содержащий инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), полученная способом, включающим использование одноразового пакета.

[094] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит 50 мМ ацетата натрия, 105 мМ хлорида натрия и 0,005% (об./об.) P20 при уровне pH 5,5.

[095] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет от около 10 до около 100 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет около 10 мМ, 15 мМ, 20 мМ, 25 мМ, 30 мМ, 35 мМ, 40 мМ, 45 мМ, 50 мМ, 55 мМ, 60 мМ, 65 мМ, 70 мМ, 75 мМ, 80 мМ, 85 мМ, 90 мМ, 95 мМ, 100 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет около 50 мМ.

[096] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 20 мМ и 200 мМ. В некоторых вариантах реализации

данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 20 мМ, 25 мМ, 30 мМ, 35 мМ, 40 мМ, 45 мМ, 50 мМ, 55 мМ, 60 мМ, 65 мМ, 70 мМ, 75 мМ, 80 мМ, 85 мМ, 90 мМ, около 95 мМ, около 100 мМ, около 105 мМ, около 110 мМ, около 115 мМ, около 120 мМ, около 125 мМ, около 130 мМ, около 135 мМ, около 140 мМ, около 145 мМ, около 150 мМ, около 155 мМ, около 160 мМ, около 165 мМ, около 170 мМ, около 175 мМ, около 180 мМ, около 185 мМ, около 190 мМ, около 195 мМ или около 200 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 105 мМ.

[097] В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень рН фармацевтической композиции составляет от около 5,0 до около 7,0. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень рН составляет около 5,0, около 5,2, около 5,4, около 5,6, около 5,8, около 6,0, около 6,2, около 6,4, около 6,6, около 6,8 или около 7,0. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень рН композиции составляет около 5,1, около 5,3, около 5,5, около 5,7 или около 5,9, около 6,1, около 6,3, около 6,5, около 6,7 или около 6,9. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень рН композиции составляет от около 5,3 до около 5,8. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень рН композиции составляет около 5,5.

[098] В некоторых аспектах в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая белковый комплекс, содержащий рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), в эквимольных количествах, поверхностно-активное вещество полисорбат 20 при концентрации около 0,005%, и буфер, содержащий ацетат натрия, уксусную кислоту и/или хлорид натрия, причем фармацевтическая композиция имеет уровень рН около 5,3-5,8, при этом концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 50 мкг/мл, и при этом менее 2% IGF-1 находится в виде окисленных форм.

[099] В некоторых аспектах предложена фармацевтическая композиция, содержащая белковый комплекс, содержащий рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах, поверхностно-активное вещество полисорбат 20 в концентрации около 0,005% и буфер, содержащий ацетат натрия, уксусную кислоту и/или хлорид натрия, причем композиция имеет уровень рН около 5,3-5,8, при этом

концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 50 мкг/мл, и при этом менее 1,5% IGF-1 находится в виде окисленных форм. Следует понимать, что, хотя данное изобретение было описано вместе с предпочтительными конкретными вариантами его реализации, предшествующее описание, а также последующие примеры предназначены для иллюстрации, а не для ограничения объема данного изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации в пределах объема данного изобретения будут очевидны специалистам в области техники, к которой относится данное изобретение.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0100] Графические материалы предназначены только для иллюстрации; а не для ограничения.

[0101] На **Фиг. 1** представлена фотография компонентов шведской модели инфузионной системы, использованной в исследованиях инфузий IGF-1/IGFBP-3.

[0102] На **Фиг. 2** представлен график концентрации белка в лекарственном продукте IGF-1/IGFBP-3 с 0,005% полисорбата 20 и без него до и после коррекции буфером.

[0103] На **Фиг. 3А** представлен график, демонстрирующий чистоту образцов, измеренную с помощью SE-HPLC, при отсутствии полисорбата 20. На **Фиг. 3В** представлены профили SE-HPLC образцов при наличии полисорбата 20. Процент площади пика показан для среднего значения двух инфузионных систем.

[0104] На **Фиг. 4** представлен график окисления IGF-1 в составе IGF-1/IGFBP-3 при наличии и отсутствии Р20 в течение 48 часов, полученный с помощью RP-UPLC.

[0105] На **Фиг. 5** представлен график, демонстрирующий процентное содержание окисленного IGF-1 в зависимости от времени, концентрации лекарственного препарата и используемого материала.

[0106] На **Фиг. 6** представлен график процентного окисления IGF-1 в зависимости от времени и свободного пространства над продуктом при использовании одноразовых пакетов и стеклянных емкостей.

[0107] На **Фиг. 7А** представлен график, демонстрирующий стабильность (процент основного пика) IGF-1/IGFBP-3 в зависимости от времени при температуре от 2°C до 8°C (например, 5°C). На **Фиг. 7В** представлен график, демонстрирующий стабильность (процент основного пика) IGF-1/IGFBP-3 в зависимости от времени при температуре от 23°C до 27°C (например, 25°C). На **Фиг. 7С** представлен график, демонстрирующий

стабильность (процент основного пика) IGF-1/IGFBP-3 в зависимости от времени при температуре от 38°C до 42°C.

[0108] На **Фиг. 8А** представлен график процентного содержания окисленного IGF-1, построенный в зависимости от времени, при 5°C. На **Фиг. 8В** представлен график процентного содержания окисленного IGF-1, построенный в зависимости от времени, при 25°C. На **Фиг. 8С** представлен график процентного содержания окисленного IGF-1, построенный в зависимости от времени, при 40°C.

[0109] На **Фиг. 9** представлены графики зависимости концентрации IGF-1 в зависимости от времени для субъектов, получающими либо 250 микрограмм/кг/24 часа, либо 400 микрограмм/кг/24 часа IGF-1/IGFBP-3, в сравнении с субъектами, получающими стандартное лечение.

[0110] На **Фиг. 10** представлены графики, подтверждающие достоверность имитационной модели, основанной на смоделированной и наблюдаемой концентрации IGF-1 у контрольной группы, не получавшей лечения, субъектов, получающих стандартное лечение, и субъектов, получающих лечение с использованием rIGF-1/IGFBP-3 в низкой дозе или в дозе 250 микрограмм/кг/24 часа.

[0111] На **Фиг. 11** представлен график, демонстрирующий результаты имитации клинического испытания, в котором вероятность того, что у субъектов не разовьется бронхолегочная дисплазия (БЛД) или будет легкая форма БЛД, определялась на основе уровней содержания IGF-1 в сыворотке крови у субъектов после лечения с использованием либо 250 микрограмм/кг/24 часов или 400 микрограмм/кг/24 часа IGF-1/IGFBP-3 в сравнении с субъектами, получающими стандартное лечение.

[0112] На **Фиг. 12** представлена модель смоделированных 95% прогнозируемых интервалов ФК концентраций IGF-1 в течение продолжительности лечения для прогнозирования того, как упадут средние значения, а также 5%-й и 95%-й интервалы по отношению к целевому терапевтическому диапазону (28-109 нг/мл) у субъектов, получавших либо 250 микрограмм/кг/24 часа, либо 400 микрограмм/кг/24 часа IGF-1/IGFBP-3 в сравнении с субъектами, получавшими стандартное лечение, на 7-й день и в конце инфузии.

[0113] На **Фиг. 13А** представлен график содержания IGF-1 в сыворотке на 7-й день и вероятности исхода БЛД (легкая форма или отсутствие БЛД). На **Фиг. 13В** представлен

график содержания IGF-1 в сыворотке на 40-ю неделю ПМВ и вероятности исхода БЛД (легкая форма или отсутствие БЛД).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0114] В данном изобретении, в некоторых аспектах, предложена композиция, оптимизированная для введения новорожденным и/или недоношенным младенцам, а также способы лечения заболеваний и осложнений недоношенных, включая, но не ограничиваясь, внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК), бронхолегочную дисплазию (БЛД) и хроническое заболевание легких недоношенных. Композиции и способы, предложенные в данном документе, особенно эффективны при лечении внутрижелудочкового кровоизлияния, бронхолегочной дисплазии и/или хронического заболевания легких у недоношенных детей, особенно у экстремально недоношенных младенцев. В некоторых вариантах реализации данного изобретения в данном документе предложена фармацевтическая композиция с низкой концентрацией, подходящая для введения терапевтического комплекса новорожденному и/или недоношенному младенцу, содержащая в комплексе инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста фактор (IGFBP-3), и неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбатное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 или полисорбат 80, в частности полисорбат 20, в концентрации от около 0,0025% об./об. до около 0,0075% об./об. (например, 0,005% об./об.)). В некоторых вариантах реализации данного изобретения полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20 (P20) или полисорбат 80 (P80). В некоторых вариантах реализации данного изобретения rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплекс в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах, а rIGF-1/IGFBP-3 находится в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл (например, 50 мкг/мл). В некоторых аспектах способ по данному изобретению включает введение субъекту, нуждающемуся в лечении (например, недоношенному младенцу), вышеуказанной фармацевтической композиции. В дополнительном независимом аспекте данного изобретения предложены способы изготовления состава композиции, например, с использованием одноразового пакета, в частности, сводящие к минимуму контакт состава с нержавеющей сталью, чтобы обеспечить надежный способ получения составов, имеющих пониженное окисление.

[0115] Различные аспекты данного изобретения подробно описаны в следующих разделах. Использование разделов не предназначено для ограничения данного изобретения. Каждый раздел может относиться к любому аспекту данного изобретения. В данной заявке использование «или» означает «и/или», если не указано иное.

Определения

[0116] «Родившийся преждевременно» или «преждевременные роды», или «недоношенность», или «недоношенный младенец», или «недоношенный ребенок» или грамматические эквиваленты относятся к рождению младенца до 37 недель беременности или с массой тела на 10% меньше, чем в среднем для гестационного возраста младенца. Например, младенцы, рожденные между 22-37 неделями, будут считаться недоношенными. «ГВ» или «гестационный возраст» представляет собой общий термин для описания того на сколько долго проходила беременность, измеряемая в неделях с первого дня последнего менструального цикла женщины до текущей даты. В некоторых вариантах реализации данного изобретения термин «недоношенный младенец» относится к младенцу, родившемуся преждевременно по меньшей мере на 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 1 месяц, 2 месяца или 3 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения термин «недоношенный ребенок» относится к младенцу, родившемуся в сроке менее 32 недель гестационного возраста (ГВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения термин «недоношенный ребенок» относится к младенцу, родившемуся в сроке менее 28 недель гестационного возраста (ГВ). «ПМВ» или «постменструальный возраст» относится к гестационному возрасту плюс хронологический возраст. «КВ» или «корректированный возраст» представляет собой хронологический возраст, уменьшенный на количество недель, на которые младенец родился раньше 40 недель беременности.

[0117] Используемый в контексте данного документа термин «гестационный возраст» (полные недели) означает: время, прошедшее между первым днем последней менструации и днем родов. Если беременность наступила с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, срок беременности рассчитывается путем прибавления 2 недель к возрасту зачатия.

[0118] Используемый в контексте данного документа термин «хронологический возраст» (дни, недели, месяцы или годы) означает: время, прошедшее с момента рождения.

[0119] Используемый в контексте данного документа термин «постменструальный возраст» (недели) означает: гестационный возраст плюс хронологический возраст.

[0120] Используемый в контексте данного документа термин «корректированный возраст» (недели или месяцы) означает: хронологический возраст, уменьшенный на количество недель, на которые младенец родился раньше 40 недель беременности; данный термин следует использовать только для детей в возрасте до 3 лет, родившихся недоношенными.

[0121] Термин «постменструальный возраст» предпочтительно используется для описания возраста недоношенных младенцев в течение перинатального периода пребывания новорожденных в больнице. После перинатального периода предпочтительным термином является «корректированный возраст».

[0122] «IGF-I» относится к инсулиноподобному фактору роста I любого вида, включая крупный рогатый скот, овец, свиней, лошадей и человека, предпочтительно человека, и, если речь идет о экзогенном введении, из любого источника, будь то природный, синтетический или рекомбинантный, при условии, что он будет связывать IGF-связывающий белок в соответствующем сайте. IGF-I может быть получен рекомбинантно, например, как описано в публикации PCT WO 95/04076.

[0123] «IGFBP» или «IGF-связывающий белок» относится к белку или полипептиду из семейства белков, связывающих инсулиноподобный фактор роста и обычно ассоциированному с IGF-I, связанному или образующему комплекс с ним, вне зависимости от того, является ли он циркулирующим (т.е. в сыворотке крови или ткани). Такие связывающие белки не включают рецепторы. Данное определение включает IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6, Mac 25 (IGFBP-7) и простациклин-стимулирующий фактор (PSF) или специфическую для эндотелиальных клеток молекулу (ESM-1), а также другие белки с высокой степенью гомологии с IGFBP. Mac 25 описан, например, в Swisshelm et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 4472-4476 (1995) и Oh et al., *J. Biol. Chem.*, 271: 30322-30325 (1996). PSF описан в Yamauchi et al., *Biochemical Journal*, 303: 591-598 (1994). ESM-1 описан в Lassalle et al., *J. Biol. Chem.*, 271: 20458-20464 (1996). О других идентифицированных IGFBP см., например, EP 375438, опубликованный 27 июня 1990 г.; EP 369943, опубликованный 23 мая 1990 г.; WO 89/09268, опубликованную 5 октября 1989 г.; Wood et al., *Molecular Endocrinology*, 2: 1176-1185 (1988); Brinkman et al., *The EMBO J.*, 7: 2417-2423 (1988); Lee et al., *Mol. Endocrinol.*, 2: 404-411 (1988); Brewer et al., *BBRC*, 152: 1289-1297 (1988); EP 294021, опубликованный 7 декабря 1988 г.; Baxter

et al., *BBRC*, 147: 408-415 (1987); Leung et al., *Nature*, 330: 537-543 (1987); Martin et al., *J. Biol. Chem.*, 261: 8754-8760 (1986); Baxter et al., *Comp. Biochem. Physiol.*, 91B: 229-235 (1988); WO 89/08667, опубликованная 21 сентября 1989 г.; WO 89/09792, опубликованная 19 октября 1989 г.; и Binkert et al., *EMBO J.*, 8: 2497-2502 (1989).

[0124] «IGFBP-3» относится к белку 3, связывающему инсулиноподобный фактор роста. IGFBP-3 является членом семейства белков, связывающих инсулиноподобный фактор роста. IGFBP-3 может происходить от любого вида, включая крупный рогатый скот, овец, свиней и человека, в форме нативной последовательности или варианта, включая, но не ограничиваясь, встречающиеся в природе аллельные варианты. IGFBP-3 может происходить из любого источника, природного, синтетического или рекомбинантного, при условии, что он будет связывать IGF-I в соответствующих сайтах. IGFBP-3 может быть получен рекомбинантно, как описано в публикации РСТ WO 95/04076.

[0125] В контексте данного документа термин «терапевтическая композиция» определяется как содержащая IGF-I, его аналог или IGF-I в комбинации со связывающим его белком, IGFBP-3 (комплекс IGF-I/IGFBP-3). Терапевтическая композиция может также содержать другие вещества, такие как вода, минералы, носители, такие как белки, и другие эксципиенты, известные специалисту в данной области техники. В некоторых вариантах реализации данного изобретения терапевтическая композиция содержит поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 (P20) или полисорбат 80 (P80).

[0126] «Аналоги» IGF-I представляют собой соединения, обладающие тем же терапевтическим эффектом, что и IGF-I у людей или животных. Это могут быть встречающиеся в природе аналоги IGF-I (например, укороченный вариант IGF-I) или любой из известных синтетических аналогов IGF-I. См., например, патент США № 5473054 для соединений-аналогов IGF-I.

[0127] «Агонисты» IGF-I представляют собой соединения, включая пептиды, которые способны повышать уровни IGF в сыворотке и тканях, особенно IGF-I, у млекопитающего и особенно у человека. См., например, патент США № 6251865 для молекул-агонистов IGF.

[0128] Используемый в контексте данного документа термин «задержка развития» означает аномальный нейрогенез, который потенциально может привести к замедлению умственного прогресса в достижении возрастных норм развития ребёнка. Задержку развития в некоторых случаях можно определить с помощью электроэнцефалограммы.

[0129] Используемый в контексте данного документа термин «субъект» означает любое млекопитающее, включая человека. В некоторых вариантах реализации данного изобретения субъект представляет собой взрослого человека, подростка или младенца. Также согласно данному изобретению предполагается введение фармацевтических композиций и/или проведение способов лечения внутривутробно.

[0130] Используемый в контексте данного документа термин «лечение» (также «лечить» или «терапия») относится к любому введению терапевтической композиции (например, IGF-1/IGFBP-3), которая частично или полностью ослабляет, улучшает, облегчает, ингибирует, задерживает начало, предотвращает, уменьшает тяжесть и/или снижает частоту возникновения одного или более симптомов или признаков конкретного заболевания, расстройства и/или патологического состояния (например, внутрижелудочкового кровоизлияния, бронхолегочной дисплазии, хронического заболевания легких недоношенных). Такое лечение может применяться к субъекту, у которого не проявляются признаки соответствующего заболевания, расстройства и/или состояния, и/или к субъекту, у которого проявляются только ранние признаки заболевания, расстройства и/или патологического состояния. Альтернативно или дополнительно такое лечение может применяться к субъекту, у которого проявляются один или более установленных признаков соответствующего заболевания, расстройства и/или патологического состояния. Соответственно, в некоторых вариантах реализации данного изобретения лечение означает предотвращение возникновения или прогрессирования заболевания.

[0131] «Исходные уровни IGF-1» относятся к уровням IGF-1 в сыворотке у субъекта до получения какого-либо лечения.

[0132] «Срок хранения» или «срок годности» относится к периоду хранения лекарственного препарата, когда он сохраняет характеристики и свойства, делающие его пригодным для терапевтического применения. Например, в некоторых вариантах реализации данного изобретения в течении срока хранения лекарственного препарата снижено количество (например, ниже 10%) образования нежелательных форм, включая окисленные формы, формы с высокой молекулярной массой, продукты деградации. Срок хранения описывается, например, при определенных температурах хранения (например, 5 °C, 25 °C, 40 °C и *т.д.*).

[0133] «Стабильность» или «стабильный» относится к степени, в которой лекарственный препарат сохраняет характеристики и свойства, делающие его пригодным

для терапевтического применения, которыми он обладал во время производства, в течение периода хранения и применения. Стабильность включает аспекты, касающиеся состава препарата, стабильности ингредиентов IGF-1 и IGFBP3, целостности и стабильности комплекса IGF-1/IGFBP3, емкости и укупорки, условий производства и обработки, компонентов упаковки, условий хранения и транспортировки, температуры, света и влажности, а также предполагаемой продолжительности и условий хранения в аптеке и использования пациентами. В некоторых вариантах реализации данного изобретения стабильность относится к уменьшенным количествам нежелательных форм, включая окисленные формы, уменьшенным количествам форм с высокой молекулярной массой, которые приводят к агрегации, и/или уменьшенным количествам форм с низкой молекулярной массой, представленных продуктами деградации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения стабильность относится к наличию менее чем 10% нежелательных форм. В некоторых вариантах реализации данного изобретения стабильность относится к наличию менее чем 5% нежелательных форм. В некоторых вариантах реализации данного изобретения стабильность относится к наличию менее чем 2% нежелательных форм.

[0134] «Стандартная неонатальная помощь» или «стандартное лечение» относится к стандартной помощи в отделении интенсивной терапии новорожденных (ОИТН) уровня III, описанной Американской академией педиатрии для младенцев, родившихся до 32 недель гестационного возраста.

[0135] «Стандартное лечение ХЗЛ и/или БЛД» относится к подходам лечения, которые включают респираторную поддержку, такую как дополнительный кислород, постоянное положительное давление в дыхательных путях и механическую вентиляцию легких с эндотрахеальной интубацией. Симптомы лечат с помощью таких лекарств, как бронходилататоры, помогающие открыть дыхательные пути, стероиды, помогающие уменьшить воспаление, диуретики, помогающие уменьшить избыток жидкости в легких, сосудорасширяющие средства, помогающие снизить кровяное давление в легких, и антибиотики для борьбы с инфекцией.

[0136] «Стандартное лечение ВЖК» относится к профилактическим и/или лечебным мерам, включая антенатальные стероиды и раннее лечение и стабилизацию церебральной гемодинамики и респираторную поддержку. Лечение ВЖК относится к поддерживающему лечению симптомов с помощью лекарств для уменьшения кровотечения и повреждения головного мозга, а также предотвращения судорог.

[0137] Используемые в контексте данного документа термины «улучшать», «увеличивать» или «уменьшать» или их грамматические эквиваленты обозначают значения, которые относятся к исходному измерению, например, измерению у того же индивидуума до начала лечения, описанного в данном документе, или измерению у контрольного индивидуума (или нескольких контрольных индивидуумов) в отсутствие лечения, описанного в данном документе, или литературным ссылкам или данным. «Контрольный индивидуум» представляет собой индивидуума, который страдает той же формой заболевания (например, ВЖК, БЛД, ХЗЛ и др.) при недоношенности, что и индивидуум, которого лечат, и который приблизительно того же возраста, что и индивидуум, которого лечат (чтобы убедиться, что стадии заболевания у пролеченного индивидуума и контрольного индивидуума(ов) сопоставимы).

IGF-1/IGFBP-3

[0138] IGF-1 или его агонист или аналог могут быть использованы для реализации данного изобретения. IGF-I является хорошо известным регулятором постнатального роста и метаболизма. См. Baker J, Liu JP, Robertson EJ, Efstratiadis A. Он имеет молекулярную массу приблизительно 7,5 килодальтон (кД). Большая часть циркулирующего IGF связана с IGF-связывающим белком, в частности с IGFBP-3. IGF-I может быть измерен в сыворотке крови для диагностирования аномальных состояний, связанных с ростом.

[0139] Как правило, терапевтическая композиция, подходящая для лечения описанных в данном документе заболеваний, включая, например, ВЖК, БЛД или ХЗЛ, содержит IGF-1 и белок, связывающий IGF-1, такой как IGF-связывающий белок (IGFBP). В различных тканях и биологических жидкостях организма идентифицировано по меньшей мере шесть различных белков, связывающих IGF (IGFBP). В некоторых вариантах реализации данного изобретения подходящая терапевтическая композиция по данному изобретению содержит IGF-1 и IGFBP-3. IGF-1 и IGFBP-3 можно использовать в виде белкового комплекса или по отдельности. В некоторых вариантах реализации данного изобретения IGF-1 и IGFBP-3 образуют комплекс в эквимольных количествах. В некоторых вариантах реализации данного изобретения терапевтическая композиция содержит мекасермин ринфабат. В некоторых вариантах реализации данного изобретения терапевтическая композиция содержит мекасермин ринфабат и поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах реализации данного изобретения терапевтическая композиция содержит мекасермин ринфабат и полисорбат 20. В некоторых вариантах

реализации данного изобретения терапевтическая композиция содержит мекасермин ринфабат и полисорбат 80.

[0140] IGF-I и белки, связывающие IGF-I, такие как IGFBP-3, могут быть очищены из природных источников или получены рекомбинантными способами. Например, очистка IGF-I из сыворотки крови человека хорошо известна в данной области техники (Rinderknecht et al. (1976) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73:2365-2369). Получение IGF-I с помощью рекомбинантных процессов представлена в EP 0128733, опубликованном в декабре 1984 г. IGFBP-3 может быть очищен из природных источников с использованием процесса, подобного представленному в Baxter et al. (1986, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 139:1256-1261). В альтернативном варианте, IGFBP-3 может быть синтезирован рекомбинантно, как обсуждается в Sommer et al., pp. 715-728, *Modern Concepts Of Insulin-Like Growth Factors* (E. M. Spencer, ed., Elsevier, N.Y., 1991). Рекомбинантный IGFBP-3 связывает IGF-I в молярном соотношении 1:1 (эквимольные количества).

Фармацевтическая композиция и терапевтическое применение

[0141] В данном изобретении предложена фармацевтическая композиция, подходящая для введения терапевтического белкового комплекса новорожденному, содержащую в комплексе инсулиноподобный фактор роста 1 и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (например, в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах); и неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбатное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 или полисорбат 80, в частности полисорбат 20) в диапазоне от 0,0025% до 0,0075%. В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическая композиция является изотонической. В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическая композиция является жидкой. В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическая композиция является водной.

[0142] В данном изобретении также предложены способы лечения (например, облегчения или снижения риска) заболеваний и осложнений у недоношенных младенцев, например, внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) или хронического заболевания легких (ХЗЛ), такого как, например, ХЗЛ, связанного с недоношенностью. Например, в некоторых вариантах реализации данного изобретения данное изобретение можно использовать для лечения недоношенных младенцев, например, для облегчения или снижения риска ВЖК или осложнений, связанных с ВЖК. В некоторых других вариантах реализации данного изобретения данное изобретение

можно использовать для лечения недоношенных младенцев, например, для облегчения или снижения риска ХЗЛ или осложнений, связанных с ХЗЛ. В дополнительных вариантах реализации данного изобретения данное изобретение можно использовать для лечения недоношенных младенцев, например, для облегчения или снижения риска БЛД или осложнений, связанных с БЛД. В некоторых вариантах реализации данного изобретения данное изобретение может быть использовано для лечения младенца, родившегося недоношенным по меньшей мере на 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 1 месяц, 2 месяца или 3 месяца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения данное изобретение можно использовать для лечения экстремально недоношенного младенца.

[0143] В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическую композицию, содержащую IGF-I, вводят в комбинации с IGF-связывающим белком, способным связывать IGF-I, и поверхностно-активным веществом. В некоторых вариантах реализации данного изобретения IGF-связывающий белок, способный связывать IGF-I, представляет собой белок 3, связывающий IGF (IGFBP-3). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция содержит поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 или полисорбат 80.

[0144] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация терапевтического комплекса, содержащего rIGF-1/IGFBP-3, находится в диапазоне от 10 до 1000 микрограмм/мл (например, от 10 до 100 микрограмм/мл, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 микрограмм/мл), например 45-55 микрограмм/мл, в частности 50 микрограмм/мл.

[0145] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около 100 микрограмм/мл. Например, в некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 45 микрограмм/мл до около 55 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации около 50 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около 100 микрограмм/мл, подходит для

внутривенного введения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 45 микрограмм/мл до около 55 микрограмм/мл, подходит для внутривенного введения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации около 50 микрограмм/мл, подходит для внутривенного введения.

[0146] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 1000 микрограмм/мл до около 5000 микрограмм/мл. Например, в некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 2000 микрограмм/мл до около 3000 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации около 2500 микрограмм/мл. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 1000 микрограмм/мл до около 5000 микрограмм/мл, подходит для подкожного введения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации от около 2000 микрограмм/мл до около 3000 микрограмм/мл, подходит для подкожного введения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая rIGF-1/IGFBP-3 в концентрации около 2500 микрограмм/мл, подходит для подкожного введения.

[0147] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит rIGF-1 и rIGFBP-3 в диапазоне от 0,75 до 1,25:1 или 1:0,75-1,25, например, могут быть использованы эквимоллярные количества IGF-I и белка 3, связывающего IGF. В некоторых вариантах реализации IGF-I и белок 3, связывающий IGF, образуют комплекс перед введением. Комплекс может быть образован путем смешивания приблизительно эквимоллярных количеств IGF-I и белка 3, связывающего IGF, растворенных в физиологически совместимых носителях, таких как физиологический раствор или фосфатно-солевой буферный раствор. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрированный раствор рекомбинантного IGF-I человека и концентрированный раствор рекомбинантного человеческого белка 3, связывающего IGF, смешивают вместе в течение времени, достаточного для образования комплекса в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимоллярных количествах. В некоторых вариантах реализации данного изобретения рекомбинантный IGF-I человека и

рекомбинантный человеческий белок 3, связывающий IGF, объединяют с образованием комплекса во время очистки, как описано в международной патентной заявке № WO 96/40736.

[0148] В некоторых вариантах реализации данного изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая композицию, описанную в данном документе, и один или более подходящих фармацевтических эксципиентов. В одном варианте реализации данного изобретения композиция содержит минимальное число и/или количество эксципиентов, например 1, 2, 3, 4 или 5 эксципиентов.

[0149] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит полисорбат 20. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация поверхностно-активного вещества полисорбата 20 составляет от около 0,001% до около 2,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация поверхностно-активного вещества полисорбата 20 составляет от около 0,2% до около 0,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация поверхностно-активного вещества полисорбата 20 составляет около 0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,05%, 0,10%, 0,15%, 0,2%, 0,5%, 0,7%, 1,0%, 1,2%, 1,5%, 1,8%, 2,0%, 2,2% или 2,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация поверхностно-активного вещества полисорбата 20 составляет около 0,0025%, около 0,005% или около 0,0075% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация полисорбата 20 составляет 0,005%.

[0150] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция содержит полисорбат 80. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация поверхностно-активного вещества полисорбата 80 составляет от около 0,001% до около 2,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация поверхностно-активного вещества полисорбата 80 составляет от около 0,2% до около 0,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация поверхностно-активного вещества полисорбата 80 составляет около 0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,05%, 0,10%, 0,15%, 0,2%, 0,5%, 0,7%, 1,0%, 1,2%, 1,5%, 1,8%, 2,0%, 2,2% или 2,4% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация поверхностно-активного вещества полисорбата 80 составляет около 0,0025%, около 0,005% или около 0,0075% об./об. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация полисорбата 80 составляет 0,005%.

[0151] В некоторых вариантах реализации данного изобретения % поверхностно-активного вещества представляет собой масс./масс.

[0152] В одном варианте реализации данного изобретения % поверхностно-активного вещества представляет собой масс./об., т.е. массу композиции по отношению к объему поверхностно-активного вещества или массу поверхностно-активного вещества по отношению к объему композиции.

[0153] В одном варианте реализации данного изобретения % поверхностно-активного вещества представляет собой об./об.

[0154] В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическая композиция дополнительно содержит буфер, содержащий ацетат натрия, уксусную кислоту и/или хлорид натрия. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция дополнительно содержит буфер, содержащий ацетат натрия или уксусную кислоту. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиция дополнительно содержит буфер, содержащий хлорид натрия.

[0155] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет от около 10 до около 100 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет около 10 мМ, 15 мМ, 20 мМ, 25 мМ, 30 мМ, 35 мМ, 40 мМ, 45 мМ, 50 мМ, 55 мМ, 60 мМ, 65 мМ, 70 мМ, 75 мМ, 80 мМ, 85 мМ, 90 мМ, 95 мМ или 100 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет около 50 мМ.

[0156] В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 20 мМ и 200 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 20 мМ, около 25 мМ, 30 мМ, 35 мМ, 40 мМ, 45 мМ, 50 мМ, 55 мМ, 60 мМ, 65 мМ, 70 мМ, 75 мМ, 80 мМ, около 90 мМ, около 95 мМ, около 100 мМ, около 105 мМ, около 110 мМ, около 115 мМ, около 120 мМ, около 125 мМ, около 130 мМ, около 135 мМ, около 140 мМ, около 145 мМ, около 150 мМ, около 155 мМ, около 160 мМ, около 165 мМ, около 170 мМ, около 175 мМ, около 180 мМ, около 185 мМ, около 190 мМ, около 195 мМ или около 200 мМ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения концентрация хлорида натрия составляет около 105 мМ.

[0157] В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH композиции составляет от около 5,0 до около 6,0. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH составляет около 5,0, около 5,2, около 5,4, около 5,6, около 5,8, около 6,0, около 6,2, около 6,4, около 6,6, около 6,8 или около 7,0. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH композиции составляет около 5,1, около 5,3, около 5,5, около 5,7, около 5,9, около 6,1, около 6,3, около 6,5, около 6,7 или около 6,9. В некоторых вариантах реализации данного изобретения уровень pH композиции составляет от около 5,3 до около 5,8, *например*, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, в частности, уровень pH 5,5.

[0158] Фармацевтические композиции по данному изобретению включают композиции, подходящие для перорального, назального, местного (включая трансбуккальное и подъязычное) или парентерального (включая подкожное, внутримышечное, внутривенное и внутрикожное) введения. Композиции могут быть представлены в стандартной дозированной форме, например, в виде таблеток и капсул с замедленным высвобождением, а также в липосомах, и могут быть получены любыми способами, хорошо известными в области фармации. См., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa. (17th ed. 1985). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композицию вводят внутривенно.

[0159] Такие препаративные способы включают этапы связывания с вводимой молекулой таких ингредиентов, как носитель, который представляет собой один или более вспомогательных ингредиентов. Как правило, композиции готовят путем однородного и тесного связывания активных ингредиентов с жидкими носителями, липосомами или тонкоизмельченными твердыми носителями или с теми и другими, а затем, при необходимости, придают продукту форму.

[0160] Композиции по данному изобретению, подходящие для перорального введения, могут быть представлены в виде отдельных единиц, таких как капсулы, крахмальные капсулы или таблетки, каждая из которых содержит заданное количество активного ингредиента; в виде порошка или гранул; в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости; или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде, или в виде жидкой эмульсии вода-в-масле, или в виде упакованных в липосомы и в виде болюса и т. д.

[0161] Таблетку можно изготовить прессованием или формованием, необязательно с одним или более вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть

приготовлены путем прессования в подходящей машине активного ингредиента в сыпучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанного со связывающим веществом, смазкой, инертным разбавителем, консервантом, поверхностно-активным или диспергирующим агентом. Формованные таблетки могут быть изготовлены путем формования в подходящей машине смеси порошкообразного соединения, смоченного инертным жидким разбавителем. Таблетки необязательно могут быть покрыты оболочкой или иметь надрезы и могут быть приготовлены таким образом, чтобы обеспечить медленное или контролируемое высвобождение содержащегося в них активного ингредиента.

[0162] Композиции, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические вещества и растворенные вещества, которые делают состав изотоническим по отношению к крови предполагаемого реципиента; и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загустители. Составы могут быть представлены в однократных или многократных емкостях, например, в запечатанных ампулах и флаконах, и могут храниться в сублимированном (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого носителя, например, воды для инъекций, непосредственно перед использованием. Растворы для инъекций и суспензии для экстреморального применения можно приготовить из стерильных порошков, гранул и таблеток.

[0163] В некоторых вариантах реализации данного изобретения способы, описанные в данном документе, обеспечивают парентеральное введение изотонической фармацевтической композиции низкой концентрации, подходящей для введения новорожденному младенцу, нуждающемуся в таком лечении, терапевтического белкового комплекса (в частности, в активной форме), содержащего IGF-I в комплексе с белком 3, связывающим IGF, в присутствии неионогенного поверхностно-активного вещества, например, 0,005% полисорбата 20 или полисорбата 80.

[0164] В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтический состав можно вводить парентерально без потери терапевтического белкового комплекса (например, без потери активности терапевтического белкового комплекса). В одном варианте реализации данного изобретения активность измеряют с помощью анализа, описанного в данном документе, например, в примерах. В одном варианте реализации данного изобретения состав доставляет новорожденному по меньшей мере 80% дозы

терапевтического белкового комплекса в активной форме, например 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%.

[0165] Парентеральное введение включает, но не ограничивается, внутривенный (в/в), внутримышечный (в/м), подкожный (п/к), внутривентриальный (в/б), интраназальный и ингаляционный пути введения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическую композицию IGF-I/IGFBP-3 вводят внутривенно. В/в, в/м, п/к и в/б введение может быть болюсным или инфузионным, а также может осуществляться с помощью имплантируемого устройства с медленным высвобождением, включая, но не ограничиваясь, помпы, составы с медленным высвобождением и механические устройства. Состав, путь и способ введения, а также дозировка будут зависеть от заболевания, подлежащего лечению, и истории болезни пациента. Соответственно, в некоторых вариантах реализации данного изобретения способы, описанные в данном документе, обеспечивают внутривенное введение фармацевтической композиции, содержащей IGF-I в комплексе с белком 3, связывающим IGF, в присутствии поверхностно-активного вещества, например, 0,005% об./об. полисорбата 20 или полисорбата 80, младенцу, нуждающемуся в таком лечении. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способы, описанные в данном документе, обеспечивают подкожное введение фармацевтической композиции, содержащей IGF-I в комплексе с белком 3, связывающим IGF, в присутствии поверхностно-активного вещества, например, 0,005% об./об. полисорбата 20 или полисорбата 80, младенцу, нуждающемуся в таком лечении.

[0166] Фармацевтическую композицию согласно данного изобретения можно вводить в различных дозах. Например, подходящая доза может находиться в диапазоне от 100 около до около 1000 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения подходящая доза может составлять или превышать около 100 микрограмм/кг/24 часа, 150 микрограмм/кг/24 часа, 200 микрограмм/кг/24 часа, 250 микрограмм/кг/24 часа, 300 микрограмм/кг/24 часа, 350 микрограмм/кг/24 часа, 400 микрограмм/кг/24 часа, 450 микрограмм/кг/24 часа, 500 микрограмм/кг/24 часа, 550 микрограмм/кг/24 часа, 600 микрограмм/кг/24 часа, 650 микрограмм/кг/24 часа, 700 микрограмм/кг/24 часа, 750 микрограмм/кг/24 часа, 800 микрограмм/кг/24 часа, 850 микрограмм/кг/24 часа, 900 микрограмм/кг/24 часа, 950 микрограмм/кг/24 часа или 1000 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения подходящая доза составляет около 250 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения подходящая доза составляет около 400 микрограмм/кг/24

часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения подходящая доза составляет около 750 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения подходящая доза составляет около 1000 микрограмм/кг/24 часа. В некоторых вариантах реализации данного изобретения фармацевтическую композицию согласно данному изобретению вводят с момента рождения до постменструального возраста (ПМВ) от около 23 до около 34 недель, до ПМВ от около 28 до около 32 недель, до ПМВ около 29 недель плюс 6 дней.

[0167] Предложенный в данном документе способ включает варианты реализации, в которых введение фармацевтической композиции IGF-I/IGFBP-3 приводит к снижению частоты возникновения хронического заболевания легких у недоношенных младенцев до 12-месячного скорректированного возраста (КВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции IGF-I/IGFBP-3 приводит к снижению частоты возникновения бронхолегочной дисплазии (БЛД) в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 26 недель, 30 недель, 34 недели, 36 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции IGF-I/IGFBP-3 приводит к снижению частоты возникновения тяжелого внутрижелудочкового кровоизлияния (БЛД) III или IV степени в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 26 недель, 30 недель, 34 недели, 36 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции IGF-I/IGFBP-3 приводит к снижению частоты возникновения гипертрофии правого желудочка (ГПЖ) в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 26 недель, 30 недель, 34 недели, 36 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции IGF-I/IGFBP-3 приводит к снижению частоты возникновения легочной гипертензии (ЛГ) в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 26 недель, 30 недель, 34 недели, 36 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев или 12 месяцев. В некоторых вариантах реализации данного изобретения введение фармацевтической композиции IGF-I/IGFBP-3 приводит к снижению частоты возникновения некротизирующего энтероколита в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 26 недель, 30 недель, 34 недели, 36 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев или 12 месяцев.

[0168] В некоторых вариантах реализации данного изобретения способы, описанные в данном документе, включают варианты реализации, в которых введение

фармацевтической композиции IGF-I/IGFBP-3 приводит к улучшению функционального состояния, оцениваемому по индексу недоношенных младенцев (PREMII), в постменструальном возрасте (ПМВ) 36 недель или 40 недель.

[0169] Для парентерального или перорального введения композиции комплекса могут представлять собой полутвердые или жидкие лекарственные формы, такие как жидкие препараты, суспензии и т.п. Физиологически совместимые носители представляют собой те, которые нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и совместимы с другими ингредиентами состава. Например, состав предпочтительно не включает окислителей и других соединений, которые, как известно, разрушительны для полипептидов. Следовательно, физиологически совместимые носители включают, но не ограничиваются, физиологический раствор, сывороточный альбумин, 5% декстрозу, препараты плазмы и другие растворы, содержащие белок. Необязательно носитель может также включать детергенты или поверхностно-активные вещества.

[0170] В еще одном аспекте данного изобретения предложено применение фармацевтической композиции IGF-I/IGFBP-3 в производстве терапевтической композиции для лечения осложнения при преждевременных родах.

[0171] В одном предпочтительном варианте реализации данного изобретения предложена изотоническая фармацевтическая композиция низкой концентрации, подходящая для введения терапевтического белкового комплекса новорожденному (в частности, в активной форме), содержащая от 10 до 1000 микрограммов на мл (например, от 10 до 100 микрограммов/мл, то есть, например, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 мкг/мл, например, 45-55 мкг/мл, в частности 50 мкг/мл) комбинации инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1) и белка-3, связывающего инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3) (например, в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах; и неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбатное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 или полисорбат 80, в частности полисорбат 20) в диапазоне от 0,0025% до 0,0075% (например, 0,005%); буфер (например, 50 мМ ацетата натрия), соль (например, 105 мМ хлорида натрия), причем уровень pH состава находится в диапазоне pH от 5,3 до 5,8 (например, pH 5,5).

Хроническое заболевание легких

Хроническое заболевание легких недоношенных

[0172] Экстремально недоношенные младенцы особенно подвержены очень высокому риску развития хроническому заболевания легких недоношенных. Недоношенным детям может потребоваться дыхательный аппарат (вентилятор) и дополнительный кислород для дыхания. Хроническое заболевание легких недоношенных может возникнуть, когда дыхательный аппарат или кислород повреждают легкие недоношенного ребенка. При повреждении легких ткани внутри легких ребенка воспаляются. Ткань может разрушаться, вызывая рубцевание. Рубцы могут вызвать проблемы с дыханием, и ребенку может потребоваться больше кислорода. Поражение легких может быть вызвано:

- *Недоношенностью:* Легкие недоношенного ребенка еще не полностью сформированы. Особенно это касается альвеолярных мешочков.
- *Низким количеством поверхностно-активного вещества:* Данное вещество в легких помогает держать крошечные альвеолярные мешочки открытыми.
- *Из-за использования кислорода:* Большое количество кислорода может повредить клетки легких.
- *Дыхательного аппарата (механической вентиляции легких):* Давление воздуха может повредить легкие. Данное давление может возникать из-за дыхательных аппаратов, отсасывания из дыхательных путей и использования эндотрахеальной (ЭТ) трубки. ЭТ трубка представляет собой трубку, помещенную в дыхательное горло (трахею) ребенка и подключенная к дыхательному аппарату.

[0173] Долгосрочная тенденция легочных исходов у экстремально недоношенных детей обычно начинается с антенатальных факторов риска, за которыми следует респираторный дистресс-синдром (РДС) в первые часы или дни жизни, требующий респираторной поддержки, что часто приводит к диагнозу БЛД у тех, кто выживают до срока эквивалентности и, наконец, приводит к хроническому заболеванию легких недоношенных, по мере их развития в младенчестве, раннем детстве и часто даже в школьном или подростковом возрасте, что приводит к более частым повторным госпитализациям и посещениям неотложной помощи по респираторным причинам, потребности в респираторных препаратах или респираторной поддержке на дому, и многие дети страдают от формы реактивного заболевания дыхательных путей, которое продолжает ограничивать качество их жизни.

[0174] Хроническое заболевание легких недоношенных представляет собой широкий термин, который относится к младенцам с диагнозом бронхолегочной

дисплазии, но может также относиться к младенцам, у которых никогда не диагностировали бронхолегочную дисплазию после экстремально преждевременных родов и у которых проявляется стойкое заболевание легких. Хроническое заболевание легких недоношенных может быть диагностировано по длительному времени до прекращения кислородной поддержки, но клинические конечные точки хронического заболевания легких недоношенных могут включать, на практике, но не ограничиваясь, постоянную кислородную зависимость, симптомы кашля и хрипов, респираторные заболевания и госпитализации, зависимость от постоянного давления в дыхательных путях, искусственную вентиляцию легких и зависимость от респираторных препаратов, а также диагноз легочной гипертензии (ЛГ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения хроническое заболевание легких (ХЗЛ) недоношенных может сохраняться во взрослом возрасте. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ХЗЛ включает спектр заболеваний и нарушений, включая, но не ограничиваясь, ХНЗЛ (эмфизему и хронический бронхит), астму, кистозный фиброз, рестриктивный лёгочный процесс и устойчивые инфекции.

[0175] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения ХЗЛ.

[0176] В некоторых аспектах в данном документе предложен способ лечения или снижения частоты возникновения ХЗЛ, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и поверхностно-активное вещество (например, полисорбатное поверхностно-активное вещество, например полисорбат 20).

[0177] В некоторых аспектах в данном документе предложен способ лечения или снижения частоты возникновения ХЗЛ, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество в концентрации от около 0,0025% до 0,0075% (например, 0,005%), причем rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплекс в диапазоне от 0,75 до 1,25: 1 или 1: 0,75-1,25, например, в эквимольных количествах, и при этом rIGF-1/IGFBP-3 находится в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около

1000 микрограмм/мл (*например*, 50 микрограмм/мл). В некоторых аспектах в данном документе предложен способ лечения или снижения частоты возникновения ХЗЛ, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), в терапевтическом количестве, достаточном для снижения частоты ХЗЛ по сравнению с контрольной группой.

[0178] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по времени до окончательного отказа от респираторной технологической поддержки (RTS) с 1-го дня до 12-месячного скорректированного возраста (КВ) (временные рамки: Исходное значение - 12 месяцев скорректированного возраста (КВ)). В данном контексте RTS определяется как одно из следующего: (1) дополнительный кислород менее (<) 2 литров в минуту (л/мин) без положительного давления (включая носовые канюли), (2) поддержка положительного давления (включая постоянное положительное давление в дыхательных путях [CPAP], кислород через назальные канюли более (>) 2 л/мин), (3) вентиляция с положительным давлением (высокочастотная колебательная вентиляция и технологии с использованием дыхательного объема с положительным давлением, такие как механическая вентиляция, назальная перемежающаяся вентиляция с положительным давлением [NIPPV]). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по времени до окончательного отказа от RTS по сравнению с исходным контролем.

[0179] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте возникновения бронхолегочной дисплазии (БЛД) или смертью до постменструального возраста (ПМВ) 36 недель (временные рамки: исходное значение - 36 недель постменструального возраста (ПМВ)). БЛД можно оценить, например, по модифицированной классификации степени тяжести Национального института детского здоровья и развития человека (NICHD) и стандартизировать с помощью тестирования с кислородной нагрузкой. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по заболеваемости бронхолегочной дисплазией (BPD) или смертью до постменструального возраста (ПМВ) 36 недель по сравнению с исходным контролем.

[0180] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивается по общему количеству дней респираторной технологической поддержки (RTS) от рождения до 12 месяцев скорректированного возраста (КВ) (временные рамки: от рождения до 12 месяцев КВ). В данном контексте RTS может определяться как одно из следующего: (1) любая доля вдыхаемого кислорода (F_{iO_2}), превышающая ($>$) 21 процент (%), (2) неинвазивная респираторная поддержка, осуществляемая через назальный интерфейс (например, постоянное положительное давление в дыхательных путях [CPAP], двухуровневое положительное давление в дыхательных путях [BiPAP], высокопоточная терапия, назальная перемежающаяся вентиляция с положительным давлением [NIPPV], назальная канюля), (3) инвазивная респираторная поддержка (механическая вентиляция) через эндотрахеальную трубку или трахеостому. Будет сообщено общее количество дней с применением RTS от рождения до 12 месяцев КВ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ согласно оценке общего количества дней с респираторной технологической поддержкой (RTS) от рождения до 12 месяцев скорректированного возраста (КВ) (временные рамки: от рождения до 12 месяцев (КВ) по сравнению с исходным контролем.

[0181] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по продолжительности повторных госпитализаций (временные рамки: Выписка из отделения интенсивной терапии новорожденных (ОИТН) до 12 месяцев КВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по продолжительности повторных госпитализаций по сравнению с исходным контролем.

[0182] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по количеству посещений отделения неотложной помощи (временные рамки: Выписка из ОИТН - 12 месяцев КВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по количеству посещений отделения неотложной помощи.

[0183] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по количеству дней применения респираторных препаратов

(временные рамки: Выписка из ОИТН - 12 месяцев КВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по количеству дней применения респираторных препаратов по сравнению с исходным контролем. Использование респираторных препаратов может включать, например, бронходилататоры, стероиды, ингибиторы лейкотриенов, диуретики.

[0184] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте возникновения признаков и/или симптомов респираторного заболевания, оцениваемого по 28-дневному дневнику, который ведет лицо, осуществляющее уход, заканчивая 12-месячным скорректированным возрастом (КВ) (временные рамки: 11 месяцев КВ - 12 месяцев КВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по 28-дневному дневнику, который ведет лицо, осуществляющее уход, заканчивающемуся 12-месячным скорректированным возрастом (КВ), по сравнению с исходным контролем.

[0185] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте возникновения хронических респираторных заболеваний (CRM1) до 12 месяцев скорректированного возраста (КВ) (временные рамки: Выписка из ОИТН - 12 месяцев КВ). Субъект определяется как имеющий CRM1, если он или она испытывали/требовали, по меньшей мере, 1 из 3 следующих клинических/лечебных явлений, о чем сообщают родители/опекуны и которые фиксируются оценкой легочной заболеваемости по меньшей мере в течение двух 3-месячных кварталов в течение 12-месячного периода времени: 1. Посещение отделения неотложной помощи или госпитализация в связи с респираторным диагнозом, 2. RTS на дому, 3. Ежедневное использование респираторных препаратов (например, бронхолитиков, стероидов, ингибиторов лейкотриенов, диуретиков) по данным лиц, осуществляющих уход, при оценке легочной заболеваемости. О частоте возникновения CRM1 до 12 месяцев КВ будет сообщено. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по частоте хронической респираторной заболеваемости (CRM1) в 12 месяцев скорректированного возраста (КВ) по сравнению с исходным контролем.

[0186] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте хронической респираторной заболеваемости, включая симптомы респираторного заболевания (CRM2), до 12 месяцев скорректированного возраста (KB) (временные рамки: Выписка из ОИТН - 12 месяцев KB). Субъект определяется как имеющий CRM2, если он или она испытывали/требовали, по меньшей мере, 1 из 4 следующих клинических/лечебных явлений, о чем сообщают родители/опекуны и которые фиксируются оценкой легочной заболеваемости по меньшей мере в течение двух 3-месячных кварталов в течение 12-месячного периода времени: 1. Посещение отделения неотложной помощи или госпитализация в связи с респираторным диагнозом, 2. RTS на дому, 3. Ежедневное использование респираторных препаратов (например, бронхолитиков, стероидов, ингибиторов лейкотриенов, диуретиков) по данным лиц, осуществляющих уход, при оценке легочной заболеваемости, 4. Симптомы респираторного заболевания, определяемые наличием кашля без простуды или хрипов не реже одного раза в неделю. О частоте возникновения CRM2 до 12 месяцев KB будет сообщено. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по частоте хронической респираторной заболеваемости, включая симптомы респираторного заболевания (CRM2) в 12 месяцев скорректированного возраста (KB) по сравнению с исходным контролем.

[0187] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте возникновения хронической респираторной заболеваемости (CRM3) в 12 месяцев скорректированного возраста (KB), что определяется по шкале тяжести хронического заболевания легких (ХЗЛ) в младенчестве (временные рамки: Выписка из ОИТН - 12 месяцев KB). Это определяется, например, оценкой тяжести ХЗЛ в младенчестве, которая будет включать такие компоненты, как госпитализация из-за респираторных заболеваний, использование RTS и использование респираторных препаратов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, как определяется по оценке тяжести хронической респираторной заболеваемости (CRM3) в 12 месяцев скорректированного возраста (KB), определяемой по шкале тяжести хронического заболевания легких (ХЗЛ) в младенчестве по сравнению с исходным контролем.

[0188] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте внутрижелудочковых

кровоизлияний (ВЖК) в постменструальном возрасте (ПМВ) 40 недель по данным УЗИ черепа (временные рамки: исходное значение - 40 недель ПМВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по частоте внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) в постменструальном возрасте (ПМВ) 40 недель, согласно оценке с помощью УЗИ черепа, по сравнению с исходным контролем.

[0189] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) в постменструальном возрасте (ПМВ) около 36-40 недель по данным УЗИ черепа (временные рамки: исходное значение - 36-40 недель ПМВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по частоте внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) в постменструальном возрасте (ПМВ) 36-40 недель, согласно оценке с помощью УЗИ черепа, по сравнению с исходным контролем.

[0190] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) в постменструальном возрасте (ПМВ) 36 недель по данным УЗИ черепа (временные рамки: исходное значение - 36 недель ПМВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по частоте внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) в постменструальном возрасте (ПМВ) 36 недель, согласно оценке с помощью УЗИ черепа, по сравнению с исходным контролем.

[0191] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по двигательной функции в скорректированном возрасте 12 месяцев (КВ), измеренной по шкале Альбертского университета для оценки двигательных функций у младенцев (AIMS) (временные рамки: 12 месяцев КВ). AIMS представляет собой показатель раннего моторного развития, используемый для оценки младенцев с риском задержки развития моторики, с акцентом на достижение моторных вех и развитие постурального контроля. Она состоит из 58 пунктов, в том числе оценок в 4 постуральных положениях: лежа (21 пункт), лежа на спине (9 пункт), сидя (12 пункт) и стоя (16 пункт). Каждый пункт оценивается как «соблюдается» или «не наблюдается». Наблюдатель определяет наименее и наиболее зрелый исследуемый пункт. В некоторых

вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ при оценке двигательной функции в скорректированном возрасте 12 месяцев (КВ), измеренной с помощью Шкалы Альберта Моторного Развития (AIMS) по сравнению с исходным контролем.

[0192] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по функциональному состоянию, оцениваемому с помощью индекса недоношенных детей (PREMII) в постменструальном возрасте (ПМВ) 36 недель (временные рамки: 36 недель ПМВ). PREMII представляет собой оценку результатов лечения, основанную на отчете врача (ClinRO), которая используется для оценки общей функциональной зрелости экстремально недоношенных новорожденных. Функциональный статус определяется как то, что младенец может делать в отношении 8 ключевых функциональных областей (кормление, прибавка в весе, терморегуляция, респираторная поддержка, апноэ, брадикардия, события десатурации и необходимость подачи кислорода), как отражение общего состояния здоровья и развития младенца. В некоторых вариантах реализации данного изобретения, композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по функциональному состоянию, оцениваемому с помощью индекса недоношенных детей (PREMII) в постменструальном возрасте (РМА) 36 недель по сравнению с исходным контролем.

[0193] В некоторых вариантах реализации данного изобретения, снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по частоте смертности (временные рамки: От рождения до 12 месяцев КВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по частоте смертности по сравнению с исходным контролем.

[0194] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения или лечение ХЗЛ оценивают по реакции на воздействие инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1) (временные рамки: до 12 месяцев КВ). IGF-1 оценивается, например, с использованием (фармакокинетическо-фармакодинамических [ФК/ФД]) отношений между IGF-1 и респираторными и неврологическими показателями. В некоторых вариантах реализации данного изобретения, композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ХЗЛ, что оценивается по реакции на воздействие инсулиноподобного фактора роста.

Внутрижелудочковое кровоизлияние

[0195] Внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК) представляет собой опасное для жизни состояние у недоношенных младенцев, характеризующееся кровоизлиянием в желудочки головного мозга и вокруг них, пространства в головном мозге, содержащие спинномозговую жидкость. Внутрижелудочковое кровоизлияние чаще всего встречается у недоношенных детей, особенно у рожденных до 28 недель гестационного возраста.

[0196] У детей с респираторными заболеваниями, такими как респираторный дистресс-синдром (РДС) или другие осложнения у недоношенных младенцев, чаще развивается ВЖК.

[0197] ВЖК связано с серьезными осложнениями, включая перивентрикулярный геморрагический инфаркт, постгеморрагическую дилатацию желудочков, перивентрикулярную лейкомаляцию и кровоизлияние в мозжечок, что приводит к смерти и тяжелому течению заболевания. Другие осложнения включают постгеморрагическую гидроцефалию, церебральный паралич и умственную отсталость, а также длительные нарушения развития нервной системы.

[0198] Текущие стандартные меры профилактики и/или лечения ВЖК основаны на назначении антенатальных стероидов, раннем лечении и стабилизации церебральной гемодинамики и респираторной поддержке. Предсказание дальнейшего течения болезни связано с тяжестью кровотечения, повреждением паренхимы головного мозга, наличием судорог и тяжестью перивентрикулярного геморрагического инфаркта. Лечение ВЖК включает поддерживающее лечение симптомов с помощью лекарств для уменьшения кровотечения и повреждения головного мозга, а также предотвращения судорог.

[0199] В некоторых аспектах в данном документе предложен способ лечения или предотвращения ВЖК, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и поверхностно-активное вещество (например, полисорбатное поверхностно-активное вещество, например полисорбат 20).

[0200] В некоторых аспектах в данном документе описаны способы лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий

инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество в концентрации от около 0,0025% до около 0,0075%, при этом rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплексы в эквимольных количествах, и причем rIGF-1/IGFBP-3 находится в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл. В некоторых аспектах в данном документе описаны способы лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), в терапевтическом количестве, достаточном для снижения частоты внутрижелудочковых кровоизлияний по сравнению с контрольной группой.

[0201] Степени ВЖК квалифицируют следующим образом: I степень - кровоизлияние в область зародышевого матрикса, очень небольшое кровоизлияние или отсутствие кровоизлияния в желудочек; II степень - кровоизлияние, заполняющее 10–50% желудочка; III степень - кровоизлияние, заполняющее более 50% желудочка; IV степень (ПВГИ) - перивентрикулярная эхоплотность. Данное кровоизлияние, которое ранее называлось IV степенью, в данное время классифицируется как перивентрикулярный геморрагический инфаркт (ПВГИ). Степень I и II определяется как легкая степень, а степень III и ПВГИ определяются как тяжелая степень. В таблице 1 представлена оценка ультразвукового изображения черепа при ВЖК.

[0202] Таблица 1: Оценка ультразвукового изображения черепа при ВЖК

<i>Оценки ВЖК по способу Вольпе</i>	
Степень тяжести	Описание
I степень	КГМ без ВЖК или с минимальным ВЖК (<10% площади желудочка в парасагиттальной проекции)
II степень	ВЖК занимает 10–50% площади желудочков в парасагиттальной проекции.
III степень	ВЖК >50% площади желудочков в парасагиттальной проекции; обычно расширяет боковой желудочек
IV степень	ВЖК на фоне геморрагического венозного инфаркта в перивентрикулярном белом веществе

[0203] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ВЖК II степени, ВЖК

III степени и ВЖК IV степени или ПВГИ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ВЖК II степени. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ВЖК III степени. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ПВГИ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения ВЖК II степени, ВЖК III степени и ВЖК IV степени или ПВГИ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения ВЖК II степени. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения ВЖК III степени. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения ВЖК IV степени или ПВГИ.

[0204] В некоторых вариантах реализации данного изобретения частоту возникновения ВЖК оценивают с помощью ультразвукового исследования черепа или УЗИ. Скрининг проводят через различные промежутки времени для обнаружения и оценки кровоизлияния в мозг, включая, например, в некоторых вариантах реализации данного изобретения, на 0-й, 1-й, 2-й, 3-й, 7-й, 14-й и 21-й день. В некоторых вариантах реализации данного изобретения УЗИ дополнительно проводят в 32 недели ПМВ, 33 недели ПМВ, 34 недели ПМВ, 35 недель ПМВ, 36 недель ПМВ, 37 недель ПМВ, 38 недель ПМВ, 39 недель ПМВ или 40 недель ПМВ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения УЗИ дополнительно проводят в 36 недель ПМВ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения УЗИ дополнительно проводят в 40 недель ПМВ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения однократное считывание (маскированное относительно лечения) используется для оценки всех ультразвуковых изображений на предмет КГМ-ВЖК высшей степени согласно способам Папила и Бауэрмана (Papile LA, et al. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J. Pediatr.* (1978). 92: 529-34; Bowerman RA, et al. Natural history of neonatal periventricular/intraventricular hemorrhage and its complications: sonographic observations. *AJR Am J. Roentgenol.* (1984) 143: 1041-52.)

[0205] В некоторых вариантах реализации данного изобретения отсутствие ВЖК и ВЖК I степени не группируются вместе. В некоторых вариантах реализации данного

изобретения использовались два независимых считывателя для апостериорного анализа, который также маскирован относительно лечения, для оценки перивентрикулярного геморрагического инфаркта (ПВГИ), и расхождения были устранены путем консенсуса. ВЖК оценивали в зависимости от степени тяжести согласно способу Вольпе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПГИ оценивают по способу Дудинка путем оценки локализации инфаркта вены хвостатого ядра, височной вены, передней терминальной вены и полного инфаркта терминальной вены (Dudink J. et al., Venous subtypes of preterm periventricular haemorrhagic infarction. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* (2008) 93:F201–6.).

[0206] В некоторых вариантах реализации данного изобретения ограниченный ПГИ оценивают, когда поражена только вена хвостатого ядра или височная вена, или при ультразвуковом исследовании черепа наблюдается небольшой инфаркт передней терминальной вены. В некоторых вариантах реализации данного изобретения обширный ПГИ оценивается по полному инфаркту терминальной вены или сочетанию инфарктов вены хвостатого ядра, височной вены и передней вены. Ультразвуковые изображения черепа также используются для выявления постгеморрагической дилатации желудочков (ПГДЖ) и повреждения белого вещества (ПБВ). (Davies, M.W. et al., Reference ranges for the linear dimensions of the intracranial ventricles in preterm neonates. *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed.*, 2000 82:F218-23; Govaert P. et al. *An Atlas of Neonatal Brain Sonography. 2nd Ed. London: Mac Keith Press, 2010*).). В некоторых вариантах реализации данного изобретения ПБВ оценивается с использованием четырехбалльной шкалы, как представлено в Таблице 2.

[0207] **Таблица 2. Степени постгеморрагической дилатации желудочков (ПГДЖ) и повреждения белого вещества**

Оценки ПГДЖ по способу Дэвиса	
Степень тяжести	Описание
0	Норма, ширина переднего рога < 3 мм
1	Легкая, ширина переднего рога от 3 до < 5 мм
2	Средняя, ширина переднего рога 5-10 мм.
3	Тяжелая, ширина переднего рога >10 мм.
Повреждение белого вещества по способу Говерта и де Фриза	
Оценивание	Описание

0	Стойкая перивентрикулярная гиперэхогенность или точечные поражения, отсутствие кист, отсутствие выраженной потери белого вещества (потеря белого вещества определялась как дилатация желудочка без кровоизлияния)
1	Стойкая перивентрикулярная гиперэхогенность или обширные точечные поражения, переходящие в диффузную потерю белого вещества без кист
2	Стойкая перивентрикулярная гиперэхогенность, переходящая в небольшие локализованные лобно-теменные кистозные поражения (ограниченная кистозная ПВЛ)
3	Стойкая перивентрикулярная гиперэхогенность, переходящая в обширные кистозные поражения (обширная кистозная ПВЛ)
Оценка тяжести черепно-мозговой травмы	
Оценивание	Описание
0	Нет аномалий головного мозга
1	КГМ, перивентрикулярная гиперэхогенность без потери белого или серого вещества и легко-умеренное повреждение головного мозга
2	ВЖК II, легкая ПГДЖ, инсульт перфорантной артерии
3	ВЖК III, стойкая умеренная ПГДЖ без использования шунта или устройства Рикхема, стойкая перивентрикулярная гиперэхогенность с диффузной потерей белого и/или серого вещества при досрочном краниальном УЗИ.
4	Ограниченный ПГИ, ограниченная ПВЛ, ПГДЖ с использованием шунта или устройства Рикхема, инсульт передней мозговой артерии, инсульт задней мозговой артерии, тяжелая травма мозжечка
5	Односторонний обширный ПГИ, обширная кистозная ПВЛ, легкий инсульт мозговой артерии, тяжелая глобальная атрофия головного мозга
6	Двусторонний обширный ПГИ

[0208] В некоторых вариантах реализации данного изобретения ВЖК оценивают с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ). МРТ оценивает повреждение белого вещества, размеры и локализацию кровоизлияния, связанные с исходами развития нервной системы.

[0209] В некоторых вариантах реализации данного изобретения консенсусная степень ВЖК присваивается каждому субъекту на основе наивысшей степени ВЖК,

наблюдаемой одним считывателем или, в случае нескольких считывателей, объединенным результатом маскированных считывателей.

[0210] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к оценке субъекта как проявляющего более низкую степень ВЖК по сравнению со степенью ВЖК при отсутствии лечения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения, например, снижение частоты возникновения патологического состояния относится к ВЖК I степени, а не к ВЖК II степени, III степени или IV степени до начала лечения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения патологического состояния относится к ВЖК I степени, а не к ВЖК III степени или IV степени до начала лечения. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения патологического состояния относится к ВЖК III степени, а не к ВЖК IV степени до начала лечения.

[0211] В некоторых вариантах реализации данного изобретения тяжесть ВЖК в зависимости от группы лечения определяли по кровотечению максимальной степени, наблюдаемому у каждого младенца в группе. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК в группе на 20-50%. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК в группе на 20%. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК в группе на 30%. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК в группе на 40%. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК в группе на 50%.

[0212] В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК IV степени (или ПВГИ) в группе на 20-50%. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК IV степени (или ПВГИ) в группе на 20%. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК IV степени (или ПВГИ) в группе на 30%. В некоторых вариантах реализации данного изобретения снижение частоты возникновения ВЖК относится к снижению частоты ВЖК IV степени

[0216] В некоторых вариантах реализации данного изобретения лечение ВЖК относится к введению терапевтической композиции (например, IGF-1/IGFBP-3), которая частично или полностью ослабляет, улучшает, облегчает, ингибирует, задерживает начало, предотвращает, уменьшает тяжесть и/или снижает частоту возникновения одного или более симптомов или признаков внутрижелудочкового кровоизлияния. В некоторых вариантах реализации данного изобретения субъект, получающий лечение, не проявляет признаков ВЖК и/или проявляет только ранние или легкие признаки ВЖК. В некоторых других вариантах реализации данного изобретения субъект, получающий лечение, проявляет один или более установленных признаков ВЖК. Соответственно, в некоторых вариантах реализации данного изобретения лечение означает предотвращение возникновения или прогрессирования ВЖК от легкой до тяжелой формы.

[0217] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения ВЖК. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения ВЖК.

Бронхолегочная дисплазия

[0218] Бронхолегочная дисплазия (БЛД) представляет собой серьезное заболевание легких, которое негативно воздействует на новорожденных. БЛД в основном поражает недоношенных младенцев и представляет собой нарушение дыхания, при котором легкие ребенка воспаляются и не развиваются нормально. БЛД в основном поражает недоношенных новорожденных, которым требуется оксигенотерапия, то есть кислород, подаваемый через носовые канюли, маску или дыхательную трубку. Чаще всего это происходит у детей с низким весом, рожденных более чем на 10 недель раньше срока или с массой тела менее 2 фунтов при рождении.

[0219] С тех пор, как данное заболевание было впервые описано в 1967 году, определение БЛД претерпело изменения. Первоначальное определение включало младенцев с потребностью в кислороде в течение 28 дней с соответствующими рентгенологическими изменениями. Данное определение БЛД было затем уточнено как относящееся к младенцам, нуждающимся в кислородной поддержке на 36-й неделе ПМВ, рожденных с массой тела при рождении <1500 г. В 2001 году НИЗ определил БЛД следующим образом: «Для тех, кто родился в гестационном возрасте < 32 недель, БЛД подразумевает потребность в кислородной поддержке (> 21%) в течение по меньшей мере

28 дней и последующей оценке на 36 неделе ПМВ или в день выписки, в зависимости от того, что наступит раньше. У тех, кто родился с ГВ >32 недель, БЛД подразумевает потребность в дополнительном кислороде (<21%) в течение по меньшей мере 28 дней и последующей оценке на 56-й день после рождения или в день выписки, в зависимости от того, что наступит раньше». Младенцы без потребности в кислороде классифицировались как имеющие легкую степень БЛД. Умеренная форма БЛД была диагностирована у тех, кому требовалось <30% кислорода, а тяжелая форма БЛД — у тех, кто нуждался в вентиляции с положительным давлением/постоянным положительным давлением и/или потребности в кислороде >30%. «Физиологическое определение» БЛД, предложенное в 2003 году, классифицировало младенцев как имеющих БЛД, которым «требовалось положительное давление и кислород $\geq 0,3$ на 36 неделе ПМВ». Напротив, те, которым требовалось $FiO_2 < 0,3$, требовали теста на снижение содержания кислорода в течение до 2 недель в зависимости от насыщения кислородом. Однако физиологическое определение оставалось менее популярным, чем функциональный критерий, согласно которому, если недоношенные новорожденные все еще нуждаются в оксигенотерапии к тому времени, когда они достигают 36-недельного постменструального возраста, им ставится диагноз БЛД.

[0220] Дети, у которых развивается БЛД, часто рождаются с респираторным дистресс-синдромом (РДС). Бронхолегочную дисплазию часто используют взаимозаменяемо с хроническим заболеванием легких у недоношенных детей, но БЛД представляет собой однократную оценку в 36 недель, в то время как ХЗЛ в широком смысле относится к хроническим и длительным или устойчивым заболеваниям легких, иногда у младенцев с ранее диагностированной БЛД или у младенцев, которым еще не поставили диагноз БЛД. Для практических целей БЛД обеспечивает релевантную, легко измеримую клиническую конечную точку для измерения исходов ХЗЛ, поскольку она более четко определена. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения БЛД. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способы, описанные в данном документе, используются для лечения БЛД. В некоторых вариантах реализации данного изобретения способы, описанные в данном документе, приводят отсутствию, легкой или менее тяжелой формы БЛД.

[0221] Некоторым новорожденным может потребоваться длительная оксигенация или поддержка дыхания с помощью аппаратов постоянного положительного давления в дыхательных путях (NCPAP), вентиляторов и лекарств, таких как бронходилататоры. У

них могут сохраняться проблемы с дыханием из-за хронического заболевания легких недоношенных в детстве и даже во взрослом возрасте.

[0222] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения бронхолегочной дисплазии. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения бронхолегочной дисплазии.

Легочная гипертензия

[0223] Антенатальные факторы, такие как хориоамнионит (ХА) и преэклампсия (ПЭ), а также послеродовые травмы, включая воздействие высоких уровней дополнительного кислорода, тесно связаны с повышенным риском бронхолегочной дисплазии (БЛД) и легочной гипертензии (ЛГ) после преждевременных родов.

[0224] Стойкая легочная гипертензия новорожденного возникает, когда система кровообращения новорожденного не адаптируется к дыханию вне матки. Находясь в утробе матери, плод получает кислород через пуповину, поэтому легкие нуждаются в небольшом кровоснабжении. Это может привести к таким симптомам, как учащенное дыхание, затрудненное дыхание и/или низкое насыщение кислородом.

[0225] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения легочной гипертензии. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения легочной гипертензии.

Гипертрофия правого желудочка

[0226] Гипертрофия правого желудочка (ГПЖ) представляет собой аномальное утолщение или патологическое увеличение мышечной массы правого желудочка в ответ на перегрузку давлением, чаще всего из-за тяжелого заболевания легких. Правый желудочек значительно меньше левого желудочка и производит электрические силы, которые в значительной степени скрыты от сил, генерируемых более крупным левым желудочком.

[0227] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения

ГПЖ. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения ГПЖ.

Некротизирующий энтероколит

[0228] Некротизирующий энтероколит (НЭК) представляет собой сопутствующее заболевание недоношенных, которое также может возникать у младенцев с манифестацией хронического заболевания легких недоношенных. Некротический энтероколит поражает преимущественно кишечник недоношенных младенцев. В стенку кишечника проникают бактерии, вызывающие местную инфекцию и воспаление, которые в конечном итоге могут разрушить стенку кишечника (кишечник).

[0229] В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, приводят к снижению частоты возникновения НЭК. В некоторых вариантах реализации данного изобретения композиции и способы, описанные в данном документе, используются для лечения НЭК.

[0230] В еще одном аспекте предложен способ производства белкового комплекса, содержащего инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), причем способ включает использование контактной поверхности, отличной от нержавеющей стали, такой как одноразовый пакет, во время смешивания комплекса с раствором состава, при этом в белковом комплексе, изготовленном таким способом, увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет, например, менее 20% при хранении в течение 6 месяцев при 25 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет менее 5% при хранении в течение 6 месяцев при 25 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет менее 2% при хранении в течение 6 месяцев при 25 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет, например, менее 10% при хранении в течение 3 месяцев при 40 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет, например, менее 2% при хранении в течение 3 месяцев при 40 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения около менее 5-25% (*например*, около менее 10%) белкового комплекса находится в виде низкомолекулярных форм при хранении в течение 6 месяцев при 40 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения около менее 5-15% (*например*, около менее 10%) белкового комплекса находится в виде низкомолекулярных форм при хранении в

течение 3 месяцев при 40 °С. В некоторых вариантах реализации данного изобретения раствор состава содержит поверхностно-активное вещество (*например*, полисорбат 20) в концентрации от около 0,0025 об./об. до около 0,0075 об./об. (*например*, 0,0025 % об./об.).

[0231] Одноразовые пакеты представляют собой одноразовые технологические емкости с инертной контактной поверхностью, отличной от нержавеющей стали. В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовый пакет изготовлен из высокочистой композитной пленки медицинского назначения, которая является прочной, гибкой и обеспечивает отличные характеристики газонепроницаемости, что делает ее пригодной для биотехнологии лекарственного препарата в стерильных условиях, что приводит к уменьшению количества окисленных форм, улучшенной эффективности и стабильности лекарственного препарата. В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовый пакет используется во время смешивания, причем смешивание, перемешивание и приготовление лекарственного вещества IGF-1/IGFBP-3 в растворе состава, включающем эксципиенты (хлорид натрия, ацетат натрия, уксусную кислоту и полисорбат 20), проводят с целью получения лекарственного продукта IGF-1/IGFBP-3, при этом композиция имеет уровень рН около 5,3-5,8. В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовый пакет дополнительно используется на этапе фильтрации лекарственного препарата. Способ включает, например, заполнение на около 20-80% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации. В некоторых вариантах реализации данного изобретения объем одноразового пакета составляет около или более 500 л.

[0232] В некоторых вариантах реализации данного изобретения хранение и транспортировка дополнительно осуществляются в одноразовом пакете. В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовые пакеты имеют толщину от 0,1 мм до около 0,5 мм. В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовые пакеты имеют толщину от 0,25 мм до около 0,35 мм.

[0233] В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовый пакет содержит полиэтилен сверхнизкой плотности (ULDPE), контактирующий с жидкостью. В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовый пакет содержит газонепроницаемый материал, содержащий сополимер полиэтилена и винилового спирта (EVON). В некоторых вариантах реализации данного изобретения внешние слои одноразового пакета содержат полиэтиленвинилацетат (PEVA) и ULDPE. В некоторых вариантах реализации данного изобретения одноразовый пакет содержит

полиэтиленвинилацетат (PEVA), контактирующий с поверхностью жидкости. В некоторых вариантах реализации данного изобретения газонепроницаемый барьер содержит сополимер полиэтилена и винилового спирта (EVOH). В некоторых вариантах реализации данного изобретения внешний слой одноразового пакета содержит линейный полиэтилен низкой плотности (LLDPE). В некоторых вариантах реализации данного изобретения предложена система для реализации описанных в данном документе способов. В некоторых вариантах реализации данного изобретения система содержит композицию, содержащую rhIGF-1, rhIGFBP-3 и полисорбатное поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат 20 или полисорбат 80. В некоторых вариантах реализации данного изобретения система содержит описанную в данном документе композицию во флаконе из стекла или другого подходящего материала.

[0234] В некоторых вариантах реализации данного изобретения также предложено изделие, содержащее упаковочный материал и фармацевтическое средство, содержащийся в упаковочном материале. Упаковочный материал содержит этикетку, на которой указано, что фармацевтическое средство можно вводить в течение достаточного периода времени в эффективной дозе для лечения и/или предотвращения осложнений, связанных с преждевременными родами. Фармацевтическое средство содержит композицию IGF-I/IGFBP-3 вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

[0235] В одном варианте реализации данного изобретения состав предложен в виде единицы, содержащей 50 мкг/мл раствора rhIGF-1/rhIGFBP-3 в 50 mM ацетата натрия и 105 mM хлорида натрия с 0,005% (об./об.) полисорбата 20, при уровне pH 5,5, при температуре хранения от 2°C до 8°C (от 36°F до 46°F).

[0236] В одном варианте реализации данного изобретения фармацевтическая композиция согласно данному изобретения предложена в виде конечного продукта в инфузионном пакете или стеклянном флаконе, содержащем приблизительно 6,5 мл экстрагируемого объема.

[0237] Данное изобретение будет дополнительно охарактеризовано следующими примерами, которые предназначены для иллюстрации данного изобретения.

[0238] «Содержащий» в контексте данного описания означает «включающий».

[0239] Там, где это технически целесообразно, варианты реализации данного изобретения могут быть объединены, в частности, когда способы описывают элементы

композиции, эта комбинация признаков может использоваться для определения композиции как таковой, и наоборот.

[0240] Справочная информация содержит техническую информацию и может быть использована в качестве основы для поправок.

[0241] Варианты реализации данного документа описаны в данном документе как содержащие определенные признаки/элементы. Данное описание также распространяется на отдельные варианты реализации данного изобретения, состоящие или в основном состоящие из указанных признаков/элементов.

[0242] Технические ссылки, такие как патенты и заявки, включены в данный документ посредством ссылки.

[0243] Любые варианты реализации данного изобретения, конкретно и явно упомянутые в данном документе, могут составлять основу для отказа от одного или более пунктов патентной формулы либо сами по себе, либо в сочетании с одним или более дополнительными вариантами реализации данного изобретения.

[0244] Данная заявка заявляет приоритет согласно предварительной заявки США № 63/093,696, поданной 19 октября 2020 г., включенной в данный документ посредством ссылки. Данные документы могут быть использованы в качестве основы для исправлений.

[0245] Теперь изобретение будет описано со ссылкой на следующие примеры, которые являются просто иллюстративными и не должны рассматриваться как ограничивающие объем данного изобретения.

ПРИМЕРЫ

Хотя некоторые соединения, композиции и способы, описанные в данном документе, были описаны конкретно в соответствии с некоторыми вариантами реализации данного изобретения, следующие примеры служат только для иллюстрации соединений по данному изобретению и не предназначены для его ограничения.

Пример 1. Оценка стабильности лекарственного препарата Мекасермин Ринфабат при использовании в присутствии и в отсутствие 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20)

[246] Этот пример демонстрирует стабильность при использовании и/или совместимость лекарственного препарата rhIGF-1/rhIGFBP-3 в присутствии и в отсутствие

0,005% полисорбата 20 (P20) при симуляции введения в худшем варианте в фазе 2 шведской модели инфузионной системы в течение 48 часов при комнатной температуре.

[247] В общих чертах, была проведена оценка двух составов лекарственного препарата: лекарственного препарата фазы 2 (процесс А) (50 мкг/мл мекасермина ринфабата в 50 мМ ацетата натрия с 105 мМ хлорида натрия, уровень рН 5,5) в отсутствие полисорбата 20, и состава лекарственного препарата Фазы 3 (Процесс В), который состоял из состава Фазы 2, содержащего 0,005% (об./об.) полисорбата 20.

[248] Во время клинических исследований Фазы 2 инфузионные наборы должны были быть заполнены и промыты лекарственным продуктом в течение как минимум одного часа, чтобы предотвратить потерю продукта в инфузионных наборах, связанную с адсорбцией, и убедиться, что недоношенные новорожденные получили введенную дозу лекарственного препарата, составляющую 250 мкг/кг/24 часа. Было замечено, что при использовании «сухих» инфузионных наборов без какой-либо заливки или промывки лекарственным средством или любым другим раствором перед введением в инфузионном наборе происходила потеря продукта, связанная с абсорбцией («введение в худшем варианте»).

[249] Поскольку концентрация лекарственного препарата очень низкая (50 мкг/мл), а буфер для препарата Фазы 2 не содержит поверхностно-активных веществ, которые предотвращают или уменьшают адсорбцию белка на различных полимерных поверхностях, было проведено исследование с целью изучения эффекта добавления 0,005% P20 в лекарственный продукт на потерю продукта, связанную с адсорбцией, и общих показателей качества лекарственного продукта, таких как чистота, уровень рН, внешние показатели и активность во время введения.

[250] Экспериментальный инфузионный набор, который использовался в качестве модели для этого исследования, ранее использовался в Каролинске, Швеция, в исследованиях Фазы 2. Приблизительно 19 мл лекарственного препарата в любом из составов, с P20 и без него, помещали в шприц объемом 20 мл, и каждый набор для инфузий был помечен в соответствии с используемым составом; объем лекарственного препарата в шприце был выбран в соответствии с требованиями тестирования. Затем шприц присоединяли к уже собранному (сухому) инфузионному набору (Фиг. 1). Приблизительно 3 мл лекарственного препарата немедленно выливали из инфузионного набора и собирали в чистый стеклянный флакон; этот образец служил в качестве

лекарственного препарата для сравнения, который не содержался длительное время в инфузионном наборе.

[251] Для каждого лекарственного препарата (с P20 или без него) использовали два независимых инфузионных набора. Были приготовлены два контрольных инфузионных набора, которые служили в качестве контроля буфера и использовались для коррекции концентрации белка. Из-за низкой концентрации белка в лекарственном препарате и использования технологии переменной длины пути для определения концентрации белка необходимо устранить помехи абсорбции, возникающие, вероятно, из-за выщелачивания. Для этого были приготовлены соответствующие контрольные буферы для исследования, которые подвергались точно такому же воздействию, как лекарственный препарат; буферы помещали в шприц и выдерживали в инфузионных наборах в течение 0, 1, 4, 8, 24 и 48 часов. Затем контрольные буферы использовали для корректировки концентрации белка для неизвестных поглощающих свет веществ, которые формируют фоновые значения.

[252] Данные показали, что добавление 0,005% (об./об.) P20 снижает потери продукта, связанные с адсорбцией, а также улучшает другие качественные характеристики (например, эффективность) лекарственного препарата во время введения в модельный инфузионный набор в течение 48 часов, и что не было необходимости заполнять и промывать инфузионные наборы перед введением лекарственного препарата.

[253] Результаты исследования показали, что качество лекарственного препарата в составе Фазы 3 сохранялось до 48 часов в инфузионном наборе при хранении при комнатной температуре при воздействии окружающего света и температуры после добавления 0,005% P20 в буфер состава лекарственного препарата.

[254] После сбора исходного образца лекарственного препарата, подвергнутого воздействию шприца, лекарственный препарат помещали в набор для инфузии и отбирали образцы через 1, 4, 8, 24 и 48 часов (Таблица 3) при воздействии окружающего света и температуры. Образцы визуально осматривали сразу после сбора. Образцы содержались охлажденными до тех пор, пока они не были готовы к тестированию в конце 48-часового исследования, которое включало измерение уровня pH, концентрации белка (A276 нм), RP-UPLC и SE-HPLC. Образцы также были выборочно протестированы на активность (в исходном состоянии и через 48 часов) с использованием низкопроизводительного анализа активности клеточной пролиферации. Дополнительные флаконы с лекарственным средством были подготовлены и сохранены, чтобы служить в качестве контроля

лекарственного средства, не подвергавшегося воздействию шприца (исходный уровень) для всех анализов.

[255] Таблица 3. Свойства лекарственного препарата, изучаемые в отсутствие и в присутствии P20.

Время сбора образцов (ч)	Состав лекарственного препарата без P20					Состав лекарственного препарата с P20				
	Визуальное наблюдение	Уровень pH	Конц. Solo VPE	RP-UPLC	SE-HPLC	Визуальное наблюдение	Уровень pH	Конц. Solo VPE	RP-UPLC	SE-HPLC
Исходный уровень при контакте со шприцем Контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

[256] Визуальное наблюдение лекарственного препарата, а также за контроля буферного состава для обоих составов (с P20 и без него) проводили в каждый момент времени. Лекарственный препарат и образцы составов не продемонстрировали тенденции в отношении присутствия частиц или волокон. Никаких изменений уровня pH ни в одном из лекарственных препаратов (с P20 и без него) не наблюдалось в каждый момент времени исследования.

[257] Концентрацию белка в лекарственном продукте измеряли в течение 48-часового исследования до и после коррекции буфера (Фиг. 2). Во время измерений концентрации белка наблюдалось увеличение концентрации в более поздние моменты времени, что было связано с потенциальными неизвестными веществами, которые влияли на измерения концентрации белка. Поэтому контрольные составы с P20 и без него также были приготовлены для корректировки влияния неизвестных веществ на концентрацию белка.

[258] Данные показали, что меньшая потеря белка, связанная с адсорбцией, наблюдалась, когда в составе присутствовал P20. Например, в течение начального периода инфузии в течение 4 часов и после коррекции влияния неизвестных светопоглощающих веществ на содержание белка, потеря белка составляла в 3 раза меньше для лекарственного препарата в составе, содержащем P20, по сравнению с лекарственным препаратом в составе, не содержащем P20. Увеличение концентрации белка на 48-часовой временной точке даже после корректировки буфера связано с фоновым значением из-за выщелачивания.

[259] В целом, результаты показали, что добавление P20 предотвратило потерю продукта, связанную с адсорбцией, в модельном наборе для инфузии в течение 48 часов при комнатной температуре. Улучшение было замечено при первом взаимодействии лекарственного препарата и «сухого» инфузионного набора в течение периода времени до 4 часов. Нет необходимости заполнять и промывать инфузионные наборы перед введением лекарственного препарата после добавления 0,005% полисорбата 20 в состав лекарственного препарата.

[260] Совместимость встроенных фильтров оценивали для двух типичных встроенных фильтров. Была протестирована средняя доза около 5,5 мл на около 1 кг веса для новорожденных.

[261] Таблица 4. Оценка содержания белка до и после встроенной фильтрации

Фильтр	Лекарственный препарат	Концентрация белка (микрограмм/мл)	
		Перед фильтрацией	После фильтрации
Комплект фильтров MX1480	Лекарственный препарат	48,1	32,1
	Лекарственный препарат с 0,005% (об./об.) полисорбата 20	48,6	45,5
Неонатальный/педиатрический 0,22 микрометра, 96-часовой фильтр для внутривенных вливаний	Лекарственный препарат	46,6 ± 1,1	31,5 ± 0,6
	Лекарственный препарат с 0,005% (об./об.) полисорбата 20	50,8 ± 0,8	53,8 ± 0,4

[262] В отсутствие полисорбата 20 наблюдалась значительная потеря лекарственного препарата в обоих примерах типовых встроенных фильтров.

[263] Потеря содержания белка, наблюдаемая при отсутствии P20, нежелательна, поскольку у новорожденных невозможно увеличить объем дозы для введения более высоких эффективных доз из-за суточного ограничения вводимой жидкости у новорожденных.

Пример 2. Измерение чистоты лекарственного препарата Мекасермин Ринфабат в составах с и без 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20) с помощью SE-HPLC и RP-UPLC

[264] Этот пример демонстрирует чистоту лекарственного препарата в составах в присутствии и в отсутствие 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20).

[265] Для сравнения чистоты лекарственного препарата в присутствии и в отсутствие 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20) был проведен с помощью способа эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (SE-HPLC). Анализ был проведен с оптимизацией загрузки колонки для наилучшего определения профиля и сигнала.

[266] Таблица 5. Общие данные стабильности лекарственного препарата в инфузионном наборе без полисорбата 20 при температуре окружающей среды¹

Анализ	Предлагаемые целевые критерии		Исходное значение ²	Исходные значения при воздействии шприца	1 час	4 часа	8 часов	24 часа	48 часов
Внешнее наблюдение и описание									
Внешнее наблюдение	От прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до слегка окрашенного, практически без частиц.	Т	Соответствует	Прозрачный, бесцветный, мелкие и крупные волокна ³	Соответствует	Прозрачный, бесцветный, 1 мелкая белая частица	Прозрачный, бесцветный, с 1 коротким волокном	Соответствует	Прозрачный, бесцветный, с небольшим количеством мелких волокон
		Е							
		Б	NA	Прозрачный, бесцветный, мелкие и крупные	Прозрачный, бесцветный, мелкое и 1 крупное	NT	NT	NT	Прозрачный, бесцветный с 1 небольшим
		У							
		Ф							
		Е							
		Р							

			ВОЛОКНА	ВОЛОКНО				ВОЛОКНО М	
Чистота и примеси									
Эксклюзивная HPLC	≥92% площади основного пика	93,9%	94,4%	94,5%	94,8%	94,6%	94,9%	95,3%	
	≤8% площади высокомолекулярного пика ⁴	4,1%	3,8%	3,8%	3,7%	3,7%	3,7%	3,1%	
RP-UPLC	≥95% площади основного пика	97,3%	97,3%	97,0%	96,1%	96,0%	95,3%	95,6%	
	Отчет о результатах для площади пика окисленного rhIGF1	2,1%	2,1%	2,3%	3,2%	3,2%	3,4%	3,5%	
Активность									
Анализ пролиферации клеток	от 50% до 150% относительной активности	76%	NT				57%		
Содержание									
Концентрация белка	от 45 до 55 мкг/мл	43 ⁵	32	38	38	NT	39	48	
Общее									
pH	5,5±0,3	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	
<p>NT: Не исследовано NA: Неприменимо 1. Показаны средние данные для двух инфузионных наборов, за исключением внешнего наблюдения и выбранных моментов времени измерения концентрации. 2. Образцом для исходных значений является лекарственный препарат во флаконе (n=1). 3. Данные приведены для худшего варианта, когда частица наблюдалась по меньшей мере в 1 из 2 флаконов. Хотя флаконы для сбора были промыты и депирогенизированы, контролируемое исследование очищенной воды в флаконах для сбора (3 мл) показало, что с использованием воды наблюдались мелкие и</p>									

крупные волокна. Флаконы для сбора были заменены на чистые, объемом 5 мл, флаконы для сбора для моментов времени от 4 до 48 часов.

4. Высокмолекулярные соединения представляют собой сумму пиков 4, 5 и 6 в профиле SE-HPLC. Получаемое значение представляет собой среднее значение данных двух независимых исследований, проводившихся в процессе эксплуатации.

5. Значение концентрации было получено после коррекции буфера: значение без коррекции буфера составляет 47 мкг/мл.

[267] Таблица 6. Общие данные стабильности лекарственного препарата в инфузионном наборе с добавлением полисорбата 20 при температуре окружающей среды¹

Анализ	Предлагаемые целевые критерии		Исходное значение ²	Исходные значения при воздействии шприца ¹	1 час	4 часа	8 часов	24 часа	48 часов
Внешнее наблюдение и описание									
Внешнее наблюдение	От прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до слегка окрашенного, практически без частиц.	Тестовые наборы	Соответствует	Прозрачный, бесцветный, мелкие и крупные волокна ³	Прозрачный, бесцветный, мелкие и крупные волокна ³	Прозрачный, бесцветный, 1-2 мелких волокна.	Прозрачный, бесцветный, 1 длинное волокно	Соответствует	Прозрачный, бесцветный, мелкие и крупные волокна
		Буферные наборы	NA	Прозрачный, бесцветный, 1 мелкое и 1 крупное волокно ⁴	Прозрачный, бесцветный, 1 крупное волокно ³	Прозрачный, бесцветный, 1 мелкое волокно, 1 мелкая частица	Прозрачный, бесцветный, 1 крупное, 1 средние и мелкие волокна ⁴	Прозрачный, бесцветный, 1 длинное, 1 короткое волокно	Соответствует
Чистота и примеси									
Эксклюзивная HPLC	≥92% площади основного пика		95%	94,6%	93,8%	94,4%	94,6%	94,7%	95,3%

	≤8% площади высокомолекулярного пика ⁵	3,7%	3,7%	3,8%	3,6%	3,5%	3,5%	3,1%
RP-UPLC	≥95% площади основного пика	98%	97,7%	97,5%	97,1%	96,3%	95,8%	95,6%
	Отчет о результатах для площади пика окисленного rhIGF1	1,7%	1,7%	1,9%	2,3%	2,9%	3,4%	3,5%
Активность								
Анализ пролиферации клеток	от 50 до 150% относительной активности	90%	Не исследовано					83%
Внешнее наблюдение и описание								
Концентрация белка	от 45 до 55 мкг/мл	49	45	45	47	45	41	49
Общее								
pH	5,5±0,3	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5
<p>NA: Неприменимо NT: Не исследовано</p> <ol style="list-style-type: none"> Показаны средние данные для двух инфузионных наборов, за исключением внешнего наблюдения и выбранных моментов времени измерения концентрации. Образцом для исходных значений является лекарственный препарат во флаконе (n=1). Данные приведены для худшего варианта, когда частица наблюдалась по меньшей мере в 1 из 2 флаконов. Хотя флаконы для сбора были промыты и депирогенизированы, контролируемое исследование очищенной воды в флаконах для сбора (3 мл) показало, что с использованием воды наблюдались мелкие и крупные волокна. Флаконы для сбора были заменены на чистые, объемом 5 мл, флаконы для сбора для моментов времени от 4 до 48 часов. Был выполнен отдельный этап инфузии для внешнего наблюдения буфера препарата с P20 через 4 дня после изначального исследования. Высокомолекулярные соединения представляют собой сумму пиков 4, 5 и 6 в профиле SE-HPLC. Получаемое значение представляет собой среднее значение данных двух независимых исследований, проводившихся в процессе эксплуатации. 								

[268] Данные показали, что меньшая потеря белка, связанная с адсорбцией, наблюдалась, когда данные P20 SE-HPLC демонстрировали аналогичную чистоту (процент площади комплексного пика) для лекарственного препарата в составах, хранившихся в наборе для инфузии до 48 часов (Таблицы 5 и 6). Наблюдали три соединения с высокой молекулярной массой (HMW), которые суммировали, чтобы получить качественное значение для соединений с высокой молекулярной массой в составах в отсутствие P20 (Фиг. 3А) и в присутствии P20 (Фиг. 3В). HMW нежелательны, поскольку они способствуют снижению стабильности продукта, повышению агрегации и повышению иммуногенности.

Пример 3. Измерение деградации лекарственного препарата Мекасермин Ринфабат в составах с и без 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20) с помощью RP-UPLC

[269] Этот пример демонстрирует типовое разложение мекасермина ринфабата путем окисления.

[270] Чтобы исследовать степень деградации мекасермина ринфабата, была проведена сверхвысокоэффективная хроматография с обращенной фазой (RP-UPLC) для мониторинга окисления IGF1 в белковом комплексе IGF-1/IGF1-ВР3.

[271] Данные RP-UPLC продемонстрировали небольшое увеличение процента окисленного IGF1 после 48 часов выдержки в инфузионных наборах по сравнению с исходным уровнем в обоих составах (Фиг. 4).

[272] Этот анализ также отслеживает процент площади пика для белков IGF-1 и IGFBP-3 по-отдельности; увеличение окисления IGF-1 совпало с уменьшением процентной площади пика IGF-1, в то время как процентное содержание IGFBP-3 существенно не изменилось. Процентное снижение IGFBP-3 составило приблизительно 0,6% для состава, не содержащего P20, по сравнению с 0,1%, когда в составе присутствовал P20. В таблицах 5 и 6 представлен процент окисленного IGF-1 и сумма площадей пиков IGF-1 и IGFBP-3; последний представлен как процент площади основного пика.

Пример 4. Измерение эффективности лекарственного препарата Мекасермин Ринфабат в составах с и без 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20)

[273] Этот пример демонстрирует типовое влияние присутствия 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20) в составе мекасермина ринфабата на эффективность лекарственного препарата.

[274] Чтобы исследовать влияние присутствия или отсутствия 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20) в составе на эффективность лекарственного препарата мекасермин ринфабат, отобранные образцы тестировали на активность на исходном уровне и после выдержки 48 часов, в составах, содержащих 0,005 % (об./об.) P20 или в отсутствие 0,005% P20.

[275] В наихудшем варианте, когда инфузионные наборы не были заполнены и не промыты лекарственным продуктом, имело место снижение эффективности на 25%, в случае, когда буфер состава не содержал P20, по сравнению со снижением эффективности только на 8% в случае, когда присутствовал полисорбат 20 (Таблица 7). Хотя оба значения можно рассматривать в диапазоне типичного отклонения анализа на основе клеток (от 70% до 130%), наблюдается приблизительно в 3 раза более низкая активность, когда полисорбат 20 не присутствует в составе лекарственного препарата.

[276] Таблица 7. Процент относительной эффективности лекарственного препарата после 48 часов выдержки в составе с полисорбатом 20 и без него

Образец лекарственного препарата	Процент относительной эффективности ¹	
	Без Полисорбата 20	С Полисорбатом 20
Исходное значение	76%	90%
Образцы лекарственных препаратов после 48 часов выдержки	57%	83%

¹Относительная эффективность выражается в процентах от демонстрационной версии препарата.

[277] Добавление полисорбата 20 улучшало общее качество продукта, поскольку в присутствии полисорбата 20 в лекарственном препарате наблюдалась более высокая активность.

[278] В совокупности результаты данных исследований продемонстрировали, что качество лекарственного препарата Фазы 3 сохраняется до 48 часов в инфузионном наборе при хранении при комнатной температуре при воздействии окружающего света и температуры.

Пример 5. Лекарственный препарат Мекасермин Ринфабат в составах с и без 0,005% (об./об.) полисорбата 20 (P20) или полисорбата 80 (P80)

[279] В данном примере сравнивали безопасность и токсичность воздействия полисорбата 20 и полисорбата 80 в составах лекарственного препарата мекасермин ринфабат.

[280] Неклинические данные для полисорбатов 20 и 80 были использованы для получения значений допустимой в/в дозы 0,02 мг/кг массы тела/день для недоношенных новорожденных и 0,08 мг/кг массы тела/день для доношенных младенцев и детей в возрасте до 1 года (Таблица 8).

[281] Таблица 8. Краткий отчет о воздействии полисорбата 20 из лекарственного препарата rhIGF-1/rhIGFBP-3 и других источников

Вес пациента	Ежедневное воздействие P20 из rhIGF-1/rhIGFBP-3	Ежедневное воздействие P20 из ППП	Ежедневное воздействие P20 из rhIGF-1/rhIGFBP-3 и ППП	Ежедневное воздействие P80 из ППП	Ежедневное общее воздействие P20 + P80 из ППП	Ежедневное воздействие P20 без признаков токсичности E-Ferol	Ежедневное воздействие P80 без признаков токсичности E-Ferol
0,4 кг	0,11 мг	0,24 мг	0,36 мг	15 мг	15,24 мг	3,2 мг	28,8 мг
1,7 кг	0,47 мг	0,52 мг	0,99 мг	32,5 мг	33,02 мг	13,6 мг	122,4 мг

ППП = полное парентеральное питание

[282] Основываясь на этих сравнениях, нет никаких токсикологических опасений, связанных с

незначительным дополнительным количеством полисорбата 20, которое пациенты получают из

лекарственного препарата rhIGF-1/rhIGFBP-3, относительно количества полисорбата 20 и полисорбата 80,

которые пациенты уже получали бы из продуктов полного парентерального питания.

Пример 6. Производство Мекасермина Ринфабата в одноразовом пакете

[283] Данный пример демонстрирует роль контактного материала в процентном окислении и стабильности IGF-1/IGFBP-3.

[284] Лекарственный препарат, изготовленный с использованием емкостей из нержавеющей стали или одноразовых пакетов, анализировали на предмет окисления. Вкратце, эксципиенты (хлорид натрия, ацетат натрия, уксусная кислота и полисорбат 20)

смешивали. Затем эксципиенты фильтровали и смешивали с размороженным лекарственным веществом, которое смешивали с лекарственным продуктом, комплексом IGF-1/IGFBP-3. Нерасфасованное лекарственное средство, смешанное с буфером, помещали либо в емкость из нержавеющей стали объемом 1000 л, либо в одноразовый пакет объемом 500 л (пакет Mobius MIX0500L Gold, включая магнитную мешалку) и фильтровали через фильтр (Optiscap XL10 0,22 мкм, мембрана Durapore PVDF) в приемную емкость из нержавеющей стали или пакет (включая магнитную мешалку). Две партии лекарственного препарата анализировали на процент окисленного IGF-1 с помощью RP-UPLC при выпуске партии и во время хранения.

[285] На **Фиг. 5** представлен процент окисленного IGF-1 в зависимости от времени и концентрации лекарственного препарата в емкости из нержавеющей стали в мелкомасштабной модели. Было замечено, что лекарственный препарат, который не контактировал с нержавеющей сталью, был менее склонен к окислению IGF-1 при всех концентрациях.

[286] Аналогичный эксперимент был повторен путем смешивания лекарственного препарата в стеклянной емкости и сравнения с составом лекарственного препарата в одноразовом пакете. На **Фиг. 6** представлен общий процент окисленного IGF-1 в зависимости от времени и свободного пространства над продуктом при использовании одноразовых пакетов и стеклянных емкостей. Было замечено, что препараты, смешанные в одноразовых пакетах, давали наименьшее окисление, за ними следовали составы, смешанные в стекле с 20% наполнением. Затем стабильность IGF-1 исследовали путем построения процентного соотношения основного пика (неокисленного IGF-1) в зависимости от времени при различных температурах. Было замечено, что лекарственный препарат, полученный в одноразовых пакетах, сохранял стабильность IGF-1 при всех протестированных температурах по сравнению с лекарственным препаратом, полученным с использованием емкостей из нержавеющей стали. Стабильность (построенная в процентах основного пика) представлена на **Фиг. 7А-Фиг. 7С**. Кроме того, процент окисленного IGF-1 наносили на график как функцию времени. Было замечено, что лекарственный препарат, полученный в одноразовых пакетах, имел более низкий процент окисленного IGF-1 при всех протестированных температурах по сравнению с лекарственным препаратом, полученным с использованием емкости из нержавеющей стали. Процент окисленного IGF-1 в зависимости от времени представлен на **Фиг. 8А-Фиг. 8С**.

Пример 7. Лечение ХЗЛ у экстремально недоношенных младенцев

[287] Исследуемый лекарственный препарат, комплекс инсулиноподобного фактора роста-1/белка 3, связывающего инсулиноподобный фактора роста (rhIGF-1/rhIGFBP-3), исследовали касательно терапевтического действия при лечении ХЗЛ. Используемый состав лекарственного препарата представлял собой 50 мкг/мл мекасермина ринфабата в 50 мМ ацетата натрия с 105 мМ хлорида натрия при уровне pH 5,5, содержащего 0,005% (об./об.) полисорбата 20.

[288] Исследование разработано как многоцентровое рандомизированное открытое контролируемое исследование с 3-мя группами для оценки клинической эффективности и безопасности терапевтической композиции для предотвращения у людей хронического заболевания легких у недоношенных. Данное исследование проводилось на субъектах до 12 месяцев скорректированного возраста (КВ) в сравнении с группой со стандартным неонатальным уходом за экстремально недоношенными младенцами. Исследование рассматривается и утверждается институциональным наблюдательным советом (IRB)/независимым комитетом по вопросам этике (IEC) ответственного учреждения.

[289] Цель: Целью данного исследования является определение того, может ли исследуемый препарат, содержащий rhIGF-1/rhIGFBP-3 (далее терапевтическая композиция), уменьшать респираторные осложнения у экстремально недоношенных детей в течение 12 месяцев скорректированного возраста (КВ) по сравнению с экстремально недоношенными детьми, получающими стандартную неонатальную помощь.

[290] Объекты исследования: Субъекты являются младенцы с гестационным возрастом (ГВ) от 23 недель + 0 дней до 27 недель + 6 дней. Субъекты включают оба пола. В исследование включено не менее пятидесяти субъектов.

[291] Критерий исключения: Критерии исключения включают обнаруживаемый тяжелый порок развития, известную или предполагаемую хромосомную аномалию, генетическое заболевание или синдром, по мнению исследователя. Критерии исключения также включают постоянный уровень глюкозы в крови менее (<) 2,5 миллимоль на литр (ммоль/л) при визите включения для исключения тяжелых врожденных аномалий метаболизма глюкозы; клинически значимое неврологическое заболевание по заключению исследователя; монозиготные близнецы; и любое другое состояние, которое может представлять риск для субъекта или мешать способности субъекта соблюдать протокол или мешать интерпретации результатов. Если субъект участвует или планирует

участвовать в клиническом исследовании другого исследуемого препарата, устройства или процедуры (участие в обсервационных исследованиях разрешается в каждом конкретном случае), то он исключается. Если субъект или его родитель или законный представитель (представители) не в состоянии соблюдать протокол или маловероятно, что он будет доступен для долгосрочного наблюдения, как это определено исследователем, субъект также исключается.

[292] Подробная информация о схеме исследования: Основной целью исследования является предупреждение бронхолегочной дисплазии и хронического заболевания легких недоношенных. Это открытое исследование, и экспериментальной моделью является параллельное оценивание. Контролируемые состояния представляют собой БЛД и ХЗЛ.

[293] 250 микрограмм/кг/24 часа терапевтической композиции вводят одной группе участников (Группа А) путем внутривенного введения (в/в) с рождения до постменструального возраста (ПМВ) 29 недель +6 дней. Другой группе участников (Группа В) вводят 400 микрограмм/кг/24 часа терапевтической композиции путем внутривенного введения (в/в) с рождения до постменструального возраста (ПМВ) 29 недель +6 дней. Третьей группе (группа С или контрольная группа) оказывается только стандартная неонатальная помощь.

[294] Основными оцениваемыми исходами являются частота возникновения хронического заболевания легких (ХЗЛ) недоношенных в течение 12 месяцев скорректированного возраста (КВ) [Временные рамки: Исходный уровень - 12 месяцев скорректированного возраста (КВ)]. ХЗЛ является частым неблагоприятным исходом преждевременных родов, приводящим к рецидивирующим респираторным симптомам, требующим лечения легочными препаратами, такими как бронхолитики, необходимости в дополнительном кислороде в домашних условиях, частых посещениях отделения неотложной помощи или повторных госпитализаций, особенно во время первого года жизни. ХЗЛ измеряется относительно использования респираторной медицинской помощи и наличия респираторных симптомов.

[295] Вторичные исходы включают частоту возникновения бронхолегочной дисплазии (БЛД) в постменструальном возрасте (ПМВ) 36 недель [Временные рамки: 36 недель ПМВ]. БЛД представляет собой хроническое заболевание легких, характеризующееся незрелостью легких, недифференцированными альвеолами с наличием гиалиновой мембраны и ателектаза, расширенными капиллярами,

погруженными в мезенхиму, и искаженным отложением внеклеточного матрикса. БЛД приводит к остаточному влиянию на функцию легких и связано с проблемами развития нервной системы в более позднем детстве.

[296] К вторичным исходам также относятся

- Частота возникновения тяжелых внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) III или IV степени в постменструальном возрасте (ПМВ) 40 недель [Временные рамки: Исходное значение – 40 недель ПМВ]
- Частота возникновения бронхолегочной дисплазии (БЛД) в постменструальном возрасте (ПМВ) 40 недель [Временные рамки: 40 недель ПМВ].
- Частота возникновения хронического заболевания легких (ХЗЛ) или смерть в течении 6 месяцев скорректированного возраста (КР) [Временные рамки: Исходный уровень – 6 месяцев скорректированного возраста (КВ)]. ХЗЛ является частым неблагоприятным исходом преждевременных родов, приводящим к рецидивирующим респираторным симптомам, требующим лечения легочными препаратами, такими как бронхолитики, необходимости в дополнительном кислороде в домашних условиях, частых посещений отделения неотложной помощи или повторных госпитализаций, особенно во время первого года жизни. ХЗЛ измеряется относительно использования респираторной медицинской помощи и наличия респираторных симптомов.
- Функциональный статус по оценке индекса недоношенных детей (PREMII) в постменструальном возрасте (ПМВ) 40 недель [Временные рамки: 36 недель ПМВ] PREMII представляет собой оценку результатов лечения, основанную на отчете врача (ClinRO), которая используется для оценки общей функциональной зрелости экстремально недоношенных новорожденных. Функциональный статус определяется как то, что младенец может делать в отношении 8 ключевых функциональных областей (кормление, прибавка в весе, терморегуляция, респираторная поддержка, апноэ, брадикардия, события десатурации и необходимость подачи кислорода), как отражение общего состояния здоровья и развития младенца.

Пример 8. Лечение внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК) у экстремально недоношенных детей с низким гестационным возрастом

[297] Изучено терапевтическое действие при внутрижелудочковом кровоизлиянии (ВЖК) исследуемого препарата, содержащего комплекс

инсулиноподобного фактора роста-1/белка 3, связывающего инсулиноподобный фактора роста (rhIGF-1/rhIGFBP-3) (50 мкг/мл мекасермина ринфабата в 50 мМ ацетата натрия с 105 мМ хлорида натрия, при уровне pH 5,5, содержащий 0,005% (об./об.) полисорбата 20). Исследование разработано как многоцентровое рандомизированное открытое контролируемое исследование с 3-мя группами для оценки клинической эффективности и безопасности терапевтической композиции для предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния. Данное исследование проводилось на субъектах в течении 36 недель ПМВ в сравнении с группой со стандартным неонатальным уходом (ЧНУ) за экстремально недоношенными детьми с гестационным возрастом <26 недель. Исследование рассматривается и утверждается институциональным наблюдательным советом (IRB)/независимым комитетом по вопросам этике (IEC) ответственного учреждения.

[298] Цель: Целью данного исследования было определение того, может ли исследуемый препарат, содержащий rhIGF-1/rhIGFBP-3 (далее терапевтическая композиция), снижать частоту внутрижелудочковых кровоизлияний у экстремально недоношенных детей до 36 недель ПМВ по сравнению с экстремально недоношенными детьми, получающими стандартную неонатальную помощь.

[299] Объекты исследования: Субъектами являются младенцы с гестационным возрастом (ГВ) менее 26 недель или <25 недель + 6 дней. Субъекты включают оба пола. В исследование включено не менее пятидесяти субъектов.

[300] Схема исследования: 250 микрограмм/кг/24 часа терапевтической композиции вводят одной группе участников (Группа А) путем внутривенного введения (в/в) с рождения до постменструального возраста (ПМВ) 29 недель +6 дней. Другой группе участников (Группа В) вводят 400 микрограмм/кг/24 часа терапевтической композиции путем внутривенного введения (в/в) с рождения до постменструального возраста (ПМВ) 29 недель +6 дней. Третьей группе (группа С или контрольная группа) оказывается только стандартная неонатальная помощь.

[301] У младенцев младшего гестационного возраста, где частота ВЖК выше, оценивают частоту ВЖК II/III/ПВГИ степени.

[302] Измеряемыми первичными исходами являются частота и тяжесть внутрижелудочковых кровоизлияний в постменструальном возрасте (ПМВ) 36 недель [Временные рамки: 36 недель ПМВ). ВЖК является распространенным неблагоприятным исходом преждевременных родов и контролировался с помощью ультразвукового исследования черепа.

[303] Вторичные исходы включают тяжесть и частоту бронхолегочной дисплазии (БЛД) в постменструальном возрасте (ПМВ) 36 недель [Временные рамки: 36 недель ПМВ). БЛД представляет собой хроническое заболевание легких, гистологически характеризующееся незрелостью легких, недифференцированными альвеолами с наличием гиалиновой мембраны и ателектаза, расширенными капиллярами, погруженными в мезенхиму, и искаженным отложением внеклеточного матрикса. БЛД приводит к остаточному влиянию на функцию легких и связано с нарушениями развития нервной системы в более позднем детстве.

[304] Анализ эффективности проводился на младенцах с ГВ <26 недель на 36 неделе ПМВ. Оценивалось относительное снижение ВЖК II/III/IV степени (ПВГИ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения субъекты наблюдаются до около 40 недель, 12 месяцев или 24 месяцев КВ.

Пример 9. Предупреждение БЛД у экстремально недоношенных младенцев

[305] Было проведено рандомизированное исследование влияния IGF-1/IGFBP-3 на осложнения у экстремально недоношенных младенцев, включая предупреждение БЛД, с помощью использования экспериментальной модели с параллельной оценкой. Исследование проводилось в нескольких центрах в Италии, Нидерландах, Польше, Швеции, Великобритании и США в период с 18 июня 2010 года по 30 марта 2016 года.

[306] Препарат Мекасермин Ринфабат, то есть IGF-1/IGFBP-3, вводили субъектам в виде непрерывной внутривенной инфузии с 0-го дня исследования (день рождения) до ПМВ 29 недель + 6 дней включительно, когда эндогенное продуцирование IGF-1 у субъекта считается достаточным для поддержания физиологических уровней IGF-1 в сыворотке. После прекращения инфузии исследуемого препарата каждый субъект наблюдался в течение ПМВ 40 недель ± 4 дня. Исследование было предназначено для определения дозы rhIGF-1/rhIGFBP-3, вводимой в виде непрерывной инфузии (CI), необходимой для установления и поддержания продольных уровней IGF-1 в сыворотке в пределах физиологических уровней у недоношенных младенцев, чтобы предотвратить ретинопатию недоношенных. Это была фаза 2, рандомизированное контролируемое, слепое исследование, подтверждающее дозу, фармакокинетику, безопасность и эффективность rhIGF-1/rhIGFBP-3. 61 участник получал инсулиноподобный фактор роста (rhIGF-I)/белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rhIGFBP-3) в дозе 250 микрограммов на килограмм (мкг/кг) в течение 24 часов посредством непрерывной внутривенной (в/в) инфузии, начиная с 0-го дня до 29 недель 6 дней постменструального

возраста (ПМВ). В качестве контрольной группы выступили 60 участников, которые получали только стандартное лечение. Таблица 3 иллюстрирует схему участников всего исследования.

Таблица 9. Схема участников: Общее исследование

	rhIGF-1/rhIGFBP-3	Стандартное лечение (контроль)
НАЧАЛИ	61	60
ЗАВЕРШИЛИ	46	46
НЕ ЗАВЕРШИЛИ	15	14
Досрочное исключение субъекта	2	1
Нежелательное явление	11	9
Отклонение от протокола	2	2
Административное решение	0	1
Другая неустановленная этиология	0	1

Таблица 10 иллюстрирует группу в исследовании.

	rhIGF-1/rhIGFBP-3	Стандартное лечение (Контроль)	Всего
Общее количество проанализированных участников [Единицы измерения: Участники]	61	60	121
Возраст [Единицы измерения: Недели] Среднее значение (стандартное отклонение)	25,60 (1,207)	25,62 (1,397)	25,61 (1,300)
Пол: Женский, мужской [Единицы измерения: Участники] Количество участников			
Участники женского пола	22 36,1%	21 35,0%	43 35,5%
Участники мужского пола	39 63,9%	39 65,0%	78 64,5%

[307] Вторичные результаты, среди прочих параметров, включали:

- Время выписки из отделения интенсивной терапии новорожденных (TDNIC) [Временные рамки: 0-й день - 40 недель постменструального возраста (EOS)]
- Количество участников с бронхолегочной дисплазией (БЛД) [Временные рамки: 36 недель постменструального возраста (EOS)]
- Степень тяжести БЛД такая как легкая, умеренная и тяжелая была основана на рекомендациях Национального института здоровья ребенка и развития человека (NICHD) для недоношенных младенцев, рожденных в гестационном возрасте (ГВ) менее (<) 32 недель.
- Легкая форма: потребность в кислороде в течение первых 28 дней, но прибывание на комнатном воздухе в ПМВ 36 недель или выписка домой, в зависимости от того, что наступит раньше.
- Умеренная форма БЛД: потребность в кислороде в течение первых 28 дней и потребность в кислороде <30 процентов (%) в ПМВ 36 недель или выписка домой, в зависимости от того, что наступит раньше.
- Тяжелая форма БЛД: потребность в кислороде в течение первых 28 дней и потребность в кислороде в более или равно (\geq)30%, предоставляемом через кислородную палатку или назальную канюлю, или постоянное положительное давление в дыхательных путях, или искусственную вентиляцию легких, или высокопотокую назальную канюлю ≥ 2 л/мин в ПМВ 36 недель или выписка домой, в зависимости от того, что наступит раньше.
- Скорость изменения массы тела [Временные рамки: 0-й день - 40 недель постменструального возраста (EOS)]. Скорость изменения представляет собой скорость изменения удельной массы тела в сутки в килограммах (кг).
- Скорость изменения роста [Временные рамки: 0-й день - 40 недель постменструального возраста (EOS)]
- Скорость изменения представляет собой изменение длины в сантиметрах (см) за день. Количество участников с нежелательным явлением, возникшим после лечения (НЯВЛ), и серьезным нежелательным явлением, возникшим после лечения (СНЯВЛ) [Временные рамки: 0-й день - 40 недель постменструального возраста (EOS)]
- Нежелательным явлением (НЯ) считалось любое неблагоприятное медицинское явление у участника, получавшего исследуемый препарат, без учета возможности

причинно-следственной связи. Серьезным нежелательным явлением (СНЯ) считалось НЯ, приведшее к любому из следующих исходов или считавшееся значимым по любой другой причине: смерть; начальная или длительная стационарная госпитализация; опасный для жизни опыт (непосредственный риск смерти); постоянная или значительная инвалидность/недееспособность; врожденная аномалия.

- Возникшее во время лечения нежелательное явление определяли как начало любого НЯ или ухудшение тяжести ранее существовавшего НЯ в любое время в день или после даты приема первой дозы исследуемого препарата.
- Процент концентраций IGF-1 в сыворотке, попадающих в целевой диапазон после инфузии rhIGF-1/rhIGFBP-3 [Временные рамки: 0-й день - 40 недель постменструального возраста (EOS)]
- Образцы сыворотки были собраны у пролеченных и контрольных участников для количественного определения IGF-1 с использованием проверенных иммуноанализов. Целевой диапазон IGF-1 в сыворотке составлял 28-109 мкг/л. Сообщалось о проценте уровней IGF-1 в сыворотке у получавших лечение участников, которые попадают в диапазон.
- Концентрация IGFBP-3 в сыворотке после внутривенной (в/в) инфузии rhIGF-1/rhIGFBP-3 [Временные рамки: 0-й день - 40 неделя постменструального возраста]
- Концентрации кислотолабильных субъединиц (ALS) в сыворотке после внутривенной (в/в) инфузии rhIGF-1/rhIGFBP-3 [Временные рамки: 7-й день - 40 неделя постменструального возраста]

Таблица 11 иллюстрирует измеренные значения БЛД как вторичного исхода.

	rhIGF-1/rhIGFBP-3	Стандартное лечение (контроль)
Количество проанализированных участников [Единицы измерения: Участники]	47	49
Количество участников с бронхолегочной дисплазией (БЛД) [Единицы измерения: Участники]		
Отсутствие БЛД	4	4
Легкая форма	23	16
Умеренная форма	9	5

	rhIGF-1/rhIGFBP-3	Стандартное лечение (контроль)
Тяжелая форма	10	22
Невозможно определить	1	2

[308] Статистический анализ количества участников с бронхолегочной дисплазией (БЛД) не проводился.

Пример 10. Анализ зависимости "экспозиция-ответ" IGF-1 после введения IGF-1 и IGFBP-3 у недоношенных младенцев

[309] Данный пример иллюстрирует ответ на содержание IGF-1 в сыворотке крови у экстремально недоношенных младенцев, получавших IGF-1/IGFBP-3.

[310] Вкратце, недоношенным младенцам вводят человеческую рекомбинантную форму встречающегося в природе белкового комплекса IGF-1 и белка-3, связывающего инсулиноподобный фактор роста, (rhIGF-1/rhIGFBP-3).

[311] Около 96 недоношенным младенцам ежедневно вводили rhIGF-1/rhIGFBP-3 в виде внутривенной инфузии, начиная с 24 часов после рождения и заканчивая 30-недельным постменструальным возрастом (ПМВ). Субъекты контрольной группы получали стандартную неонатальную помощь (СНП). Развитие БЛД оценивали с помощью кислородной нагрузки в ПМВ 36 недель.

[312] Средний гестационный возраст при рождении составлял 25,9 недели (и колебался в пределах 23,1-27,9 недели). Медиана массы тела при рождении составила 0,790 (от 0,425 до 1,22). Были построены модели логарифмической регрессии для оценки взаимосвязи между показателями содержания IGF-1 и вероятностью развития БЛД (т. е. отсутствие/легкая форма БЛД по сравнению с умеренной/тяжелой формой БЛД). Были оценены и рассмотрены источники вариабельности ответа на БЛД, такие как гестационный возраст, масса тела при рождении, пол, насыщение кислородом в 1-й день, оценка по шкале APGAR через 1 мин и исследуемая группа.

[313] Затем было проведено моделирование клинических испытаний для определения режима дозирования, который привел бы к уровням IGF-1 в сыворотке, которые коррелировали бы с предупреждением или улучшением БЛД, т.е. обеспечивали высокую вероятность отсутствия симптомов БЛД или наличие легких симптомов БЛД у недоношенных младенцев, получающих лечение, по сравнению с группой, получающей

стандартное лечение. Всего было смоделировано 500 испытаний с участием 75 субъектов, получавших 250 и 400 микрограмм/кг/день rhIGF-1/rhIGFBP-3 или не получавших дозы препарата (СНП) в соотношении 1:1:1 на основе ФК-модели группы.

[314] Результаты этих симуляций продемонстрировали, что более высокие наблюдаемые средние уровни IGF-1 на 7-й день (CavD7) были связаны с большей вероятностью отсутствия или легкой формы БЛД, демонстрируя статистически значимую взаимосвязь экспозиция-ответ. Вероятность отсутствия/наличие легкой формы или наличие умеренной/тяжелой формы БЛД определяли на основе смоделированного CavD7 в каждом испытании в соответствии с приведенной выше моделью экспозиция-ответ.

[315] Кроме того, наблюдалось воздействие других переменных. Например, наблюдались статистически значимые воздействия веса при рождении и пола, при этом предполагается, что более крупные субъекты женского пола будут иметь более высокую вероятность отсутствия БЛД или наличия легкой формы БЛД. Ни насыщение кислородом при рождении, ни оценка по шкале Апгар на 1-й минуте не были предикторами отсутствия или наличия легкой формы БЛД.

[316] Результаты моделирования продемонстрировали, что лечение с помощью rhIGF-1/rhIGFBP-3 приводило к более высокой вероятности отсутствия БЛД или развития легкой формы БЛД по сравнению с группой, получавшей стандартное лечение ХЗЛ (Фиг. 9, Таблица 12). Сравнение между субъектами, получавшими 250 и 400 микрограмм/кг/день rhIGF-1/rhIGFBP-3 или не получавшим дозы препарата (СНП), представлено на Фиг. 11.

[317] На основании данных о зависимости концентрации IGF-1 от времени у недоношенных младенцев оценивали фармакокинетические характеристики введенного (или экзогенного) IGF-1. В целом, однокомпонентная модель диспозиции с линейной элиминацией в сочетании с базовой моделью, учитывающей изменение веса с течением времени, адекватно охарактеризовала профили концентрация-время вводимого и эндогенного IGF-1, соответственно. Кроме того, модель включала межсубъектную вариабельность (МСВ) по объему распределения и клиренсу, а также МСВ на эндогенных моделях (концентрация IGF-1 при рождении ($C_{\text{endo}, 0}$), а у более зрелых детей период полувыведения IGF-1 для начального снижения ($C_{\text{endo}, \text{mat}}$)). Поскольку возраст и вес являются важными компонентами эндогенной продукции IGF-1, а также клиренса IGF-1 после внутривенной инфузии rhIGF-1/rhIGFBP-3, была разработана модель созревания, чтобы охарактеризовать увеличение массы тела в зависимости от ПМВ у недоношенных

младенцев. Модель была подтверждена, как представлено на графиках зависимости концентрации IGF-1 от времени для субъектов, которым вводили 250 микрограмм/кг/день rIGF-1/rIGFBP-3 или более низкую дозу, по сравнению с контрольными субъектами, получавшими стандартное лечение, или контрольными субъектами, которые не получали лечения (Фиг. 10).

[318] Таблица 12. Моделирование клинических испытаний у 75 и 150 недоношенных младенцев для сравнения вероятности успеха (т. е. отсутствие/легкая форма БЛД) в активной группе по сравнению с группой, получавшей стандартное лечение

Группа	CavD7 (мг/л)	Вероятность (%) 95% ДИ	Медиана OR (95% ДИ)	
			75	150
Количество субъектов (1:1:1)				
400 микрограмм/кг/день	50,3	73,2 [52,96, 86,93]	0,345 [0,831, 1,52]	0,351 [0,135, 0,901]
250 микрограмм/кг/день	36,8	61,9 [47,85, 74,14]	0,531 [0,138, 2,21]	0,548 [0,212, 1,34]
СНП	19,2	45,1 [34,47, 56,21]		

[319] При схеме 400 микрограмм/кг/24 часа rIGF-1/rIGFBP-3 была разработана фармакокинетическая модель группы с использованием данных стандартного лечения и данных IGF-1. Модель использовали для имитации 95% и прогнозируемых интервалов ФК концентраций IGF-1 в течение продолжительности лечения, чтобы предсказать, как упадут средние значения, а также 5%-й и 95%-й интервалы по отношению к целевому терапевтическому диапазону (Фиг. 12).

[320] Результаты продемонстрировали, что средние уровни IGF-1 были выше при дозе 400 микрограмм/кг/24 часа, чем при дозе 250 микрограмм/кг/24 часа. Ожидается, что к 7-му дню приблизительно 95% субъектов, которым вводили 400 микрограмм/кг/24 часа, будут находиться в терапевтическом диапазоне. Ожидается, что при EOI у 90% субъектов

уровень будет ниже 109 нг/мл, а у 95% субъектов — выше 28 нг/мл. Ожидается, что большинство субъектов, получающих дозу 400 микрограмм/кг/24 часа, достигнут целевого уровня IGF-1 (от 28 до 109 нг/мл) к 7-му дню и, как ожидается, будут иметь низкий риск превышения целевого уровня IGF-1 к концу инфузии. Конец инфузии наступает, например, на около 28, 29, 30, 31 или 32 недели постменструального возраста (ПМВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения окончание инфузии наступает на около 28 неделю постменструального возраста (ПМВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения окончание инфузии наступает на 29 неделю постменструального возраста (ПМВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения окончание инфузии наступает на около 30 неделю постменструального возраста (ПМВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения окончание инфузии наступает на около 31 неделю постменструального возраста (ПМВ). В некоторых вариантах реализации данного изобретения окончание инфузии наступает на около 32 неделю постменструального возраста (ПМВ).

[321] Чтобы оценить, приводит ли раннее или более высокое содержание IGF-1 в сыворотке к лучшим исходам БЛД, содержание IGF-1 в сыворотке измеряли на 7-й день (Фиг. 13А) и в ПМВ 40 недель (Фиг. 13В).

[322] Исследовательский логарифмический регрессионный анализ был проведен для изучения взаимосвязи между содержанием IGF-1 в сыворотке в разные моменты времени и исходом БЛД. Более ранние временные точки продемонстрировали значимую связь между более высоким содержанием IGF-1 и благоприятным исходом БЛД (легкая форма или отсутствие БЛД). Чтобы уменьшить погрешность, для разработки модели были выбраны средние концентрации IGF-1 за 7 дней. Масса тела при рождении (более высокая МТ-лучший исход) и пол (женский пол-лучший исход) были идентифицированы как коварианты, влияющие на исход БЛД.

[323] Результаты моделирования также продемонстрировали, что введение rhIGF-1/rhIGFBP-3 по схеме 400 микрограмм/кг/24 часа было связано с большей вероятностью отсутствия БЛД или легкой формы БЛД по сравнению со схемой 250 микрограмм/кг/24 часа. На основании имитационных исследований было обнаружено, что более высокая доза 400 микрограмм/кг/24 часа сильно коррелирует с предупреждением БЛД и облегчением ХЗЛ.

[324] Хотя некоторые соединения, композиции и способы, описанные в данном документе, были описаны конкретно в соответствии с некоторыми вариантами реализации

данного изобретения, следующие примеры служат только для иллюстрации соединений по данному изобретению и не предназначены для его ограничения.

[325] Существительные в единственном числе, используемые в данном документе в описании и в формуле изобретения, если явно не указано иное, следует понимать как включающие существительные во множественном числе. Пункты формулы изобретения или описания, которые включают «или» между одним или более членами группы, считаются удовлетворенными, если один, несколько или все члены группы присутствуют, используются или иным образом имеют отношение к данному продукту или процессу, если не указано иное или иное не следует из контекста. Данное изобретение включает варианты реализации данного изобретения, в которых конкретно один член группы присутствует, используется или иным образом имеет отношение к данному продукту или процессу. Данное изобретение также включает варианты реализации данного изобретения, в которых более одного члена группы или целая группа присутствуют, используются или иным образом относятся к данному продукту или процессу. Кроме того, следует понимать, что данное изобретение охватывает все варианты, комбинации и перестановки, в которых одно или более ограничений, элементов, оговорок, описательных терминов и т. д. из одного или более перечисленных пунктов формулы изобретения вводятся в другой пункт формулы, зависящий от того же основного пункта формулы изобретения (или, если применимо, любого другого пункта формулы), если не указано иное или если специалисту в данной области техники не будет очевидно, что возникнет противоречие или несоответствие. Когда элементы представлены в виде списков (например, в группе Маркуша или подобном формате), следует понимать, что каждая подгруппа элементов также раскрыта, и любой элемент(ы) может быть удален из группы. Следует понимать, что в целом, когда данное изобретение или аспекты данного изобретения упоминаются как содержащие определенные элементы, особенности и т.д., определенные варианты реализации данного изобретения или аспекты данного изобретения содержат или по существу содержат такие элементы, особенности и т.д. В целях простоты эти варианты реализации данного изобретения не в каждом случае были специально изложены в данном документе так подробно. Также следует понимать, что любой вариант реализации данного изобретения или аспект данного изобретения может быть явно исключен из формулы изобретения, независимо от того, указано ли конкретное исключение в описании. Публикации, веб-сайты и другие справочные материалы, на которые даны ссылки в данном документе для описания предпосылок изобретения и предоставления

дополнительных подробностей относительно его практического применения, включены в данный документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая белковый комплекс, содержащий рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество в концентрации от около 0,0025% до около 0,0075%, причем rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплекс в эквимольных количествах.

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет от около 10 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл.

3. Композиция по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20 (P20) или полисорбат 80 (P80).

4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой P20.

5. Композиция по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что полисорбатное поверхностно-активное вещество присутствует в композиции в концентрации около 0,005%.

6. Композиция по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что менее 20% IGF-1 находится в виде окисленных форм после хранения в течение около 6 месяцев при 25 °С.

7. Композиция по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что менее 10% IGF-1 находится в виде окисленных форм после хранения в течение около 3 месяцев при 40 °С.

8. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что % окисленных форм определяют с помощью обращенно-фазовой сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (RP-UPLC).

9. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что IGFBP-3 содержит менее 5% трисульфидных вариантов.

10. Композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащая буфер, содержащий ацетат натрия, уксусную кислоту и/или хлорид натрия.

11. Композиция по п. 10, отличающаяся тем, что концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет от около 10 до около 100 мМ.

12. Композиция по п. 10, отличающаяся тем, что концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет около 50 мМ.

13. Композиция по любому из пп. 10-12, отличающаяся тем, что концентрация хлорида натрия составляет около 20 мМ и 200 мМ.

14. Композиция по п. 13, отличающаяся тем, что концентрация хлорида натрия составляет около 105 мМ.

15. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что уровень рН композиции составляет от около 5,0 до около 7,0.

16. Композиция по п. 15, отличающаяся тем, что уровень рН составляет около 5,3-5,8.

17. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет от около 45 микрограмм/мл до около 55 микрограмм/мл.

18. Композиция по п. 17, отличающаяся тем, что концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 50 микрограмм/мл.

19. Композиция по п. 17 или 18, отличающаяся тем, что композиция пригодна для внутривенного введения.

20. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что композиция имеет срок хранения от около 20 месяцев до около 24 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

21. Композиция по п. 20, отличающаяся тем, что срок хранения композиции составляет по меньшей мере 24 месяца при температуре от 2 до 8 °С.

22. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что композиция стабильна при комнатной температуре и/или при окружающем освещении в течение по меньшей мере 8 часов, 12 часов, 24 часов, 36 часов или 48 часов.

23. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что композиция, содержащая рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбат 20, является более стабильной при комнатной температуре, чем композиция, содержащая рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), без полисорбата 20.

24. Композиция по любому из пп. 1-23, отличающаяся тем, что композиция, содержащая рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбат 20, в меньшей степени окисляется при комнатной температуре, чем композиция, содержащая рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), без полисорбата 20.

25. Композиция по любому из пп. 1-24, отличающаяся тем, что % окисленных форм IGF-1 не увеличивается более чем до 12% при хранении при температуре около 25 °С через шесть месяцев.

26. Композиция по любому из пп. 1-24, отличающаяся тем, что % окисленных форм IGF-1 не увеличивается более чем до 10% при хранении при температуре около 25 °С через шесть месяцев.

27. Фармацевтическая композиция, содержащая композицию по любому из предшествующих пунктов и фармацевтически приемлемый носитель.

28. Способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) или хронического заболевания легких недоношенных (ХЗЛ), включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, композиции по любому из предшествующих пунктов.

29. Способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) или хронического заболевания легких недоношенных (ХЗЛ), включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и поверхностно-активное вещество полисорбат 20.

30. Способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) или хронического заболевания легких недоношенных (ХЗЛ), включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество в концентрации от около 0,0025% до около 0,0075%, при этом rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплексы в эквимольных количествах, и причем rIGF-1/IGFBP-3 находится в концентрации от около 10 микрограмм/мл до около 1000 микрограмм/мл.

31. Способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) или хронического заболевания легких недоношенных (ХЗЛ), включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), при этом указанный субъект находится в возрасте от 23 до 25 недель + 6 дней гестационного возраста.

32. Способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) или хронического заболевания легких недоношенных (ХЗЛ), включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), в терапевтическом количестве, достаточном для снижения частоты возникновения внутрижелудочковых кровоизлияний по сравнению с контрольной группой.

33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что снижение частоты возникновения патологических состояний достигается между около 36 и 40 неделями гестационного возраста при оценке с помощью ультразвукового исследования или магнитно-резонансной томографии (МРТ).

34. Способ по п. 33, отличающийся тем, что снижение частоты возникновения патологических состояний достигается к 36 неделям.

35. Способ по п. 33, отличающийся тем, что снижение частоты возникновения патологических состояний достигается к 40 неделям.

36. Способ по п. 32, отличающийся тем, что снижение частоты возникновения патологических состояний оценивают с помощью ультразвукового исследования.

37. Способ по п. 32, отличающийся тем, что снижение частоты возникновения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК) составляет снижения частоты ВЖК II, III или IV степени на по меньшей мере около 30%.

38. Способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) или хронического заболевания легких недоношенных (ХЗЛ), включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, композиции по п. 1 или 2.

39. Способ по п. 29 или 30, отличающийся тем, что полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20 (P20) или полисорбат 80 (P80).

40. Способ по п. 39, отличающаяся тем, что полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой P20.

41. Способ по п. 29 или 30, отличающийся тем, что концентрация полисорбата составляет 0,005%.

42. Способ по п. 29 или 30, отличающийся тем, что менее 20% IGF-1 находится в виде окисленных форм после хранения в течение около 3 месяцев.

43. Способ по п. 29 или 30, отличающийся тем, что % окисленных форм определяют с помощью RP-UPLC.

44. Способ по п. 29 или 30, отличающийся тем, что IGFBP-3 содержит менее 5% трисульфидных вариантов.

45. Способ по пп. 29-44, отличающийся тем, что указанный субъект, нуждающийся в лечении, представляет собой младенца.

46. Способ по п. 45, отличающийся тем, что младенец родился преждевременно по меньшей мере на 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель, 12 недель, 1 месяц, 2 месяца или 3 месяца.

47. Способ по п. 45, отличающийся тем, что младенец рождается на сроке менее 32 недель гестационного возраста (ГВ).

48. Способ по п. 45, отличающийся тем, что младенец рождается на сроке менее 28 недель гестационного возраста (ГВ).

49. Способ по п. 45, отличающийся тем, что младенец рождается на сроке < 26 недель гестационного возраста (ГВ).

50. Способ по п. 45, отличающийся тем, что постменструальный возраст (ПМВ) младенца составляет от около 23 до около 34 недель.

51. Способ по п. 50, отличающийся тем, что постменструальный возраст (ПМВ) младенца составляет около 23 недель.

52. Способ по п. 50, отличающийся тем, что постменструальный возраст (ПМВ) младенца составляет менее 34 недель.

53. Способ по любому из пп. 29-52, отличающийся тем, что указанную композицию вводят внутривенно.

54. Способ по любому из пп. 29-52, отличающийся тем, что указанную композицию вводят в дозе от около 100 до около 1000 микрограмм/кг/24 часа.

55. Способ по п. 54, отличающийся тем, что указанную композицию вводят в дозе около 800 микрограмм/кг/24 часа.

56. Способ по п. 54, отличающийся тем, что указанную композицию вводят в дозе около 400 микрограмм/кг/24 часа.

57. Способ по п. 54, отличающийся тем, что указанную композицию вводят в дозе около 250 микрограмм/кг/24 часа.

58. Способ по любому из пп. 51-54, отличающийся тем, что указанную композицию вводят один, два, три или четыре раза в течение 24 часов.

59. Способ по п. 58, отличающийся тем, что указанную композицию вводят один раз в течение 24 часов.

60. Способ по п. 58, отличающийся тем, что указанную композицию вводят путем непрерывной инфузии в течение 24 часов.

61. Способ по любому из пп. 29-60, отличающийся тем, что указанную композицию вводят с момента рождения до постменструального возраста (ПМВ), составляющего от около 23 до около 34 недель.

62. Способ по любому из пп. 29-60, отличающийся тем, что указанную композицию вводят с момента рождения до постменструального возраста (ПМВ), составляющего от около 23 до около 32 недель.

63. Способ по любому из пп. 29-60, отличающийся тем, что указанную композицию вводят с момента рождения до постменструального возраста (ПМВ), составляющего около 29 недель плюс 6 дней.

64. Способ по любому из пп. 29-63, отличающийся тем, что у указанного субъекта снижены уровни IGF-1 в сыворотке крови.

65. Способ по любому из пп. 29-64, отличающийся тем, что введение фармацевтической композиции приводит к повышенным уровням IGF-1 в сыворотке крови по сравнению с исходным значением.

66. Способ по п. 65, отличающийся тем, что уровни IGF-1 в сыворотке повышены на по меньшей мере около 25%-50% по сравнению с исходным значением.

67. Способ по п. 65, отличающийся тем, что уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в течение по меньшей мере 24 часов после введения.

68. Способ по п. 65, отличающийся тем, что уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в течение около 48 часов.

69. Способ по п. 65, отличающийся тем, что уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в течение по меньшей мере 7 дней.

70. Способ по п. 65, отличающийся тем, что уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в постменструальном возрасте (ПМВ) от по меньшей мере около 23 недель до около 34 недель.

71. Способ по п. 65, отличающийся тем, что уровни IGF-1 в сыворотке остаются повышенными в постменструальном возрасте (ПМВ) от по меньшей мере около 23 недель до около 12 месяцев.

72. Способ по любому из пп. 29-71, отличающийся тем, что введение указанной композиции приводит к снижению частоты возникновения внутрижелудочкового кровоизлияния в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34

недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев, 12 месяцев или 24 месяцев.

73. Способ по любому из пп. 29-72, отличающийся тем, что введение указанной композиции дополнительно приводит к снижению частоты возникновения бронхолегочной дисплазии в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель, 40 недель, 6 месяцев, 8 месяцев, 10 месяцев, 12 месяцев или 24 месяцев.

74. Способ по любому из пп. 29-73, отличающийся тем, что введение указанной композиции приводит к улучшению функционального состояния, оцениваемому по индексу недоношенных младенцев (PREMII), в постменструальном возрасте (ПМВ) 23 недели, 24 недели, 25 недель, 26 недель, 27 недель, 28 недель, 29 недель, 30 недель, 31 неделя, 32 недели, 33 недели, 34 недели, 35 недель, 36 недель, 37 недель, 38 недель, 39 недель или 40 недель.

75. Способ по любому из пп. 29-74, отличающийся тем, что введение указанной композиции приводит к повышенным целевым уровням IGF-1 в сыворотке крови от около 28 до около 109 нг/мл.

76. Способ по п. 72 или 73, отличающийся тем, что снижение частоты возникновения патологических состояний составляет по меньшей мере около 20%-50% по сравнению с контрольной группой, которая не получала лечение.

77. Способ по п. 72 или 73, отличающийся тем, что снижение частоты возникновения патологических состояний составляет по меньшей мере около 20%-50% по сравнению с контрольной группой, которая получала стандартное лечение.

78. Способ по п. 74, отличающийся тем, что улучшение функционального состояния составляет по меньшей мере около 20%-50% по сравнению с контрольной группой, которая не получала лечение.

79. Способ по п. 74, отличающийся тем, что улучшение функционального состояния составляет по меньшей мере около 20%-50% по сравнению с контрольной группой, которая получала стандартное лечение.

80. Способ производства фармацевтической композиции, включающий получение белкового комплекса, содержащего инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), причем способ включает использование одноразового пакета при смешивании комплекса с раствором состава в результате чего получают фармацевтическую композицию, в которой увеличение

количества окисленных форм IGF-1 в фармацевтической композиции составляет менее 20 % при хранении в течение 6 месяцев при 25 °С.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что раствор состава содержит поверхностно-активное вещество.

82. Способ по п. 80, отличающийся тем, что одноразовый пакет дополнительно используют на этапе фильтрации.

83. Способ по п. 82, отличающийся тем, что включает заполнение по меньшей мере 30% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации.

84. Способ по п. 82, отличающийся тем, что включает заполнение по меньшей мере 40% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации.

85. Способ по п. 82, отличающийся тем, что включает заполнение по меньшей мере 75% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации.

86. Способ по п. 82, отличающийся тем, что включает заполнение по меньшей мере 75-90% одноразового пакета белковым комплексом во время этапа смешивания и/или этапа фильтрации.

87. Способ по пп. 80-86, отличающийся тем, что объем одноразового пакета составляет около или более 500 л.

88. Способ по пп. 80-87, отличающийся тем, что увеличение содержания окисленных форм IGF-1 составляет менее 5% при хранении в течение 6 месяцев при 25 °С.

89. Способ по пп. 80-88, отличающийся тем, что менее около 2% IGF-1 находится в виде окисленных форм в белковом комплексе при хранении в течение 6 месяцев при 25 °С.

90. Способ по пп. 80-89, отличающийся тем, что менее 10% белкового комплекса находится в виде низкомолекулярных форм при хранении в течение 3 месяцев при 40 °С.

91. Способ по пп. 80-90, отличающийся тем, что менее 5% белкового комплекса находится в виде низкомолекулярных форм при хранении в течение 6 месяцев при 40 °С.

92. Композиция, содержащая выделенный белковый комплекс, содержащий инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-3), полученный с помощью способа по любому из пп. 80-91.

93. Композиция по п. 92, отличающаяся тем, что композиция содержит 50 мМ ацетата натрия, 105 мМ хлорида натрия и 0,005% (об./об.) P20 при уровне pH 5,5.

94. Композиция, содержащая белковый комплекс, содержащий рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), в эквимольных количествах, поверхностно-активное вещество полисорбат 20 при концентрации около 0,005%, и буфер, содержащий ацетат натрия, уксусную кислоту и/или хлорид натрия, причем композиция имеет уровень рН около 5,3-5,8, при этом концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 50 мкг/мл, и при этом менее 1,5% IGF-1 находится в виде окисленных форм при высвобождении продукта.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

(для рассмотрения на рег. фазе в ЕАПВ)

1. Жидкая фармацевтическая композиция, пригодная для введения новорожденному, содержащая белковый комплекс, содержащий рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1), рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), и полисорбатное поверхностно-активное вещество в концентрации от около 0,0025% до около 0,0075%, причем:

- a. rIGF-1 и rIGFBP-3 образуют комплекс
- b. концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 45 – 55 микрограмм/мл
и
- c. композиция имеет уровень pH от около 5,0 до около 7,0.

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет от около 50 микрограмм/мл.

3. Композиция по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 20 (P20) или полисорбат 80 (P80).

4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что полисорбатное поверхностно-активное вещество представляет собой P20.

5. Композиция по любому из пп. 1-3, отличающаяся тем, что полисорбатное поверхностно-активное вещество присутствует в композиции в концентрации около 0,005%.

6. Композиция по любому из пп. 1-5, дополнительно содержащая буфер, содержащий ацетат натрия, уксусную кислоту и/или хлорид натрия.

7. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет от около 10 до около 100 мМ.

8. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что концентрация ацетата натрия или уксусной кислоты составляет около 50 мМ.

9. Композиция по любому из пп. 6-8, отличающаяся тем, что концентрация хлорида натрия составляет около 20 мМ и 200 мМ.

10. Композиция по п. 9, отличающаяся тем, что концентрация хлорида натрия составляет около 105 мМ.

11. Композиция по любому из пп. 1-10, отличающаяся тем, что уровень pH композиции составляет от около 5,3 до около 5,8.

12. Композиция по любому из пп. 1-11, отличающаяся тем, что композиция пригодна для внутривенного введения.

13. Композиция по любому из пп. 1-12, отличающаяся тем, что композиция имеет срок хранения от около 20 месяцев до около 24 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

14. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что композиция стабильна при комнатной температуре и/или при окружающем освещении в течение по меньшей мере 8 часов, 12 часов, 24 часов, 36 часов или 48 часов.

15. Композиция по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что менее 20% IGF-1 находится в виде окисленных форм после хранения в течение около 6 месяцев при 25 °С.

16. Композиция по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что менее 10% IGF-1 находится в виде окисленных форм после хранения в течение около 3 месяцев при 40 °С.

17. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что % окисленных форм определяют с помощью обращенно-фазовой сверхвысокоэффективной жидкостной хроматографии (RP-UPLC).

18. Композиция по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что IGFBP-3 содержит менее 5% трисульфидных вариантов.

19. Композиция по п. 1, содержащая белковый комплекс, содержащий рекомбинантный инсулиноподобный фактор роста 1 (rIGF-1) и рекомбинантный белок 3, связывающий инсулиноподобный фактор роста (rIGFBP-3), в эквимольных количествах, поверхностно-активное вещество полисорбат 20 при концентрации около 0,005% (об./об.), и буфер, содержащий ацетат натрия, уксусную кислоту и/или хлорид натрия, отличающаяся тем, что композиция имеет уровень рН около 5,3-5,8, причем концентрация rIGF-1/IGFBP-3 составляет около 50 мкг/мл, и при этом менее 1,5% IGF-1 находится в виде окисленных форм при высвобождении продукта.

20. Фармацевтическая композиция, содержащая композицию по любому из предшествующих пунктов и фармацевтически приемлемый носитель.

21. Способ лечения или предотвращения внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), бронхолегочной дисплазии (БЛД) или хронического заболевания легких недоношенных (ХЗЛ), включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, композиции по любому из пп. 1-20.

22. Способ по п. 21 отличающийся тем, что указанный субъект, нуждающийся в лечении, представляет собой младенца.

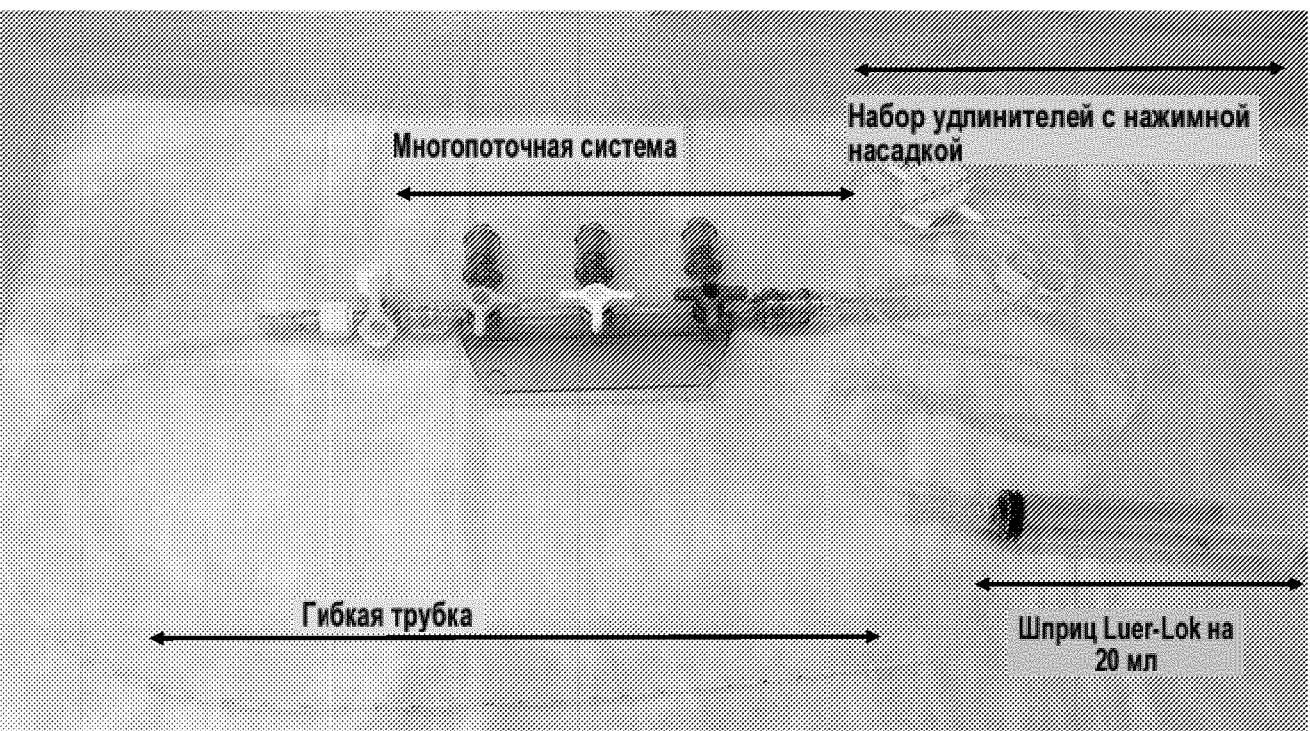
23. Способ по п. 21 или 22, отличающийся тем, что указанную композицию вводят внутривенно.

24. Способ по любому из пп. 21-23, отличающийся тем, что указанную композицию вводят в дозе от около 100 до около 1000 микрограмм/кг/24 часа.

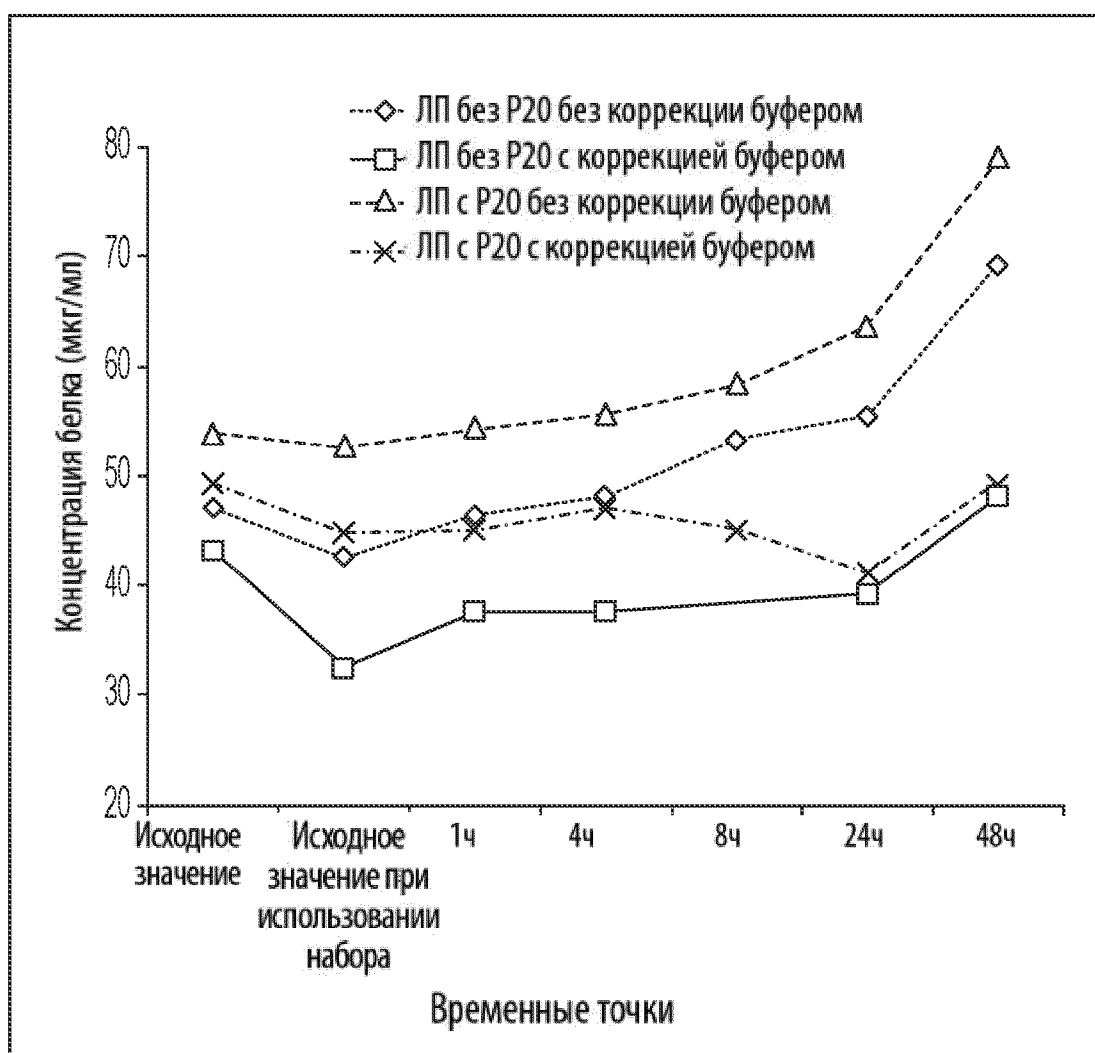
25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанную композицию вводят в дозе около 400 микрограмм/кг/24 часа.

26. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанную композицию вводят в дозе около 250 микрограмм/кг/24 часа.

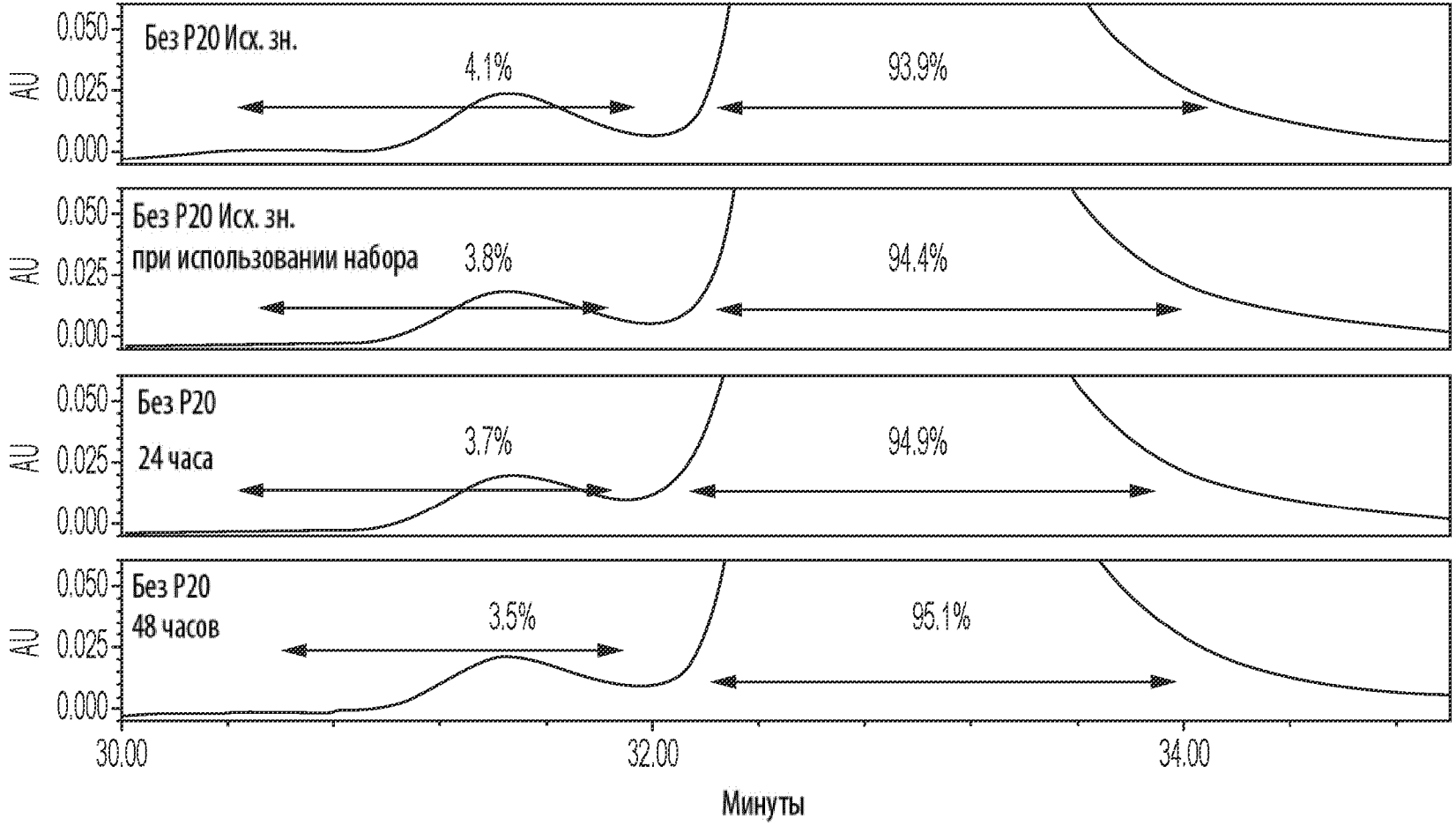
27. Способ по любому из пп. 21-26, отличающийся тем, что указанную композицию вводят путем непрерывной инфузии в течение 24 часов.



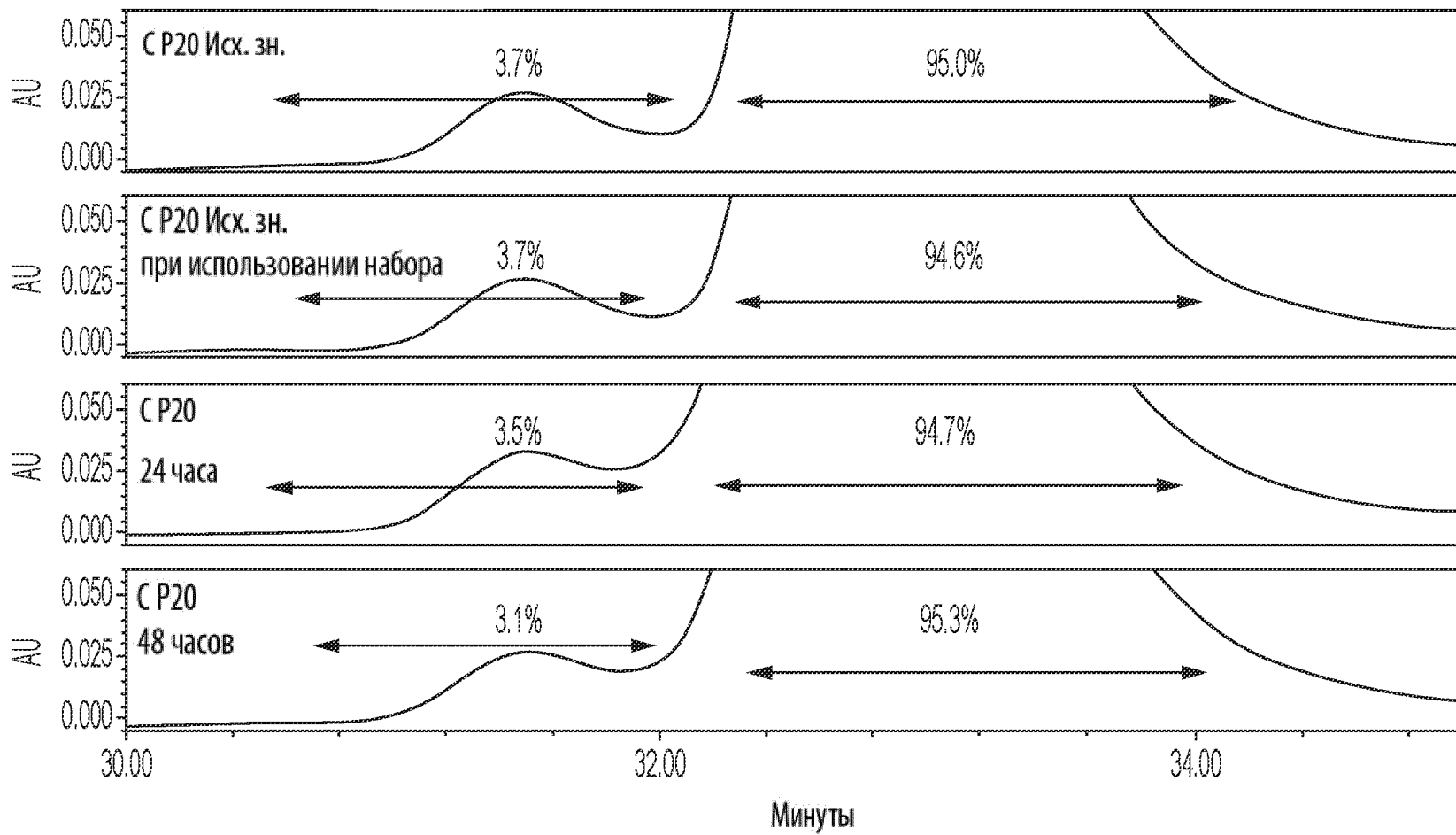
ФИГ. 1



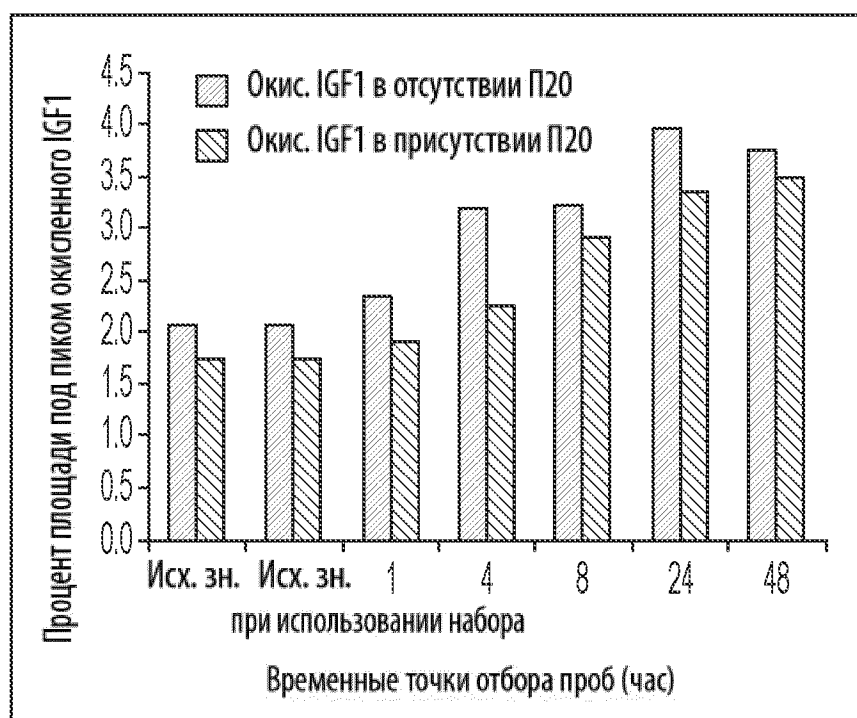
ФИГ. 2



ФИГ. 3А

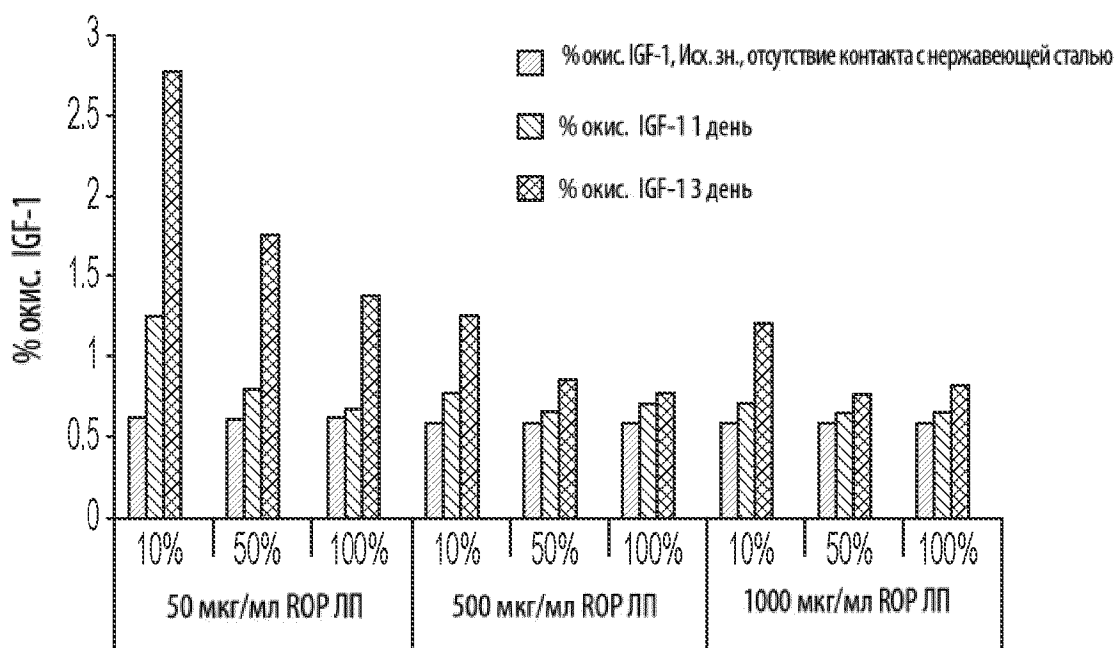


ФИГ. 3В

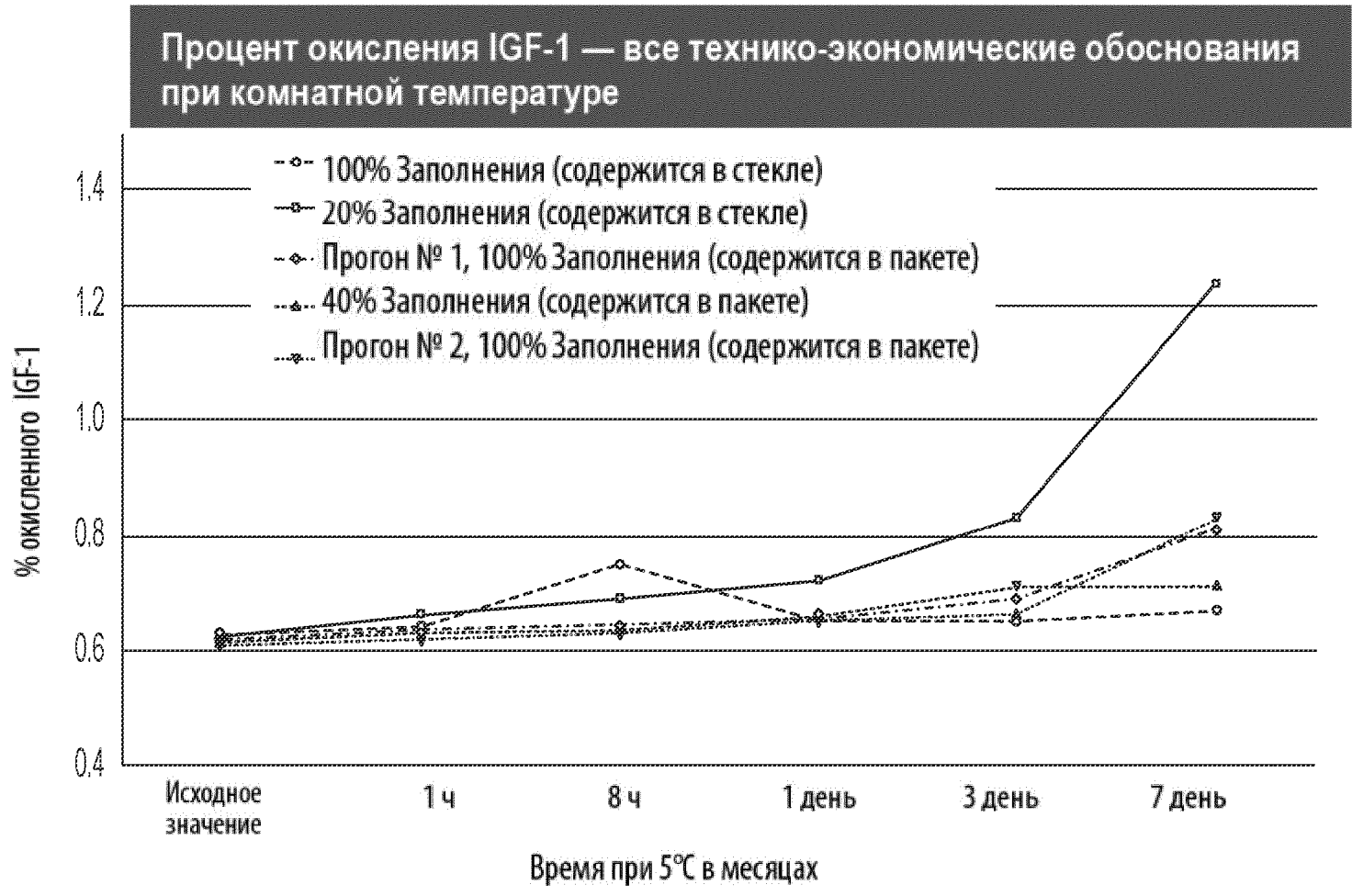


ФИГ. 4

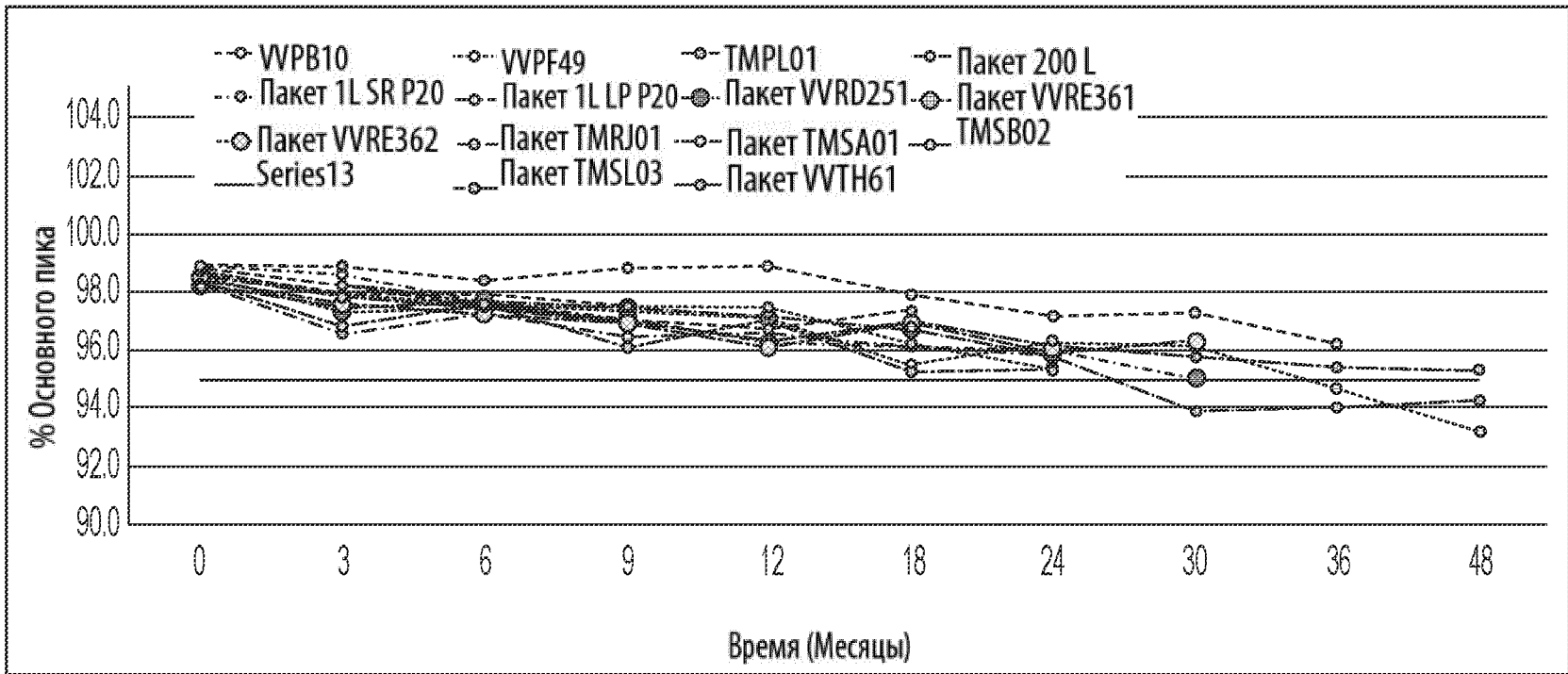
Сравнение Окисления IGF-1 В Сосуде из Нержавеющей Стали Объемом 10 мл при Увеличении Концентрации Мекасермина Ринфабата и Уменьшении Свободного Пространства Над Продуктом при Комнатной Температуре



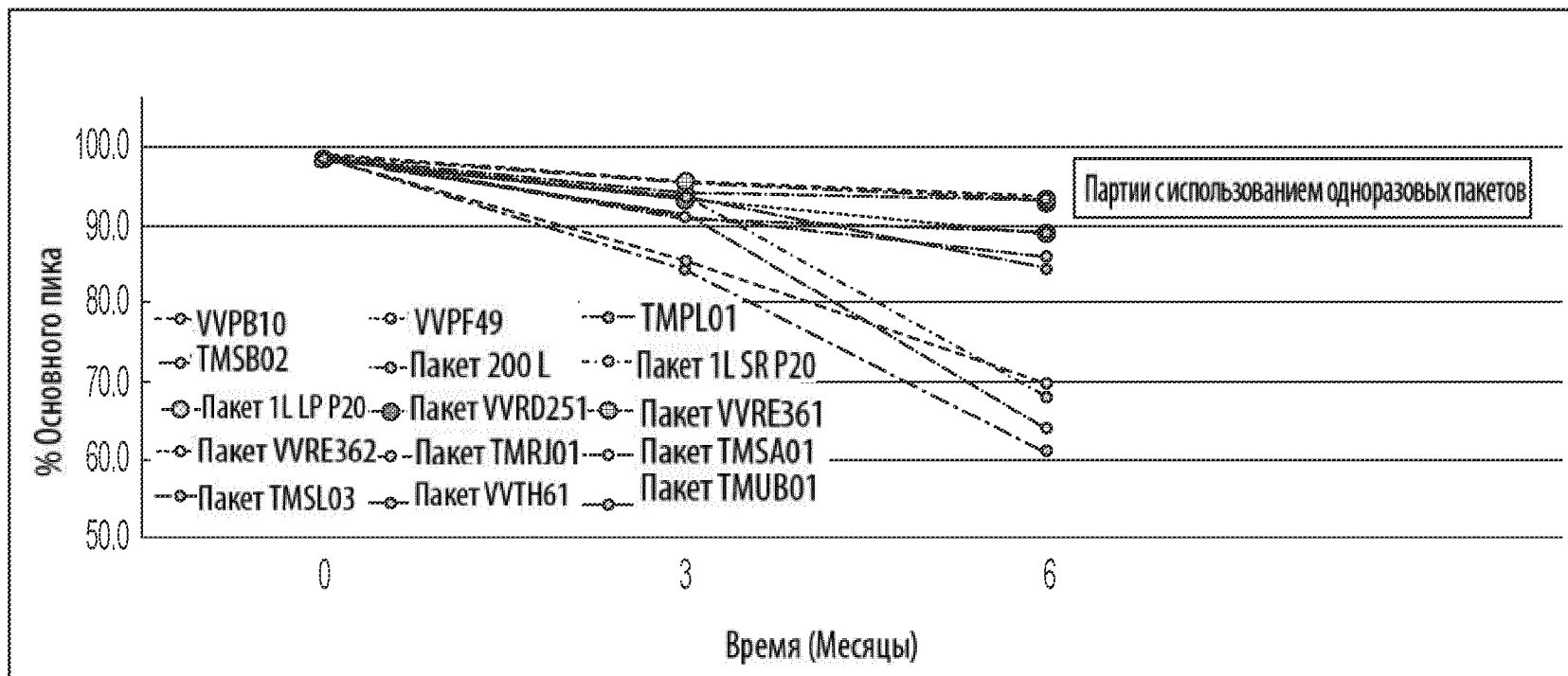
ФИГ. 5



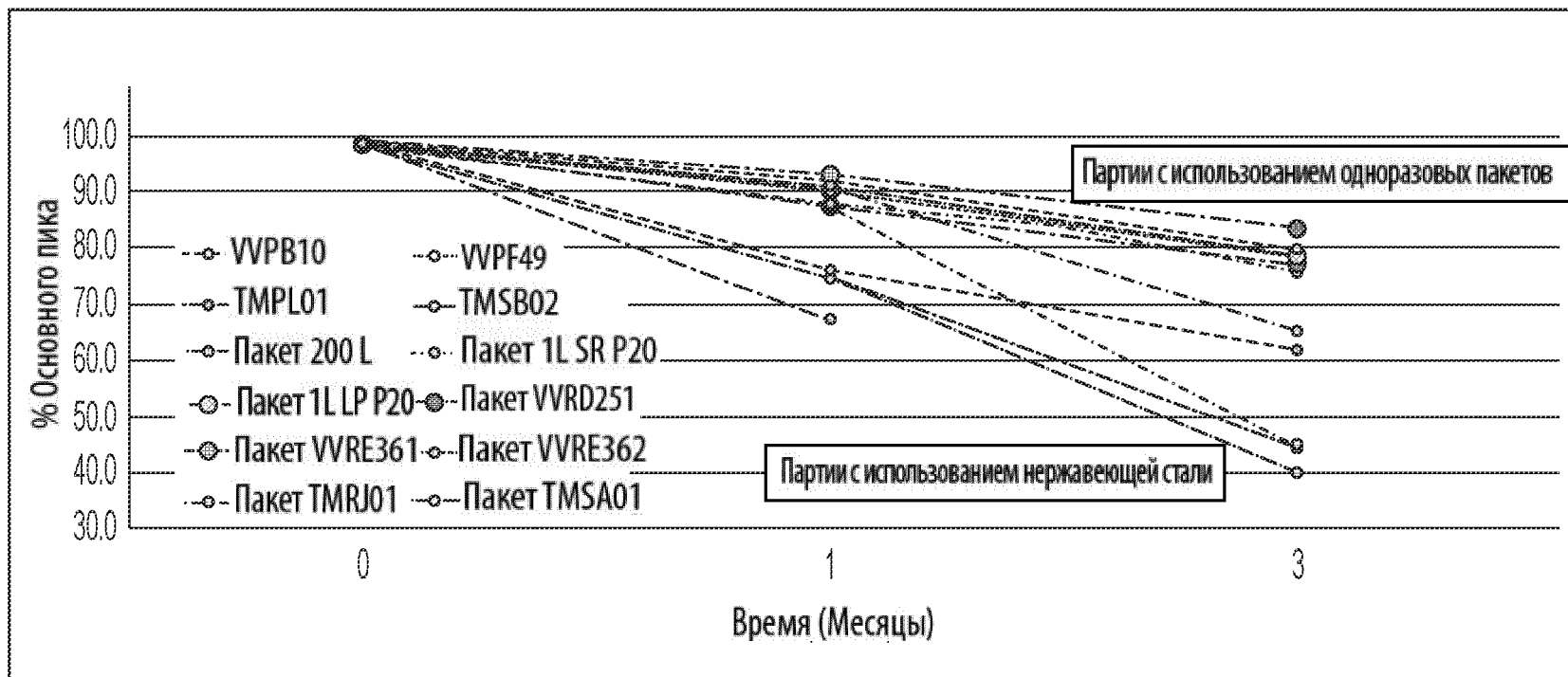
ФИГ. 6



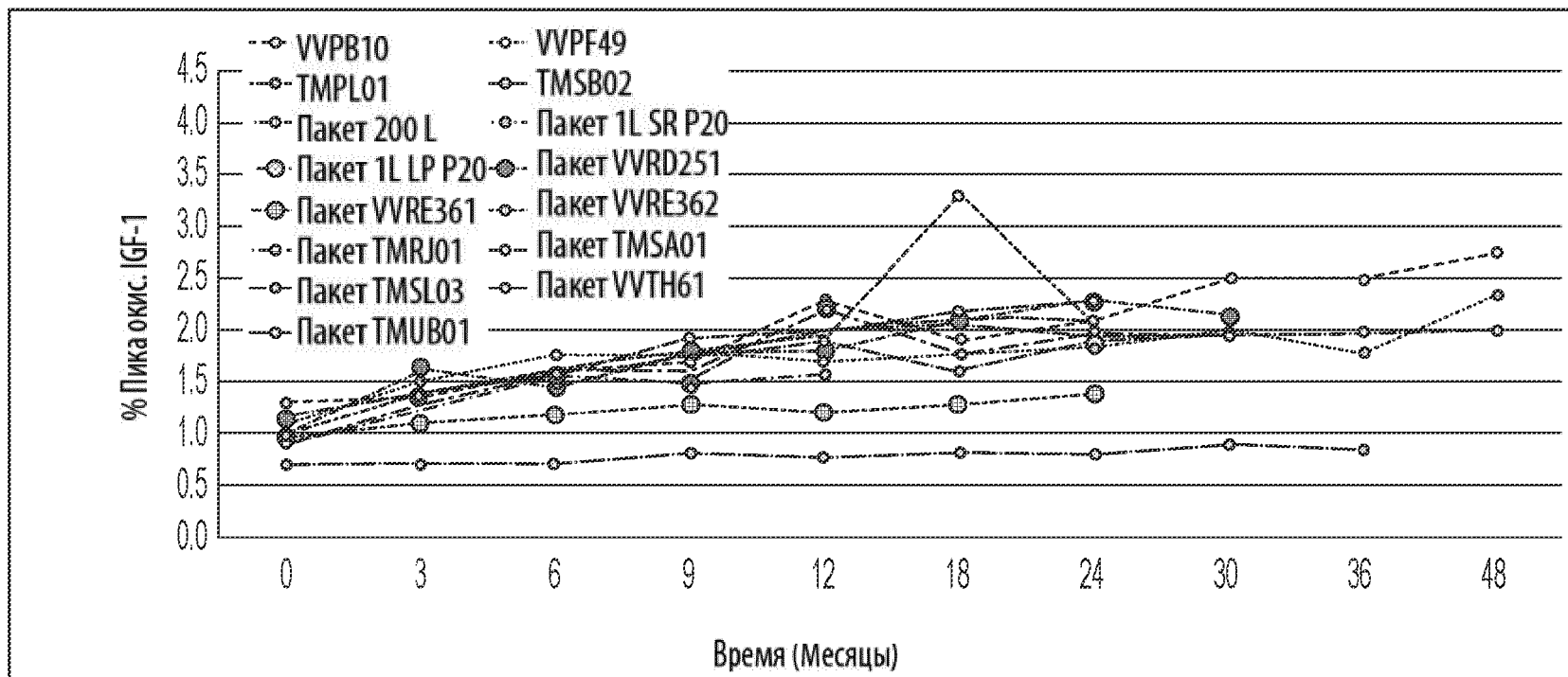
ФИГ. 7А



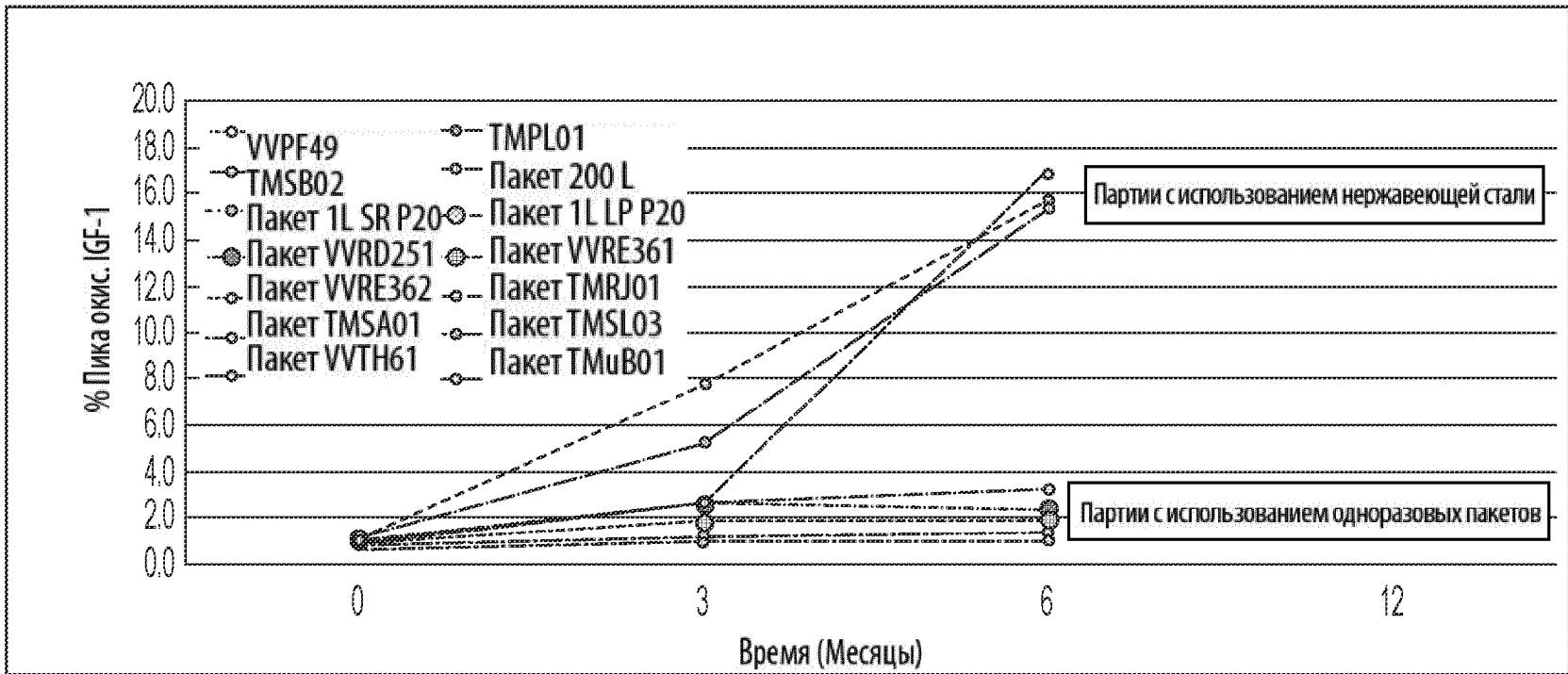
ФИГ. 7В



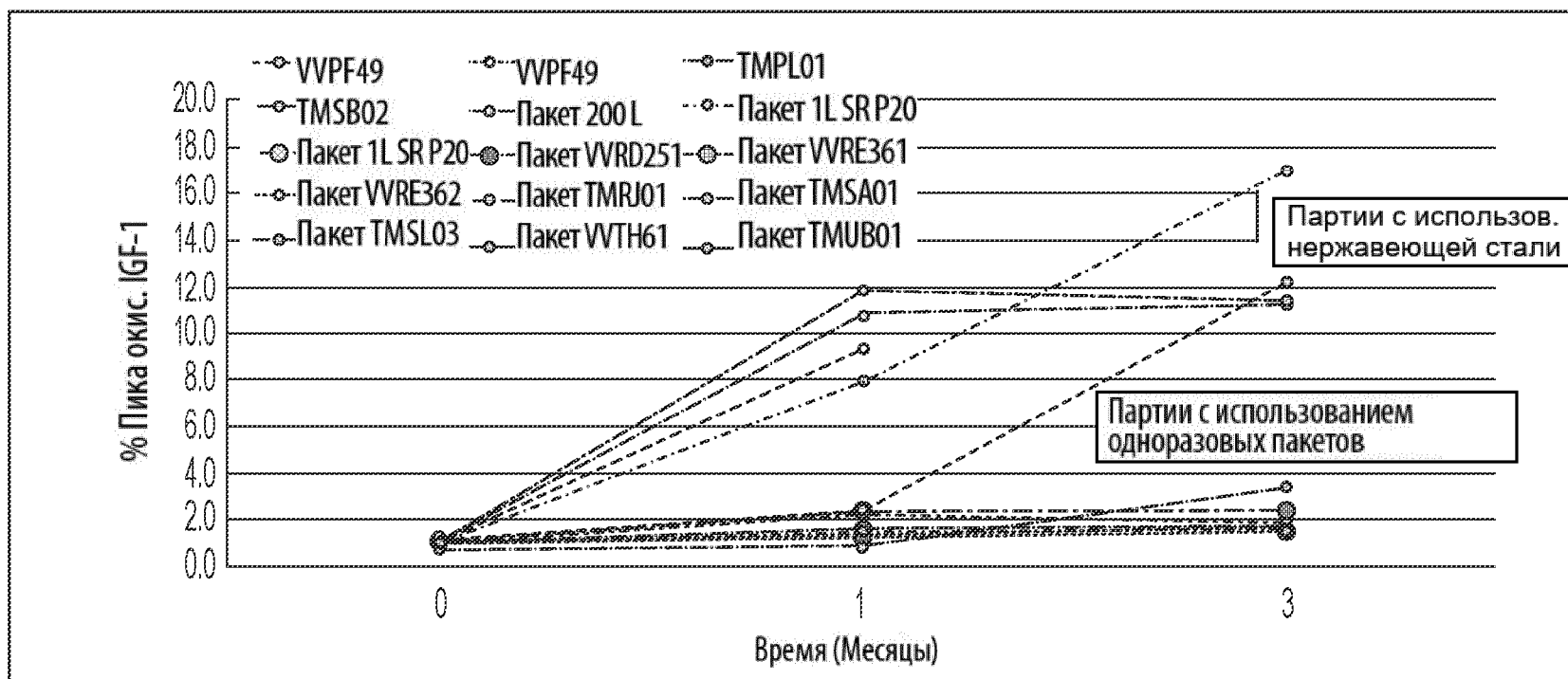
ФИГ. 7С



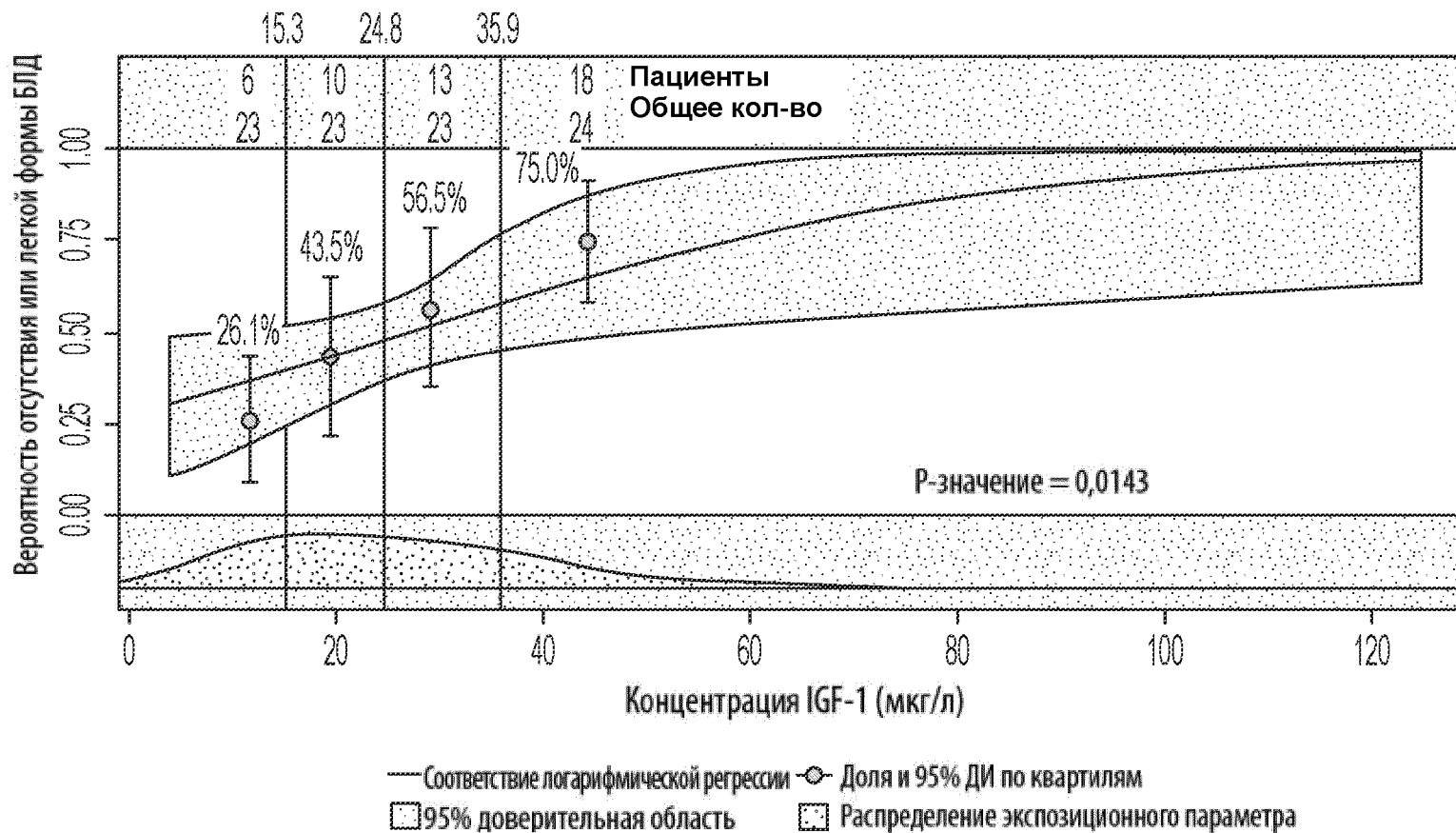
ФИГ. 8А



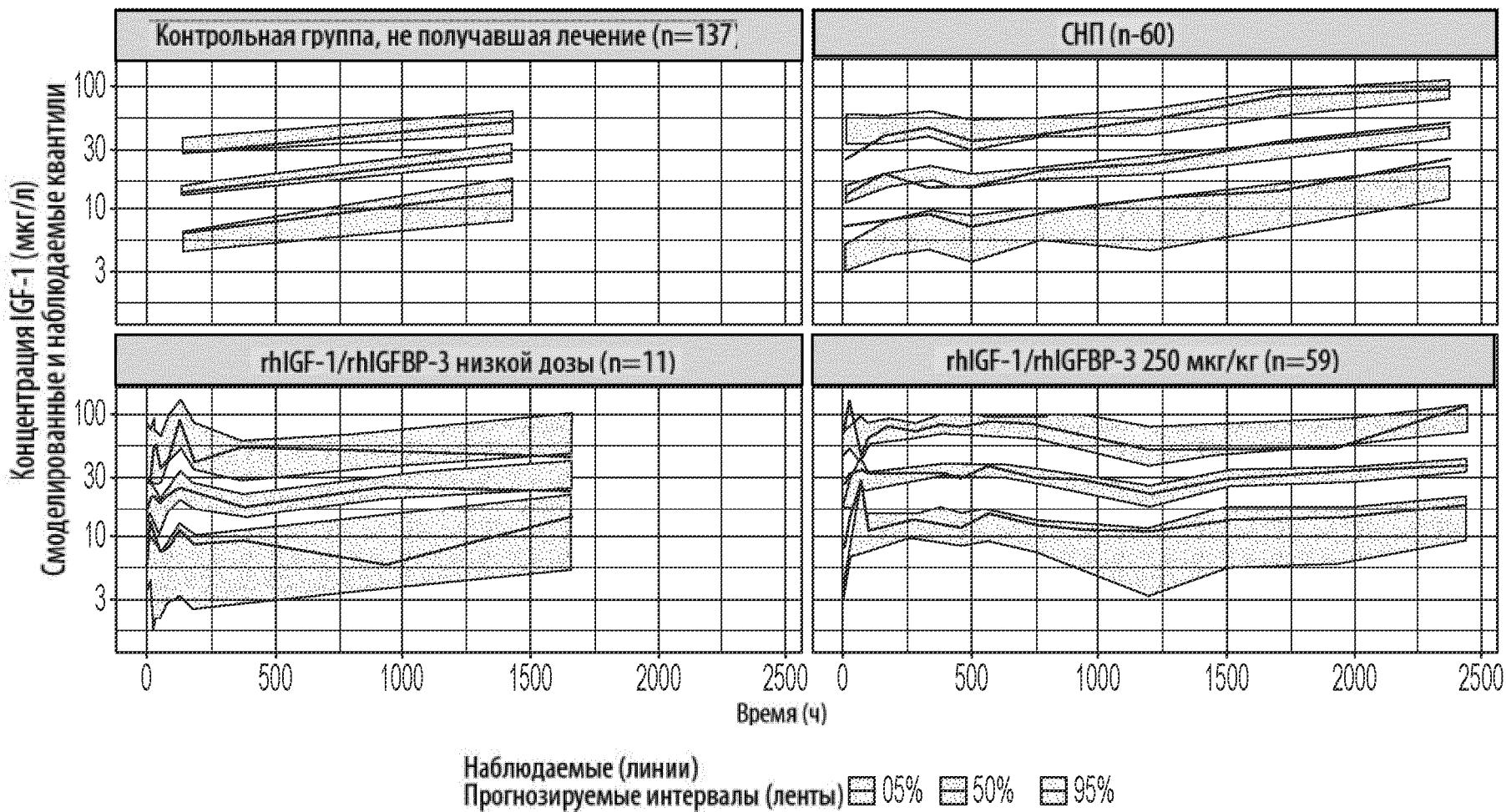
ФИГ. 8В



ФИГ. 8С



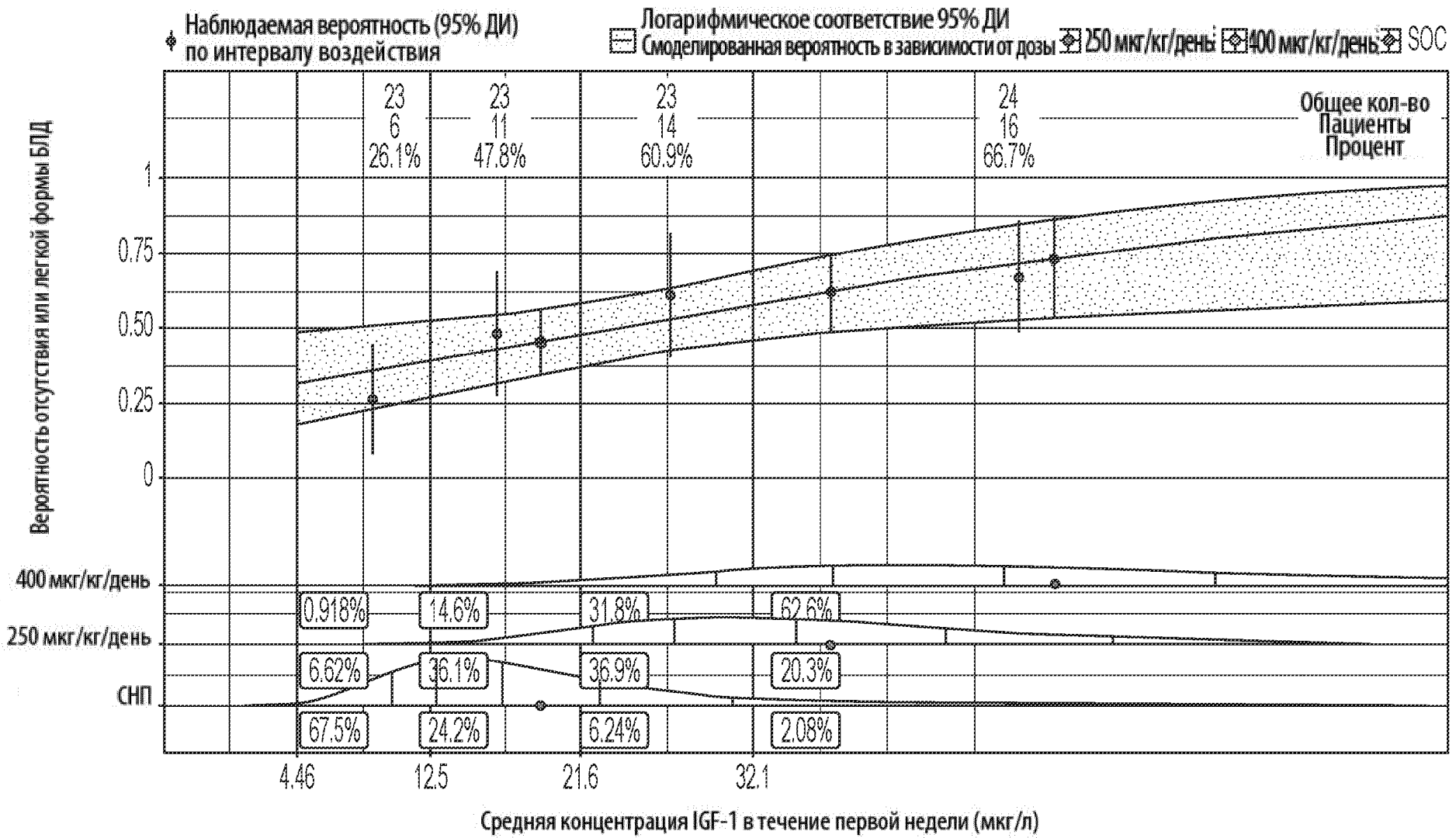
ФИГ. 9



15/19

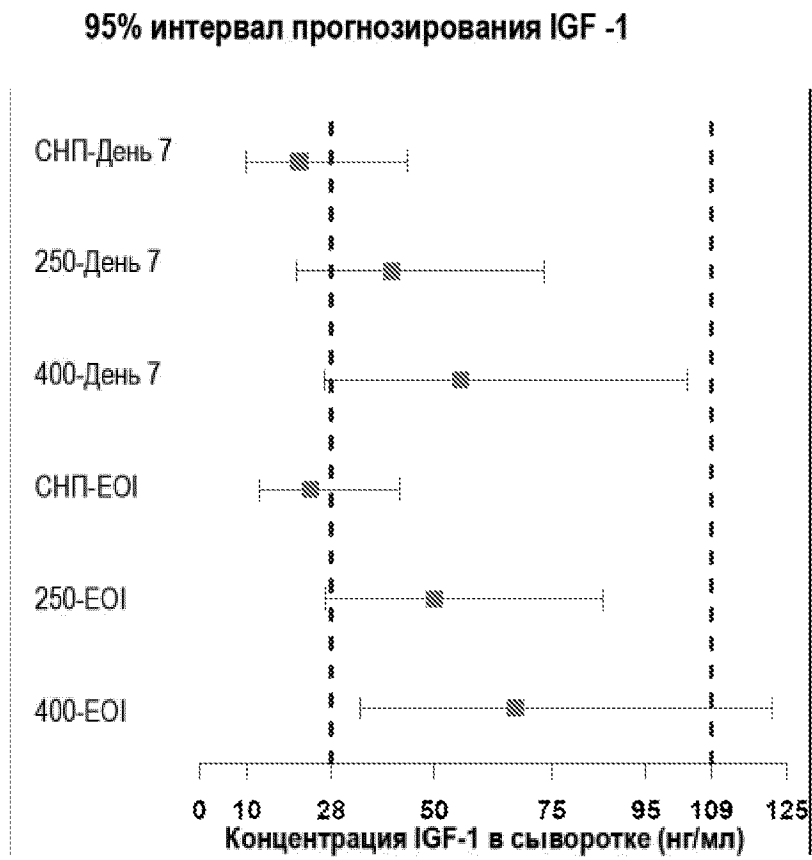
ФИГ. 10

16/19

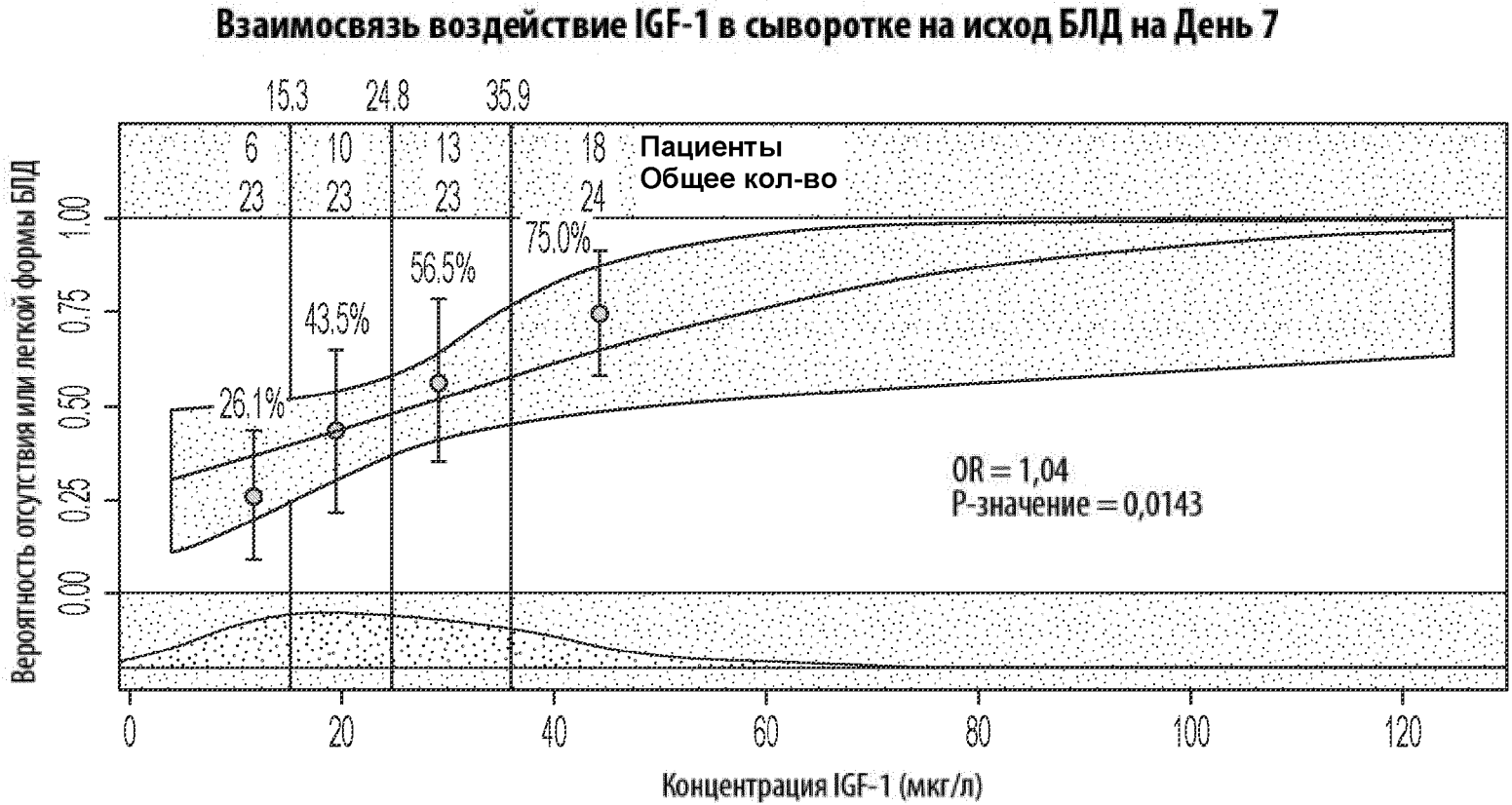


Цифры в рамке представляют собой проценты от смоделированных данных о воздействии в соответствующем квартиле. Сплошные линии представляют собой 90% PI смоделированных данных.

ФИГ. 11

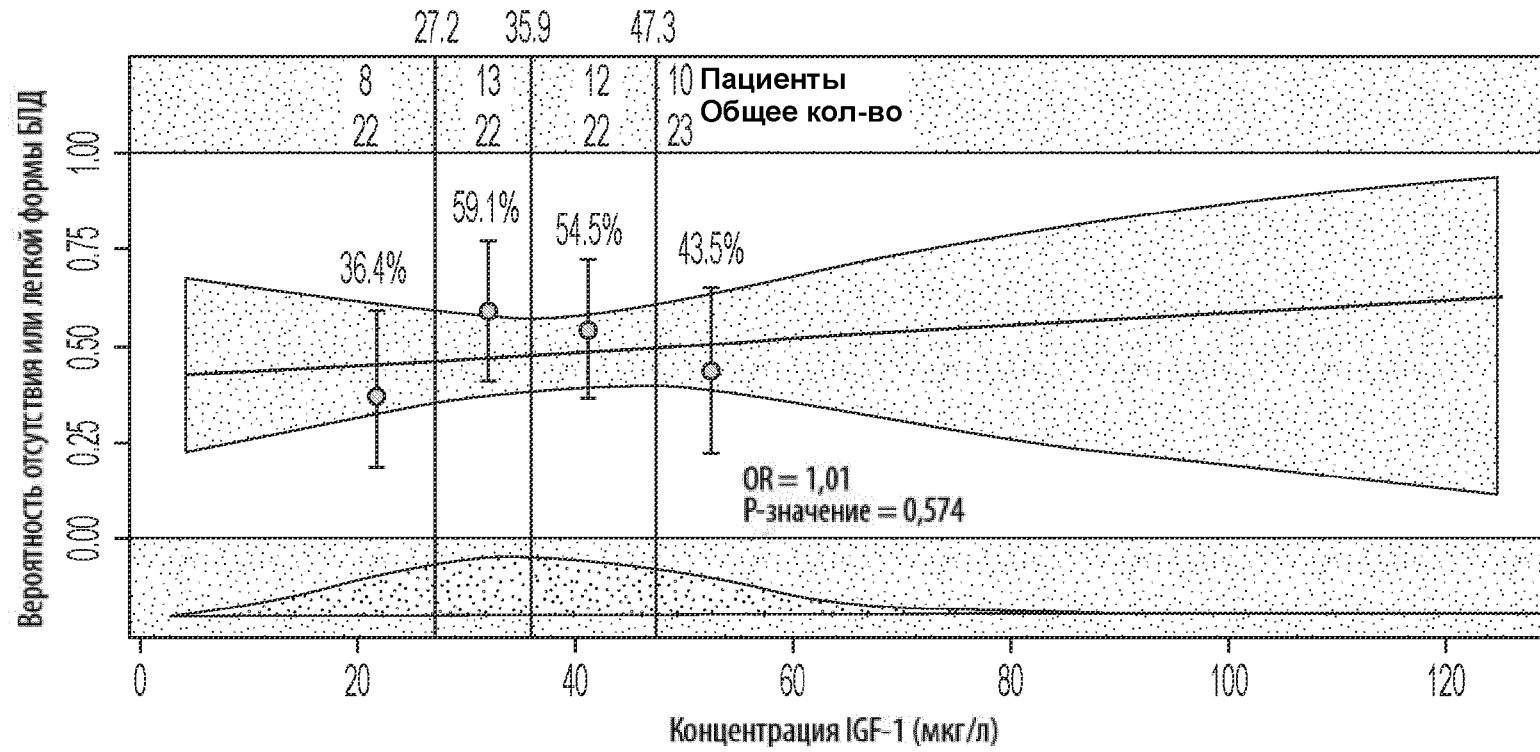


ФИГ. 12



ФИГ. 13А

Взаимосвязь воздействие IGF-1 в сыворотке на исход БЛД на 40 неделю ПМВ



ФИГ. 13В