

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202391578 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.08.09

(22) Дата подачи заявки
2021.12.21

(51) Int. Cl. *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

(54) СОСТАВЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА

(31) 63/129,157

(32) 2020.12.22

(33) US

(86) PCT/US2021/064592

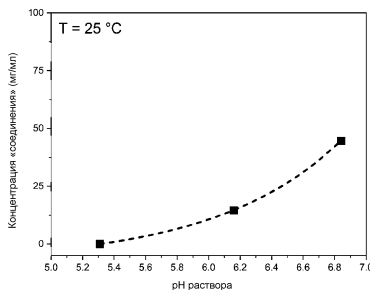
(87) WO 2022/140373 2022.06.30

(71) Заявитель:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Аллен Дэвид Пол, Десаи Дхара
Панкаж, Цянь Кэнь Канъи (US)

(74) Представитель:
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина
Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В., Костюшенкова М.Ю.
(RU)

(57) Стабильные фармацевтические составы для терапевтических двойных агонистов рецептора GLP-1/
рецептора глюкагона и способы применения указанных стабильных фармацевтических составов.



Концентрация Соединения 1 в растворе в зависимости от pH

A1

202391578

202391578

A1

СОСТАВЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА

Настоящее изобретение относится к области медицины. Более конкретно, настоящее изобретение относится к фармацевтическим составам, содержащим терапевтические пептиды, которые подходят для подкожного («ПК»), внутримышечного («ВМ») и/или интраперитонеального («ИП») введения. Еще более конкретно, настоящее изобретение относится к фармацевтическим составам пептидов -двойных агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида (GLP-1) и рецептора глюкагона (Gcg). Ожидается, что указанные фармацевтические составы, содержащие двойной агонист рецептора GLP-1/рецептора Gcg, будут полезны в лечении по меньшей мере диабета 2 типа, ожирения, неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и/или неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

Фармацевтические составы двойных агонистов рецептора GLP-1/глюкагона необходимы для лечения пациентов с по меньшей мере сахарным диабетом 2 типа, ожирением, неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП) и/или неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ). Введение таких терапевтических пептидов ПК, ИП и/или ВМ путем введения широко распространено и является предпочтительным. Указанные пути введения обеспечивают доставку терапевтического пептида за короткий период времени и позволяют пациентам самостоятельно вводить терапевтические пептиды, не посещая медицинского работника. Определенные концентрации пептидов с двойной агонистической активностью в отношении рецептора GLP-1/глюкагона необходимы для фармацевтических составов, чтобы пептид можно было доставить пациенту ПК, ИП и/или ВМ. Указанные фармацевтические составы с определенной концентрацией пептида с двойной агонистической активностью в отношении рецептора GLP-1/глюкагона должны поддерживать физическую и химическую стабильность пептида. Однако включение терапевтических пептидов в жидкие фармацевтические составы, подходящие для ПК, ВМ и/или ИП введения, является сложным и не может быть в должной степени проконтролировано.

Сложность и невозможность надлежащего контроля включения терапевтических пептидов в жидкие фармацевтические составы, подходящие для ПК, ВМ и/или ИП введения, связаны, отчасти, с тем, что фармацевтический состав должен обладать множеством свойств, чтобы быть терапевтически пригодным. Фармацевтические составы должны обеспечивать стабильность терапевтического пептида в растворе и при этом сохранять функциональные характеристики терапевтического пептида, существенные для терапевтической эффективности. Кроме того, жидкий фармацевтический состав также

должен быть безопасным при введении пациентам и хорошо ими переноситься, а также должен подходить для изготовления и хранения.

В патенте США № 9938335 в целом описаны пептиды с двойной агонистической активностью в отношении рецептора GLP-1/глюкагона, вводимые парентеральными путями. Соединение, описанное в примере 2 патента США № 9938335, имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1 (далее называемое Соединением 1). Соединение 1 в настоящее время оценивается для лечения пациентов с диабетом 2 типа. Соединение 1 представляет собой синтетический пептид, состоящий из тридцати четырех аминокислотных остатков, одной неcodируемой аминокислоты (аминоизомасляной кислоты (Aib)), С-концевого амида и фрагмента С20-жирной двухосновной кислоты, ковалентно присоединенного к лизину 20 в указанной последовательности. Ковалентный линкер содержит гамма-глутамат и два звена ПЭГ. С терапевтической точки зрения пептид представляет собой подобный оксинтомодулину ацилированный пептид с активностью двойного агониста человеческого глюкагоноподобного пептида (GLP-1) и глюкагона (Gcg). Он независимо связывает и активирует как рецептор глюкагоноподобного пептида (GLP-1R), так и рецептор глюкагона (GcgR) на поверхности восприимчивых клеток.

Неожиданно было обнаружено, что соединения, описанные в патенте США №9938335, в частности, Соединение 1, обладают субоптимальной растворимостью при более низких значениях pH (например, pH от 5,0 до 6,5). Также было обнаружено, что соединения, описанные в патенте США № 9938335, в частности, Соединение 1, обладают субоптимальной стабильностью в некоторых составах, имеющих значения pH 7,0-8,5. Необходимы фармацевтические составы, содержащие соединение пептида с двойной агонистической активностью в отношении рецептора GLP-1/глюкагона, имеющее аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4, которые позволяют избежать этих наблюдаемых проблем.

Фармацевтические составы, предложенные в настоящем документе, удовлетворяют вышеуказанные потребности. Более конкретно, фармацевтические составы, предложенные в настоящем документе, подходят для ПК, ВМ и/или ИП введения пептидов с двойной агонистической активностью в отношении рецептора GLP-1/глюкагона, сохраняя при этом функциональные характеристики пептида, существенные для достижения терапевтической эффективности.

Соответственно, предложен фармацевтический состав, содержащий:

- (i) соединение следующей формулы:

His-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-
Asp-Glu-Lys-Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Xaa28-
Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

где

- 5 Xaa2 представляет собой Aib;
Xaa28 представляет собой Glu или Ser;
Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации
эпсилон-аминогруппы боковой цепи Lys с C14-C24 жирной кислотой
10 посредством линкера между Lys в положении 20 и C14-C24 жирной
кислотой, причем указанный линкер представляет собой ([2-(2-
аминоэтокси)этокси]ацетил)2-(γ -Glu) t , где t представляет собой 1 или
2; и
С-концевая аминокислота необязательно амидирована (SEQ ID NO:
5),
15 или его фармацевтически приемлемую соль;
(ii) буфер;
(iii) агент для регуляции тоничности; и
(iii) антиоксидант,
причем рН указанного состава составляет 7,8-9,0.

20 В ходе предварительных исследований состава было обнаружено, что соединения,
описанные в настоящем документе, обладают субоптимальной растворимостью при рН
5,0-6,0. Эти исследования выявили, что соединения должны включаться в состав
(формулироваться) при рН приблизительно 7,0 или выше, чтобы иметь подходящую
25 растворимость для ПК, ВМ и/или ИП введения. Однако дальнейшие исследования
состава неожиданно выявили, что соединения, описанные в настоящем документе,
проявляли значительные проблемы со стабильностью при значениях рН в диапазоне от 7,0
до 8,5. Дальнейшие исследования были выполнены, чтобы изучить проблемы со
стабильностью. Неожиданно было обнаружено, что существуют по меньшей мере два
30 механизма, которые могут вызывать проблемы со стабильностью. Во-первых, считалось,
что соединения могут быть подвержены образованию фибрилл из-за сходства
последовательности с нативным человеческим глюкагоном. Исследования, описанные в
настоящем документе, демонстрируют, что соединения подвержены значительному
образованию фибрилл при рН менее 7,8. Во-вторых, считалось, что соединения могут
35 быть подвержены окислению по некоторым аминокислотным остаткам, особенно
гистидину (His, H) в положении 1 и триптофану (Trp, W) в положении 25. Исследования,

описанные в настоящем документе, демонстрируют, что соединения подвержены окислению. Соединения изготовлены, как описано выше, для устранения этих подтвержденных причин проблем со стабильностью. Изготовление составов соединений в диапазоне рН 7,8-9,0 позволяет избежать образования фибрилл. Включение антиоксиданта значительно уменьшает или устраняет агрегаты, образующиеся в результате окисления соединения.

Согласно дополнительному варианту реализации С14-С24 жирная кислота представляет собой насыщенную одноосновную кислоту или насыщенную двухосновную кислоту, выбранную из группы, состоящей из миристиновой кислоты (тетрадекановой кислоты) (С14 одноосновной кислоты), тетрадекандиовой кислоты (С14 двухосновной кислоты), пальмитиновой кислоты (гексадекановой кислоты) (С16 одноосновной кислоты), гексадекандиовой кислоты (С16 двухосновной кислоты), маргариновой кислоты (гептадекановой кислоты) (С17 одноосновной кислоты), гептадекандиовой кислоты (С17 двухосновной кислоты), стеариновой кислоты (октадекановой кислоты) (С18 одноосновной кислоты), октадекандиовой кислоты (С18 двухосновной кислоты), нонадециловой кислоты (нонадекановой кислоты) (С19 одноосновной кислоты), нонадекандиовой кислоты (С19 двухосновной кислоты), арахидиновой кислоты (эйкозановой кислоты) (С20 одноосновной кислоты), эйкозандиовой кислоты (С20 двухосновной кислоты), генийкозиловой кислоты (генийкозановой кислоты) (С21 одноосновной кислоты), генийкозандиовой кислоты (С21 двухосновной кислоты), бегеновой кислоты (докозановой кислоты) (С22), докозандиовой кислоты (С22 двухосновной кислоты), лигноцереновой кислоты (тетракозановой кислоты) (С24 одноосновной кислоты) и тетракозандиовой кислоты (С24 двухосновной кислоты).

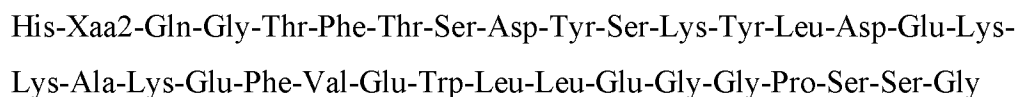
Предпочтительно С14-С24 жирная кислота представляет собой октадекандиовую кислоту.

В качестве предпочтительной альтернативы, С14-С24 жирная кислота представляет собой эйкозандиовую кислоту.

В предпочтительном варианте реализации настоящего изобретения С-концевая аминокислота амидирована.

Согласно дополнительному варианту реализации настоящего изобретения соединение выбрано из группы, состоящей из:

(а) соединения следующей формулы:



где Xaa 2 представляет собой Aib;

Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(gamma-Glu)-CO-(CH₂)₁₈CO₂H; и

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 1) (Соединение 1),
или его фармацевтически приемлемую соль;

(b) соединения следующей формулы:

His-Xaa₂-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-
Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Ser-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

где Xaa₂ представляет собой Aib;

10 Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(gamma-Glu)2-CO-(CH₂)₁₈CO₂H; и

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 2) (далее называется Соединением 2),

15 или его фармацевтически приемлемую соль;

(c) соединения следующей формулы:

His-Xaa₂-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-
Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Glu-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

где Xaa₂ представляет собой Aib;

20 Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(gamma-Glu)-CO-(CH₂)₁₆CO₂H; и

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 3) (далее называется Соединением 3),

25 или его фармацевтически приемлемой соли; и

(d) соединения следующей формулы:

His-Xaa₂-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-
Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Ser-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

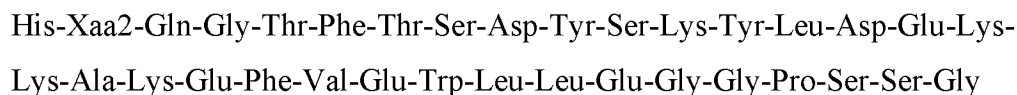
где Xaa₂ представляет собой Aib;

30 Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(gamma-Glu)2-CO-(CH₂)₁₆CO₂H; и

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 4) (далее называется Соединением 4),

35 или его фармацевтически приемлемой соли.

В предпочтительном варианте реализации настоящего изобретения соединение имеет следующую формулу:



5 где Xaa 2 представляет собой Aib;

Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(γ-Glu)-CO-(CH₂)₁₈CO₂H; и

10 C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 1) (Соединение 1), или его фармацевтически приемлемой соли.

Согласно дополнительному варианту реализации состав содержит от 1 мг/мл до 100 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

Предпочтительно состав содержит от 5 мг/мл до 90 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

15 Более предпочтительно состав содержит от 10 мг/мл до 80 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

Еще более предпочтительно состав содержит от 20 мг/мл до 70 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

20 Еще более предпочтительно состав содержит от 30 мг/мл до 60 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

Еще более предпочтительно состав содержит от 40 мг/мл до 50 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В качестве альтернативы, состав содержит от 1 мг/мл до 50 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

25 В качестве другой альтернативы, состав содержит от 2 мг/мл до 45 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В качестве еще одной альтернативы, состав содержит от 3 мг/мл до 40 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

30 В качестве еще одной альтернативы, состав содержит от 4 мг/мл до 35 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В качестве еще одной альтернативы, состав содержит от 5 мг/мл до 30 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В качестве еще одной альтернативы, состав содержит от 6 мг/мл до 25 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В качестве еще одной альтернативы, состав содержит от 7 мг/мл до 20 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В качестве еще одной альтернативы, состав содержит от 8 мг/мл до 15 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

5 В качестве предпочтительной альтернативы, состав содержит 1 мг/мл, 2 мг/мл, 3 мг/мл, 4 мг/мл, 5 мг/мл, 6 мг/мл, 7 мг/мл, 8 мг/мл, 9 мг/мл, 10 мг/мл, 11 мг/мл, 12 мг/мл, 13 мг/мл, 14 мг/мл, 15 мг/мл, 16 мг/мл, 17 мг/мл, 18 мг/мл, 19 мг/мл, 20 мг/мл, 21 мг/мл, 22 мг/мл, 23 мг/мл, 24 мг/мл, 25 мг/мл, 26 мг/мл, 27 мг/мл, 28 мг/мл, 29 мг/мл, 30 мг/мл, 31 мг/мл, 32 мг/мл, 33 мг/мл, 34 мг/мл, 35 мг/мл, 36 мг/мл, 37 мг/мл, 38 мг/мл, 39 мг/мл, 40 мг/мл, 41 мг/мл, 42 мг/мл, 43 мг/мл, 44 мг/мл, 45 мг/мл, 46 мг/мл, 47 мг/мл, 48 мг/мл, 49 мг/мл, 50 мг/мл, 55 мг/мл, 60 мг/мл, 65 мг/мл, 70 мг/мл, 75 мг/мл, 80 мг/мл, 85 мг/мл, 90 мг/мл, 95 мг/мл или 100 мг/мл соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения буфер выбран из группы, состоящей из фосфатного буфера и трис(гидроксиметил)аминометанового буфера (или 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диол[(НОСН₂)₃CNH₂]).

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения состав содержит от 1 мМ до 20 мМ буфера.

Предпочтительно состав содержит от 3 мМ до 18 мМ буфера.

Более предпочтительно состав содержит от 5 мМ до 15 мМ буфера.

20 Еще более предпочтительно состав содержит от 8 мМ до 12 мМ буфера.

Еще более предпочтительно состав содержит от 9 мМ до 11 мМ буфера.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения состав содержит 1 мМ буфера, 2 мМ буфера, 3 мМ буфера, 4 мМ буфера, 5 мМ буфера, 6 мМ буфера, 7 мМ буфера, 8 мМ буфера, 9 мМ буфера, 10 мМ буфера, 11 мМ буфера, 12 мМ буфера, 13 мМ буфера, 14 мМ буфера, 15 мМ буфера, 16 мМ буфера, 17 мМ буфера, 18 мМ буфера, 19 мМ буфера или 20 мМ буфера.

В предпочтительном варианте реализации буфер представляет собой трис(гидроксиметил)аминометановый буфер (трис).

30 Более предпочтительно состав содержит 1 мМ трис-буфера, 2 мМ трис-буфера, 3 мМ трис-буфера, 4 мМ трис-буфера, 5 мМ трис-буфера, 6 мМ трис-буфера, 7 мМ трис-буфера, 8 мМ трис-буфера, 9 мМ трис-буфера, 10 мМ трис-буфера, 11 мМ трис-буфера, 12 мМ трис-буфера, 13 мМ трис-буфера, 14 мМ трис-буфера, 15 мМ трис-буфера, 16 мМ трис-буфера, 17 мМ трис-буфера, 18 мМ трис-буфера, 19 мМ трис-буфера или 20 мМ трис-буфера.

35 Более предпочтительно состав содержит 10 мМ трис-буфера.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения агент для регуляции тоничности выбран из группы, состоящей из маннитола, сахарозы, трегалозы, глицерина, пропиленгликоля, хлорида натрия и гидрохлорида аргинина.

Агент для регуляции тоничности представляет собой вспомогательное вещество, выбранное для модуляции тоничности состава. Тоничность в целом относится к осмотическому давлению раствора, обычно относительно осмотического давления сыворотки крови человека. Состав может быть гипотоническим, изотоническим или гипертоническим. Концентрация агента для регуляции тоничности зависит от желаемой тоничности и молекулярной массы конкретного выбранного агента. Например, 25 мг/мл глицерина окажут такое же влияние на тоничность водного раствора, как и 95 мг/мл сахарозы. Другие вспомогательные вещества могут влиять на тоничность состава, и концентрацию агента для регуляции тоничности модифицируют в соответствии с желаемым результатом и молекулярной массой используемого агента.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения состав содержит от 5 мг/мл до 150 мг/мл агента для регуляции тоничности.

Предпочтительно состав содержит от 10 мг/мл до 120 мг/мл агента для регуляции тоничности.

Более предпочтительно состав содержит от 20 мг/мл до 100 мг/мл агента для регуляции тоничности.

Еще более предпочтительно состав содержит от 30 мг/мл до 80 мг/мл агента для регуляции тоничности.

Еще более предпочтительно состав содержит от 40 мг/мл до 60 мг/мл агента для регуляции тоничности.

Еще более предпочтительно состав содержит от 45 мг/мл до 55 мг/мл агента для регуляции тоничности.

В предпочтительном варианте реализации настоящего изобретения агент для регуляции тоничности представляет собой маннитол.

Еще более предпочтительно состав содержит от 10 мг/мл до 90 мг/мл маннитола.

Еще более предпочтительно состав содержит от 20 мг/мл до 80 мг/мл маннитола.

Еще более предпочтительно состав содержит от 30 мг/мл до 70 мг/мл маннитола.

Еще более предпочтительно состав содержит от 40 мг/мл до 60 мг/мл маннитола.

Еще более предпочтительно состав содержит от 45 мг/мл до 55 мг/мл маннитола.

Более предпочтительно состав содержит 50 мг/мл маннитола.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант выбран из группы, состоящей из ловушек радикалов, хелаторов или обрывающих цепь агентов.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения состав содержит 0,05-10,0 мг/мл антиоксиданта.

Предпочтительно состав содержит 0,1-5,0 мг/мл антиоксиданта.

Более предпочтительно состав содержит 0,2-1,0 мг/мл антиоксиданта.

5 В качестве предпочтительной альтернативы, состав содержит 0,05 мг/мл антиоксиданта, 0,075 мг/мл антиоксиданта, 0,1 мг/мл антиоксиданта, 0,2 мг/мл антиоксиданта, 0,3 мг/мл антиоксиданта, 0,4 мг/мл антиоксиданта, 0,5 мг/мл антиоксиданта, 0,6 мг/мл антиоксиданта, 0,7 мг/мл антиоксиданта, 0,8 мг/мл антиоксиданта, 0,9 мг/мл антиоксиданта, 1,0 мг/мл антиоксиданта, 1,1 мг/мл антиоксиданта, 1,2 мг/мл антиоксиданта, 1,3 мг/мл антиоксиданта, 1,4 мг/мл антиоксиданта, 1,5 мг/мл антиоксиданта, 1,6 мг/мл антиоксиданта, 1,7 мг/мл антиоксиданта, 1,8 мг/мл антиоксиданта, 1,9 мг/мл антиоксиданта, 2,0 мг/мл антиоксиданта, 2,5 мг/мл антиоксиданта, 3,0 мг/мл антиоксиданта, 3,5 мг/мл антиоксиданта, 4,0 мг/мл антиоксиданта, 4,5 мг/мл антиоксиданта, 5,0 мг/мл антиоксиданта, 5,5 мг/мл антиоксиданта, 6,0 мг/мл антиоксиданта, 6,5 мг/мл антиоксиданта, 7,0 мг/мл антиоксиданта, 7,5 мг/мл антиоксиданта, 8,0 мг/мл антиоксиданта, 8,5 мг/мл антиоксиданта, 9,0 мг/мл антиоксиданта, 9,5 мг/мл антиоксиданта или 10,0 мг/мл антиоксиданта.

В предпочтительном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой ловушку радикалов.

Более предпочтительно антиоксидант выбран из группы, состоящей из ЭДТА, лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, бутилированного гидрокситолуола (ВНТ), бутилированного гидроксизанола (ВНА), сульфита натрия, п-аминобензойной кислоты, глутатиона, пропилгаллата, цистеина, гистидина, метионина, этанола и N-ацетилцистеина.

25 Еще более предпочтительно антиоксидант представляет собой ЭДТА.

Еще более предпочтительно состав содержит 0,05-10,0 мг/мл ЭДТА.

Еще более предпочтительно состав содержит 0,1-5,0 мг/мл ЭДТА.

Еще более предпочтительно состав содержит 0,2-1,0 мг/мл ЭДТА.

В качестве предпочтительной альтернативы, состав содержит 0,05 мг/мл ЭДТА, 0,075 мг/мл ЭДТА, 0,1 мг/мл ЭДТА, 0,2 мг/мл ЭДТА, 0,3 мг/мл ЭДТА, 0,4 мг/мл ЭДТА, 0,5 мг /мл ЭДТА, 0,6 мг/мл ЭДТА, 0,7 мг/мл ЭДТА, 0,8 мг/мл ЭДТА, 0,9 мг/мл ЭДТА, 1,0 мг/мл ЭДТА, 1,1 мг/мл ЭДТА, 1,2 мг/мл ЭДТА, 1,3 мг/мл ЭДТА, 1,4 мг/мл ЭДТА, 1,5 мг/мл ЭДТА, 1,6 мг/мл ЭДТА, 1,7 мг/мл ЭДТА, 1,8 мг/мл ЭДТА, 1,9 мг/мл ЭДТА, 2,0 мг/мл ЭДТА, 2,5 мг/мл ЭДТА, 3,0 мг/мл ЭДТА, 3,5 мг/мл ЭДТА, 4,0 мг/мл ЭДТА, 4,5 мг/мл ЭДТА, 5,0 мг/мл ЭДТА, 5,5 мг/мл ЭДТА, 6,0 мг/мл ЭДТА, 6,5 мг/мл ЭДТА, 7,0

мг/мл ЭДТА, 7,5 мг/мл ЭДТА, 8,0 мг/мл ЭДТА, 8,5 мг/мл ЭДТА, 9,0 мг/мл ЭДТА, 9,5 мг/мл ЭДТА или 10,0 мг/мл ЭДТА.

Более предпочтительно состав содержит 0,5 мг/мл ЭДТА.

5 В качестве предпочтительной альтернативы, антиоксидант представляет собой лимонную кислоту.

Еще более предпочтительно состав содержит 1-20 мМ лимонной кислоты.

Еще более предпочтительно состав содержит 5-15 мМ лимонной кислоты.

Еще более предпочтительно состав содержит 8-12 мМ лимонной кислоты.

10 В качестве предпочтительной альтернативы, состав содержит 1 мМ лимонной кислоты, 1,5 мМ лимонной кислоты, 2 мМ лимонной кислоты, 2,5 мМ лимонной кислоты, 3 мМ лимонной кислоты, 3,5 мМ лимонной кислоты, 4 мМ лимонной кислоты, 4,5 мМ лимонной кислоты, 5 мМ лимонной кислоты, 5,5 мМ лимонной кислоты, 6 мМ лимонной кислоты, 6,5 мМ лимонной кислоты, 7 мМ лимонной кислоты, 7,5 мМ лимонной кислоты, 8 мМ лимонной кислоты, 8,5 мМ лимонной кислоты, 9 мМ лимонной кислоты, 9,5 мМ лимонной кислоты, 10 мМ лимонной кислоты, 10,5 мМ лимонной кислоты, 11 мМ лимонной кислоты, 11,5 мМ лимонной кислоты, 12 мМ лимонной кислоты, 13 мМ лимонной кислоты, 13,5 мМ лимонной кислоты, 14 мМ лимонной кислоты, 14,5 мМ лимонной кислоты, 15 мМ лимонной кислоты, 15,5 мМ лимонной кислоты, 16 мМ лимонной кислоты, 16,5 мМ лимонной кислоты, 17 мМ лимонной кислоты, 17,5 мМ лимонной кислоты, 18 мМ лимонной кислоты, 18,5 мМ лимонной кислоты, 19 мМ лимонной кислоты, 19,5 мМ лимонной кислоты или 20 мМ лимонной кислоты.

Более предпочтительно состав содержит 10 мМ лимонной кислоты.

В альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой аскорбиновую кислоту.

25 В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой бутилированный гидрокситолуол (ВНТ).

В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой бутилированный гидроксианизол (ВНА).

30 В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой сульфит натрия.

В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой п-аминобензойную кислоту.

В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой глутатион.

В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой пропилгаллат.

В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой цистеин.

5 В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой гистидин.

В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой метионин.

10 В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой этанол.

В другом альтернативном варианте реализации настоящего изобретения антиоксидант представляет собой N-ацетилцистеин.

В предпочтительном варианте реализации настоящего изобретения pH состава составляет 8,0-8,6.

15 Также предпочтительно pH состава составляет 8,0-8,3.

В предпочтительном варианте реализации настоящего изобретения фармацевтический состав содержит:

(i) от 1 мг/мл до 100 мг/мл соединения следующей формулы:

20 His-Xaa²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-
Lys-Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Glu-Gly-Gly-Pro-Ser-
Ser-Gly

где Xaa² представляет собой Aib;

25 Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)²-(γ-Glu)-CO-(CH₂)₁₈CO₂H; и

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 1) (Соединение 1) или его фармацевтически приемлемую соль;

(ii) 10 mM трис-буфера;

(iii) 46 мг/мл маннитола;

30 (iv) 0,5 мг/мл ЭДТА,

причем pH указанного состава составляет 8,0-8,3.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения предложен способ лечения и/или предотвращения диабета 2 типа, ожирения, неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и/или неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), причем

указанный способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества фармацевтического состава, описанного в настоящем документе.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения предложен фармацевтический состав, описанный в настоящем документе, для применения при
5 лечении и/или предотвращении диабета 2 типа, ожирения, НАЖБП и/или НАСГ.

В еще одном варианте реализации настоящего изобретения предложено применение фармацевтического состава, описанного в настоящем документе, в изготовлении лекарственного средства для применения при лечении диабета 2 типа, ожирения, НАЖБП и/или НАСГ.

10 В настоящем документе выражение «фармацевтический состав» обозначает раствор, содержащий по меньшей мере один активный фармацевтический ингредиент (АФИ), способный обеспечивать биологический эффект у человека, по меньшей мере один неактивный ингредиент (например, буфер, вспомогательное вещество,
15 поверхностно-активное вещество и т.д.), который при объединении с АФИ подходит для терапевтического введения человеку. Фармацевтические составы согласно настоящему изобретению представляют собой стабильные составы, в которых степень деградации, модификации, агрегации, потери биологической активности и т.п. содержащихся в них терапевтических соединений контролируется приемлемым образом и не увеличивается со временем до неприемлемого уровня.

20 В контексте настоящего изобретения АФИ представляет собой Соединение 1 или его фармацевтически приемлемую соль, Соединение 2 или его фармацевтически приемлемую соль, Соединение 3 или его фармацевтически приемлемую соль, или Соединение 4 или его фармацевтически приемлемую соль. Соединения 1, 2, 3 и 4 и их фармацевтически приемлемые соли и способы их получения описаны в патенте США №
25 9938335.

В настоящем документе термин «фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество» относится к любому ингредиенту, не обладающему терапевтической активностью и обладающему приемлемой токсичностью, такому как буферы, растворители, агенты для регуляции тоничности, стабилизаторы, антиоксиданты,
30 поверхностно-активные вещества или полимеры, используемые при изготовлении фармацевтических продуктов. Обычно они безопасны для введения людям в соответствии с установленными государственными стандартами, в том числе стандартами, опубликованными Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США.

В настоящем документе термин «буфер» в настоящем документе относится к раствору, устойчивому к изменениям pH. Буфер может включать слабую кислоту и ее соль или слабое основание и его соль, которые помогают поддерживать стабильность pH. Примеры буферов, используемых в фармацевтических составах, включают бикарбонатные буферы, карбонатные буферы, цитратные буферы, гистидиновые буферы, фосфатные буферы, тартратные буферы, трис(гидроксиметил)аминометановые (или 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диол[(НОСН₂)₃СNH₂]) буферы и их комбинации. Некоторые из этих буферов подходят для фармацевтических составов, вводимых подкожно. Буферы выбирают для применения в фармацевтическом составе в соответствии с желаемым pH состава. Например, pH фармацевтических составов согласно настоящему изобретению составляет от 7,8 до 9,0. Буферы, подходящие для достижения этого pH, включают бикарбонатный буфер, карбонатный буфер, фосфатный буфер, трис(гидроксиметил)аминометановый (или 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диол[(НОСН₂)₃СNH₂]) буфер и буфер на основе гидроксида натрия (NaOH). Из указанных буферов фосфатные буферы и трис-буферы являются предпочтительными для применения в составах для инъекций. pH состава можно корректировать с использованием физиологически подходящих кислот и оснований, которые могут потребоваться для достижения желаемого pH (например, может потребоваться корректировка pH по мере увеличения или уменьшения концентрации АФИ в составе).

Трис(гидроксиметил)аминометан или трис(гидроксиметил)аминометановый буфер может упоминаться как «ТРИС», «трис», «трис-основание», «трис-буфер», «трисамин», «ТНАМ» и под другими названиями. Кроме того, многие буферы и/или буферные системы включают трис. Например, забуференный трисом солевой раствор («ТBS»), трис-гидрохлоридный буфер («трис-НСl»), трис-основание (pH 10,6), трис/борат/этилендиаминтетраацетатный («ЭДТА») буфер («ТВЕ») и буфер на основе трис/ацетат/ЭДТА («ТАЕ»). Трис-основание часто используется с трис-НСl для приготовления трис-буферов с желаемым pH.

Термин «агент для регуляции тоничности» в настоящем документе относится к фармацевтически приемлемым вспомогательным веществам, используемым для модуляции тоничности состава. Тоничность в целом относится к осмотическому давлению раствора, обычно относительно осмотического давления сыворотки крови человека. Состав может быть гипотоническим, изотоническим или гипертоническим. Подходящие агенты для регуляции тоничности включают, но не ограничиваются ими, соли, аминокислоты и сахара. Предпочтительные агенты для регуляции тоничности для применения в фармацевтических составах согласно настоящему изобретению включают

маннитол, сахарозу, трегалозу, пропиленгликоль, глицерин, хлорид натрия и гидрохлорид аргинина.

Термин «антиоксидант» относится к фармацевтически приемлемым вспомогательным веществам, которые предотвращают окисление АФИ. Антиоксиданты, подходящие для применения в фармацевтических составах согласно настоящему изобретению, включают хелатирующие агенты (ЭДТА, лимонную кислоту), ловушки активных форм кислорода (аскорбиновую кислоту, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), бутилированный гидроксианизол (ВНА), сульфит натрия, п-аминобензойную кислоту, глутатион, пропилгаллат) и обрывающие цепь агенты (гистидин, цистеин, метионин, этанол и N-ацетилцистеин).

Альтернативные буферы, агенты для регуляции тоничности и антиоксиданты, которые могут быть пригодны для применения в фармацевтических составах согласно настоящему изобретению, описаны в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 23rd Edition, (редактор - Adeboye Adejare).

Фармацевтические составы, описанные в настоящем документе, могут включать другие подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, такие как солюбилизаторы, эмульгаторы, поверхностно-активные вещества, консерванты, красители, регуляторы вязкости и стабилизаторы.

В настоящем документе могут использоваться термины «примерно» или «приблизительно», которые при описании конкретного указанного числового значения или диапазона значений означают, что данное значение может отклоняться от указанного значения не более чем на 10% (например, +/- 10%). Например, в настоящем документе выражение «примерно 100» включает 90 и 110 и все значения между ними (например, 91, 92, 93, 94 и т. д.).

Предполагается, что используемые взаимозаменяемо в настоящем документе термины «лечение» и/или «осуществлять лечение» и/или «лечить» относятся ко всем способам, при которых может происходить полное устранение, замедление или задержка, снижение тяжести или частоты (например, обострений или приступов), прерывание или блокирование прогрессирования заболевания и/или его симптомов, но не требуют полного устранения всех симптомов заболевания. Лечение включает введение фармацевтического состава согласно настоящему изобретению для лечения заболевания у человека, которому был бы полезен один из перечисленных выше процессов, включая: (a) ингибирование дальнейшего прогрессирования симптомов и эффектов заболевания, т.е. блокирование его развития; (b) облегчение заболевания, т.е. обеспечение устранения или регрессии заболевания, симптомов заболевания или его осложнений; и (c) предотвращение или

снижение частоты приступов или обострений заболевания. Согласно конкретным вариантам реализации фармацевтические составы, предложенные в настоящем документе, можно применять при лечении по меньшей мере одного из диабета II типа, ожирения, НАЖБП и НАСГ.

5 Используемые в настоящем документе взаимозаменяемо термины «пациент», «субъект» и «индивидуум» относятся к человеку. Если не указано иное, субъект дополнительно характеризуется как страдающий от, подверженный риску развития или имеющий симптомы заболевания, при котором введение фармацевтического состава, описанного в настоящем документе, может обеспечивать благоприятное действие.

10 Используемые взаимозаменяемо в настоящем документе термины «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» фармацевтического состава согласно настоящему изобретению относятся к количеству (при выбранных дозировках, частоте введения и продолжительности конкретного способа введения), необходимому для достижения желаемого терапевтического результата. Эффективное количество
15 фармацевтического состава согласно настоящему изобретению может изменяться в зависимости от факторов, таких как болезненное состояние, возраст, пол и масса тела субъекта и способность фармацевтического состава согласно настоящему изобретению вызывать желаемый ответ у субъекта. Эффективное количество также представляет собой количество, для которого любые токсические или вредные эффекты фармацевтического
20 состава согласно настоящему изобретению перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами.

 Фармацевтические составы согласно настоящему изобретению могут быть введены пациенту парентеральным путем введения. Парентеральное введение, в соответствии с пониманием в области медицины, относится к инъекции дозы в организм при помощи
25 стерильного шприца или некоей другой системы доставки лекарственного средства, включая автоинъектор или инфузионную помпу. Примеры систем доставки лекарственных средств для применения совместно с фармацевтическими составами согласно настоящему изобретению описаны в последующих документах, содержание которых явным образом полностью включено в настоящий документ посредством ссылки:
30 публикация заявки на патент США №2014/0054883, авторы Ланиган с сотрудниками (Lanigan et al.), подана 7 марта 2013 года, название «Блок инфузионной помпы» (“Infusion Pump Assembly”); патент США №7291132, авторы ДеРунтц с сотрудниками (DeRuntz et al.), подан 3 февраля 2006 года, название «Устройство для введения лекарственного средства с тройной винтовой нарезкой для усовершенствования механических свойств»
35 (“Medication Dispensing Apparatus with Triple Screw Threads for Mechanical Advantage”);

патент США №7517334, авторы Якобс с сотрудниками (Jacobs et al.), подан 18 сентября 2006 года, название «Устройство для введения лекарственного средства с пружинным запорным устройством, активируемым после введения конечной дозы» (“Medication Dispensing Apparatus with Spring-Driven Locking Feature Enabled by Administration of Final Dose”); и патент США №8734394, авторы Адамс с сотрудниками (Adams et al.), подан 24 августа 2012 года, название «Автоматическое устройство для инъекции с механизмом задержки, включающее поджимной элемент с двойной функцией» (“Automatic Injection Device with Delay Mechanism Including Dual Functioning Biasing Member”).

Парентеральные пути включают ВМ, ПК и ИП пути введения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фигура 1 иллюстрирует концентрацию Соединения 1 в растворе при изменении рН от приблизительно 5,0 до приблизительно 7,0.

5 **Фигура 2a** иллюстрирует общее содержание агрегатов жидких составов Соединения 1, измеренное с помощью эксклюзионной хроматографии (ЭХ) в матриксах составов, содержащих 10 мМ фосфатного буфера, либо с NaCl, либо с глицерином в качестве агента для регуляции тоничности.

10 **Фигура 2b** иллюстрирует общее содержание агрегатов жидких составов Соединения 1, измеренное с помощью ЭХ в матриксах составов, содержащих 10 мМ трис-буфера, либо с NaCl, либо с глицерином в качестве агента для регуляции тоничности.

Фигура 3a иллюстрирует риск образования фибрилл Соединения 1 в зависимости от рН, когда 2 мг/мл Соединения 1 включают в состав при различных условиях рН и добавляют фибриллы.

15 **Фигура 3b** иллюстрирует риск образования фибрилл Соединения 1 в зависимости от рН, когда 12 мг/мл Соединения 1 включают в состав при различных условиях рН и добавляют фибриллы.

20 **Фигура 4** представляет собой хроматограмму ОФ-ВЭЖХ, иллюстрирующую влияние теплового стресса при хранении 2 мг/мл жидких составов Соединения 1 при 40°C до 4 недель.

Фигура 5a представляет собой хроматограмму ОФ-ВЭЖХ 2 мг/мл лекарственного продукта Соединения 1, изготовленного с 0,5 мг/мл ЭДТА, иллюстрирующую влияние переходных металлов и H₂O₂.

25 **Фигура 5b** представляет собой хроматограмму ОФ-ВЭЖХ 2 мг/мл лекарственного продукта Соединения 1, изготовленного без ЭДТА, иллюстрирующую влияние переходных металлов и H₂O₂.

Фигура 6a иллюстрирует общее содержание агрегатов в составах Соединения 1, хранившихся при 5°C, измеренное с помощью эксклюзионной хроматографии (ЭХ) в месяцы 0, 1 и 3.

30 **Фигура 6b** иллюстрирует общее содержание агрегатов в составах Соединения 1, хранившихся при 25°C, измеренное с помощью эксклюзионной хроматографии (ЭХ) в месяцы 0, 1 и 3.

35 **Фигура 6c** иллюстрирует общее содержание агрегатов в составах Соединения 1, хранившихся при 30°C, измеренное с помощью эксклюзионной хроматографии (ЭХ) в месяцы 0, 1 и 3.

5

ПРИМЕРЫ

Получение Соединений 1, 2, 3 и 4.

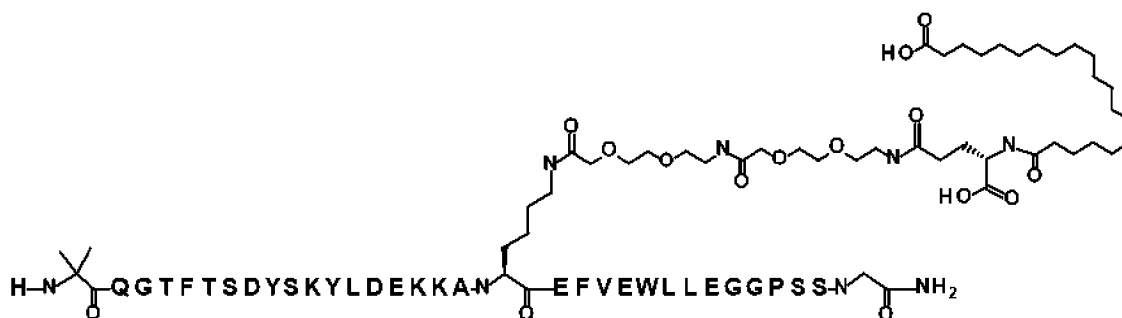
Соединение 1

10 HXaa2QGTFTSDYSKYLDEKKAKEFVEWLLEGGPSSG

где Xaa2 представляет собой Aib;

15 К в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи К с ([2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил)2-(γGlu)1-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H; и

С-концевая аминокислота амидирована в виде С-концевого первичного амида (SEQ ID NO: 1).



20 На приведенной выше диаграмме показана структура Соединения 1 с использованием стандартного однобуквенного кода обозначения аминокислот, за исключением остатков Aib2 и K20, где структуры этих аминокислот были расширены.

Соединение 1 получают, как описано в примере 2 патента США № 9938335.

25 Альтернативный способ синтеза описан в предварительной заявке на патент США с серийным номером 63/038363.

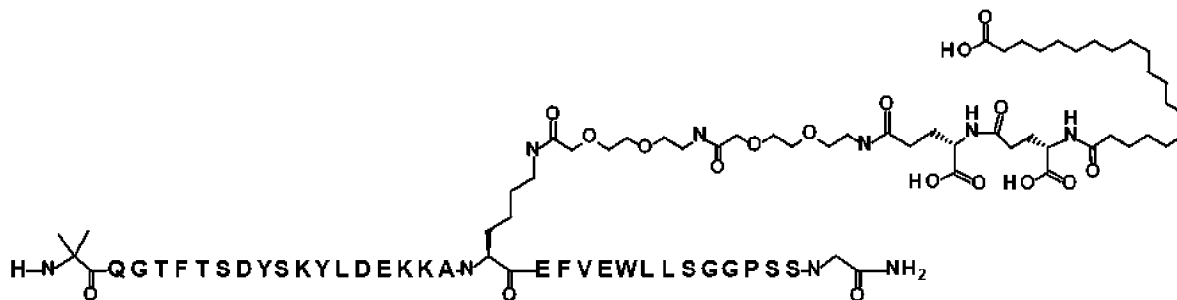
Соединение 2

HXaa2QGTFTSDYSKYLDEKKAKEFVEWLLSGGPSSG

где Хаа2 представляет собой Aib;

К в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи К с ([2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил)2-(γGlu)2-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H; и

5 С-концевая аминокислота амидирована в виде С-концевого первичного амида (SEQ ID NO: 2)



На приведенной выше диаграмме показана структура Соединения 2 с использованием стандартного однобуквенного кода обозначения аминокислот, за исключением остатков Aib2 и K20, где структуры этих аминокислот были расширены.

Соединение 2 получают, как описано в примере 4 патента США № 9938335.

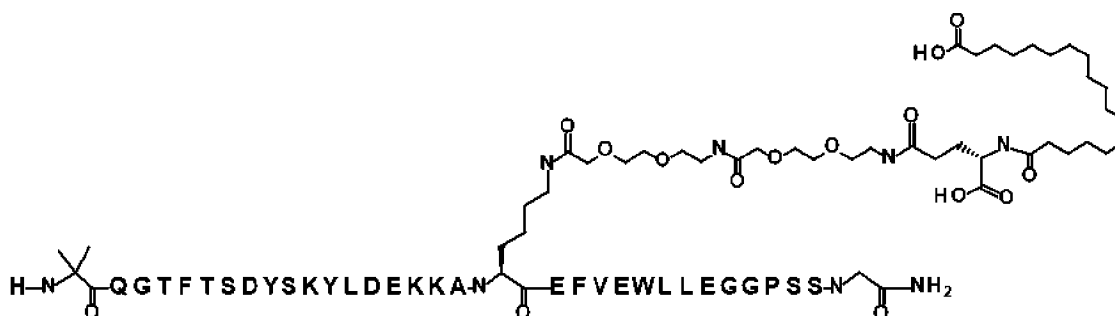
Соединение 3

15 HXaa2QGTFTSDYSKYLDEKKAKEFVEWLLEGGPSSG

где Хаа2 представляет собой Aib;

К в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи К с ([2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил)₂-(γGlu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; и

20 С-концевая аминокислота амидирована в виде С-концевого первичного амида (SEQ ID NO: 3).



На приведенной выше диаграмме показана структура Соединения 3 с использованием стандартного однобуквенного кода обозначения аминокислот, за исключением остатков Aib2 и K20, где структуры этих аминокислот были расширены.

5 Соединение 3 получают, как описано в примере 1 патента США № 9938335.

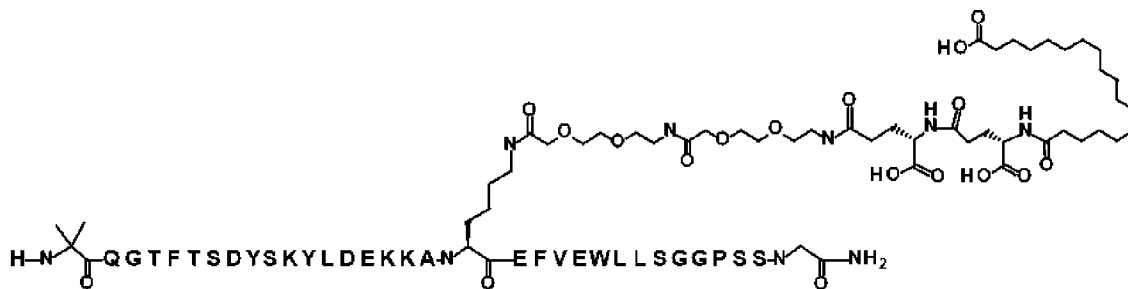
Соединение 4

HXaa2QGTFTSDYSKYLDEKKAKEFVEWLLSGGPSSG

10 где Xaa2 представляет собой Aib;

K в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи K с ([2-(2-аминоэтокси)-этокси]-ацетил)₂-(γGlu)₂-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; и

15 C-концевая аминокислота амидирована в виде C-концевого первичного амида (SEQ ID NO: 4).



На приведенной выше диаграмме показана структура Соединения 4 с использованием стандартного однобуквенного кода обозначения аминокислот, за исключением остатков Aib2 и K20, где структуры этих аминокислот были расширены.

20

Соединение 4 получают, как описано в примере 3 патента США № 9938335.

Растворимость Соединения 1

25 Соединение 1 оценивается в клинических исследованиях с участием пациентов-людей для лечения диабета II типа. Предполагается, что лекарственное средство должно быть введено парентерально. Оценивали растворимость Соединения 1 при различных условиях pH.

Материалы

Лекарственное вещество Соединения 1 и вспомогательные вещества, использованные в исследовании, подробно описаны в **Таблице 1**. Все остальные лабораторные реагенты использовали как есть.

5

Таблица 1: Материалы для оценки растворимости

Ингредиент	Партия №	Поставщик	Дата истечения срока годности
Лекарственное вещество Соединения 1 (QD543FA)	BO1704P007	Eli Lilly/Corden	н/п
Трис-основание	C469901	Eli Lilly	февраль 2021 г.
Дигидрат динатриевой соли ЭДТА	CDBB4550V	SAFC	н/п
HCl, 1 н.	192001	Fisher	апрель 2021 г.
Очищенная вода	AE29421220	GE	июль 2022 г.

Методы

Растворимость Соединения 1 оценивали при 25°C в диапазоне от pH 5,0 до pH 7,0. Все растворы содержали 10 мМ триса (1,21 г/л) и 0,05% ЭДТА (0,5 г/л). pH раствора титровали, используя либо 1 н. соляную кислоту, либо концентрированный маточный раствор трис-основания.

Концентрацию Соединения 1 измеряли при 280 нм с помощью УФ-вид спектрометра (SoloVPE). У-вид спектрофотометр обычно используется для количественного определения белков или пептидов в растворе. Характерный УФ-спектр поглощения около 280 нм обусловлен преимущественно ароматическими аминокислотами, такими как триптофан (Trp, W) и тирозин (Tyr, Y). Когда известен молярный коэффициент экстинкции белка или пептида, для точного количественного определения количества белка или пептида по поглощению в УФ-диапазоне используется закон Бера-Ламберта, при условии, что молекула не содержит небелковых компонентов, поглощающих в УФ-диапазоне, таких как связанные нуклеотидные кофакторы, гем или железо-серные центры. Соединение 1 имеет аминокислотные остатки тирозина в положениях 10 и 13 и имеет аминокислотный остаток триптофана в положении 25 и имеет коэффициент экстинкции 1,86 мл·мг⁻¹·см⁻¹ (рассчитанный методом Пейса). Измерение

концентрации пептида в условиях различного рН этим методом подходит для Соединения 1.

Результаты

5 Данные о растворимости Соединения 1 показаны в **Таблице 2** и проиллюстрированы на **Фигуре 1**.

Таблица 2: Данные о растворимости Соединения 1 при рН 5,0-7,0 (прибл.)

рН раствора	Растворитель	Концентрация Соединения 1 в растворе (мг/мл)
5,31	10 мМ триса (1,21 г/л) и 0,05% ЭДТА (0,5 г/л)	0,00
6,16		14,54
6,84		44,55

10 Растворимость Соединения 1 значительно увеличивалась при увеличении рН от 5,3 до 6,8. Исследование не продолжали выше рН 6,8 из-за ограниченного запаса Соединения 1 во время выполнения эксперимента. Экстраполяция данных показывает, что растворимость Соединения 1 будет выше при значениях рН 7,0 и выше. Данные показывают, что Соединение 1 должно быть изготовлено при рН 7,0 или выше, чтобы
15 обеспечить надлежащую растворимость Соединения 1 в способе изготовления лекарственного продукта и/или в готовой лекарственной форме.

Исследование реализуемости жидкого состава для Соединения 1

Исследование выполняли для оценки реализуемости получения состава
20 Соединения 1 в виде раствора. Данные о растворимости Соединения 1 указывают на то, что оно должно быть изготовлено при рН 7,0 или выше.

Материалы

АФИ Соединения 1 и вспомогательные вещества, использованные в исследовании,
25 подробно описаны в **Таблице 3**. Все остальные лабораторные реагенты использовали как есть.

Таблица 3: Материалы для исследования реализуемости Соединения 1

Ингредиент	Партия №	Поставщик	Дата истечения

			срока годности
АФИ Соединения 1 (QD543FA)	BO1606P002	Eli Lilly/Corden	н/п
Фосфатный буфер, 10 мМ	C191775- 2017-0040	Eli Lilly	н/п
Трис-буфер, 10 мМ			
NaOH, 1 н.	164777	Fisher	июль 2018 г.
HCl, 1 н.	0000138830	JT Baker	февраль 2018 г.

Методы

Составы лекарственного продукта Соединения 1 показаны в **Таблице 4**.

5

Таблица 4: Составы лекарственного продукта Соединения 1

Соединение 1 (мг/мл)	pH	Агент для регуляции тоничности	Буфер
2,5	7,0	NaCl, 150 мМ	Фосфатный буфер, 10 мМ
2,5	7,5		
2,5	8,0		
2,5	8,5		
2,5	7,0	Глицерин, 25 мг/мл	
2,5	7,5		
2,5	8,0		
2,5	8,5		
2,5	7,0	NaCl, 150 мМ	Трис-буфер, 10 мМ
2,5	7,5		
2,5	8,0		
2,5	8,5		
2,5	7,0	Глицерин, 25 мг/мл	
2,5	7,5		
2,5	8,0		
2,5	8,5		

Растворы фильтровали через фильтры из ПВДФ с размером пор 0,22 мкм.

Растворы вносили в стеклянные флаконы в вытяжном шкафу с ламинарным потоком.

Флаконы закрывали крышкой и хранили при 5°C, 25°C и 30°C. Пробы отбирали и подвергали испытанию следующим образом: (а) первоначальное испытание; (b) две недели; и (с) один месяц. Образование ковалентных агрегатов измеряли с помощью эксклюзионной хроматографии (ЭХ).

Результаты

10 Данные по образованию агрегатов при 25°C показаны на **Фигурах 2a** и **2b**. Для всех составов наблюдали быстрое образование агрегатов. Имеются различия в кинетике агрегации в зависимости от рН, буфера и агента для регуляции тоничности. Количество агрегатов, присутствующих при 25°C через один месяц, продемонстрировало, что ни один из составов не подойдет для использования в качестве инъекционного продукта, т.е. не имеет 24-месячного срока годности и желаемой продолжительности использования.

15 Необходимы дальнейшие исследования, чтобы изучить механизм(ы) деградации Соединения 1.

Склонность к образованию фибрилл и соответствующие условия рН для жидкого состава Соединения 1

20 Соединение 1 имеет некоторое сходство последовательности с нативным глюкагоном, и было сочтено, что это соединение может быть подвержено образованию фибрилл. Образование фибрилл может привести к потере естественной функции белка, а также к потенциальному токсичному усилению функции, например, к индукции

25 иммуногенного ответа. Склонность Соединения 1 к образованию фибрилл оценивали, чтобы определить, может ли это вносить вклад в деградацию соединения. Оценивали риск образования фибрилл Соединения 1 в зависимости от рН раствора.

Материалы

30 Готовили жидкие составы Соединения 1 в концентрации 2 мг/мл и 12 мг/мл, и рН раствора доводили до 7,5, 7,8, 8,0, 8,3 и 8,5, соответственно. Композиция состава представлена в **Таблице 5**. Все остальные лабораторные реагенты использовали как есть.

Таблица 5: Композиция жидкого состава Соединения 1

Ингредиент	Поставщик	Партия №	Концентрация
Соединение 1 ^а	Corden/Eli Lilly	BO1704P007	2 мг/мл или 12 мг/мл
Трис	Eli Lilly	C469901	1,21 мг/мл (10 мМ трис-буфер)
Дигидрат динатриевой соли ЭДТА	SAFC	CDBB4550V	0,5 мг/мл (0,05%)
Маннитол	Eli Lilly	C470786	46 мг/мл (4,6%)
Соляная кислота, 1 н. ^б	Fisher	164777	<i>в достаточном количестве</i>
Гидроксид натрия, 1 н. ^б	Fisher	171239	<i>в достаточном количестве</i>
Очищенная вода	Hospira	74-602-4B-01	н/п – Растворитель

^а: Количество Соединения 1 корректируется с учетом количества по данным ВЭЖХ, указанного в сертификате анализа.

^б: Количество, достаточное для корректировки pH

5

Получение затравок фибрилл Соединения 1

Фибриллы Соединения 1 создавали путем инкубации 500 мкл растворов с концентрацией 2 мг/мл и 12 мг/мл при pH 7,5 в инкубаторе при 37°C с постоянным вращением с доньшка на крышку в течение 72 часов. Через 72 часа раствор стал мутным.

10 Затем затравки фибрилл создавали путем обработки ультразвуком 200 мкл мутных растворов в ультразвуковой ванне в течение различных 2-минутных циклов до тех пор, пока раствор не становился прозрачным. Пробу с концентрацией 2 мг/мл подвергали обработке ультразвуком в течение двух 2-минутных циклов, в то время как пробу с концентрацией 12 мг/мл подвергали обработке ультразвуком в течение шести 2-минутных циклов. 15 циклов. 10

Наблюдение образования фибрилл Соединения 1 с помощью флуоресцентных анализов с использованием тиофлавина Т (ThT)

20 Готовили жидкие составы Соединения 1 с затравками фибрилл или без них. Для проб с затравками 5 мкл затравок с концентрацией 2 мг/мл или 12 мг/мл добавляли к 150 мкл соответствующего лекарственного продукта. Для проб без затравок 5 мкл воды добавляли к 150 мкл лекарственного продукта Соединения 1. Также исследовали буфер с затравкой в качестве отрицательного контроля.

Образование фибрилл Соединения 1 наблюдали с помощью анализов с использованием тиофлавина Т (ThT) (выполненных, как описано в Schlein, M, The AAPS Journal 2017, 19, (2), 397-408). Вкратце, по 20 мкл каждого образца добавляли в каждую из трех лунок черного 384-луночного планшета с прозрачным дном. В каждую лунку добавляли ThT с конечной концентрацией ThT 4 мкМ на лунку. Планшет запечатывали с использованием оптической клейкой пленки и загружали в считывающее устройство для планшетов SpectraMax i3x (Molecular Devices), предварительно инкубированное до 37°C. Планшет считывали каждые 15 минут в течение 36 часов, используя длину волны возбуждения 450 нм и длину волны испускания 480 нм с 3-секундными встряхиваниями между считываниями.

Результаты: образование фибрилл Соединения 1 по данным флуоресцентного анализа с использованием ThT

Фибриллы представляют собой большие макромолекулярные самосборки белков или пептидов с определенными специфическими биофизическими характеристиками. Наиболее примечательным является превращение отдельного пептидного остова в конформацию, обогащенную β -листами. В результате могут возникнуть потенциально нежелательные физические, химические и терапевтические риски. В экспериментальных условиях образование фибрилл можно визуально наблюдать как повышенную мутность, осадение или гелеобразование.

В текущем исследовании риск образования фибрилл Соединения 1 в зависимости от pH раствора оценивали с помощью флуоресцентной спектроскопии с тиофлавином Т (ThT) в качестве связывающегося красителя. ThT является мощным флуоресцентным маркером фибрилл. После селективного связывания с отложениями фибрилл сигнал флуоресценции демонстрирует резкое увеличение яркости флуоресценции. Соединение 1 изготавливали при различных условиях pH (7,5, 7,8, 8,0, 8,3 и 8,6) и добавляли предварительно приготовленные затравки фибрилл для ускорения кинетики образования фибрилл. **Фигуры 3а и 3б** иллюстрируют, что повышение флуоресцентного сигнала ThT можно четко увидеть в составах с pH 8,0 или ниже. Образование фибрилл Соединения 1 оказалось особенно чувствительным к pH. При pH ниже 7,8 образование фибрилл было быстрым при обеих концентрациях (2 мг/мл и 12 мг/мл). Когда pH поднимали выше 8,0, флуоресцентный сигнал оставался плоским, что указывало на отсутствие амилоидных фибрилл.

Экспериментальные данные анализа флуоресценции ThT иллюстрируют риск образования фибрилл Соединения 1 при $\text{pH} \leq 8,0$. При $\text{pH} > 8,0$ образование фибрилл

можно успешно предотвратить даже при внесении затравок фибрилл. С точки зрения снижения риска образования фибрилл подходящее условие рН для жидкого состава Соединения 1 представляет собой выше 7,8 и предпочтительно выше 8,0. Кроме того, исследование также выявило, что надежный контроль рН в течение срока годности продукта имеет критическое значение. Можно использовать подходящий буфер, такой как трис, с надлежащей буферной силой.

Исследование деградации жидкого состава Соединения 1

Аминокислотная последовательность Соединения 1 содержит остатки, которые делают пептид потенциально подверженным химической и/или физической деградации. Например, Соединение 1 имеет глутамин (Gln, Q) и глицин (Gly, G) в положениях 3 и 4, соответственно, которые могут быть склонны к дезамидированию. На дезамидирование в основном влияют температура и рН. Соединение 1 также содержит гистидин (His, H) и триптофан (Trp, W) в положениях 1 и 25, соответственно, которые могут быть потенциальными горячими точками окисления. Оценивали риск окисления Соединения 1 в растворе.

Материалы

Готовили жидкие составы Соединения 1 с концентрацией 2 мг/мл и рН 8,0. Композиция исследуемых составов представлена в **Таблице 6** Все остальные лабораторные реагенты использовали как есть.

Таблица 6: Композиция жидких составов Соединения 1

Партия №	Соединение 1 (мг/мл) ^{a, b}	рН	Буферный матрикс		
			Буфер	Стабилизатор	Агент для регуляции тоничности
1	2	8,0	Трис, 10 мМ	ЭДТА, 0,5 мг/мл	Глицерин, 20 мг/мл
2	2	8,0	Трис, 10 мМ	–	Глицерин, 20 мг/мл
3	2	8,0	Трис, 10 мМ	ЭДТА, 0,5 мг/мл	Пропиленгликоль, 15 мг/мл
4	2	8,0	Трис, 10 мМ	–	Пропиленгликоль, 15 мг/мл

- ^a: АФИ Соединения 1, полученный от CordenPharma (№ партии: BO1704P007)
^b: Количество Соединения 1 корректируется с учетом количества по данным ВЭЖХ, указанного в сертификате анализа.

5 Стрессовые условия для деградации Соединения 1

Жидкие составы Соединения 1 подвергали воздействию различных условий, обобщенных в **Таблице 7**.

Таблица 7: Композиция жидких составов Соединения 1

Деградиционный стресс	Добавка	Температура и продолжительность
Контроль	Отсутствует	Исходный, хранился при -20°C в течение 4 недель.
Тепловое	Отсутствует	40°C; 4 недели
Пероксид	1 м.д. H ₂ O ₂ ; 10 м.д. H ₂ O ₂ ;	40°C; 4 недели
Металл	2 м.д. Fe ³⁺ ; 2 м.д. Cu ²⁺ ; 2 м.д. Cu ²⁺ + 2 м.д. Fe ³⁺ + 2 м.д. Ni ²⁺	40°C; 4 недели

10

Результаты и выводы

(а) Влияние теплового стресса

Жидкие составы Соединения 1 готовили и хранили при 40°C до 4 недель.

15 Композиции партии 1 и партии 3 содержат 0,5 мг/мл ЭДТА (**Таблица 6**), в то время как композиции партии 2 и партии 4 не содержат ЭДТА. Известно, что ЭДТА является эффективной ловушкой радикалов. Если окисление Тгр инициируется АФК, предполагается, что присутствие 0,5 мг/мл ЭДТА может подавлять наблюдаемую химическую деградацию. Пробы отбирали в соответствующие моменты времени и затем анализировали с помощью ОФ-ВЭЖХ.

20 Хроматограммы ОФ-ВЭЖХ показаны на **Фигуре 4**. Новый пик при времени удерживания приблизительно 4 минуты наблюдали для партии 2 и партии 4. На основании ретроспективных данных этот новый пик обусловлен окислением Тгр. Сходным образом, идентифицировали еще один новый пик при времени удерживания приблизительно 7 минут, что соответствует двойному окислению Тгр. Однако эти новые

пики отсутствуют на хроматограммах партии 1 и партии 3 при тех же временах удерживания.

(b) Влияние переходных металлов и H_2O_2

5 При внесении в составы Соединения 1 2 м.д. Fe^{3+} или 1 м.д. H_2O_2 присутствие 0,5 мг/мл ЭДТА подавляло окисление Тгр, т.е. новые пики отсутствовали при временах удерживания приблизительно 4 минуты и 7 минут на хроматограммах ОФ-ВЭЖХ (Фигура 5a). Без ЭДТА пробы, в которые внесли 2 м.д. Fe^{3+} или 1 м.д. H_2O_2 , продуцировали окислители Тгр (Фигура 5b). Составы Соединения 1, в которые вносили 10 Cu^{2+} или Ni^{2+} , не показали такой же степени деградации.

(c) Предлагаемое подавление для снижения потенциального окисления в растворе

Окисление белка в растворенном состоянии, за исключением ферментативного окисления, обычно инициируется свободными радикалами, т.е. активными формами 15 кислорода (АФК). АФК могут присутствовать в результате процессов химической стерилизации, могут образовываться из-за примесей или под воздействием света. Например, если для стерилизации используется перекись водорода (H_2O_2), остаточные уровни H_2O_2 могут оставаться адсорбированным на стенках контейнера и могут инициировать реакцию окисления. При использовании гамма-излучения для 20 стерилизации АФК образуются в результате радиационно-индуцированных химических процессов. Ионы переходных металлов, такие как железо (Fe^{3+}), медь (Cu^{2+}) или никель (Ni^{2+}), могут быть еще одним источником АФК и часто встречаются в фармацевтических препаратах в виде примесей как в АФИ/лекарственном веществе, так и во вспомогательных веществах. Они также могут выделяться из оборудования, 25 используемого для хранения и обработки белковых продуктов, такого как сосуды из нержавеющей стали. Эластомерные компоненты на оборудовании также могут содержать металлы из-за процессов их отверждения. Если раствор белка подвергается воздействию света, УФ-свет может поглощаться ароматическими аминокислотами, что приводит к образованию АФК.

30 Хотя все боковые цепи аминокислот подвержены окислению, радикалы склонны преимущественно атаковать несколько аминокислотных остатков, прежде всего метионин (Met, M), цистеин (Cys, C), гистидин (His, H) или триптофан (Trp, W). В аминокислотной последовательности Соединения 1 имеются аминокислоты His и Trp в положениях 1 и 25, соответственно, это делает пептид потенциально склонным к окислению.

Исследования деградации показали, что Соединение 1 может быть подвержено окислению. Включение антиоксиданта, в частности, ловушки радикалов (например, ЭДТА), является вероятной стратегией подавления окисления в растворенном состоянии.

5 Исследование стабильности жидкого состава Соединения 1

В этом исследовании оценивали стабильность Соединения 1 в виде раствора лекарственного продукта в двенадцати (12) составах в предварительно заполненных шприцах при номинальных, ускоренных и стрессовых условиях. Устойчивость составов оценивали путем изменения типа вспомогательного вещества, pH и добавления фибрилл.

- 10 Стабильность Соединения 1 оценивали с использованием маннитола, сахарозы и пропилгликоля в качестве вспомогательных веществ при изменении pH (8,0, 8,3 и 8,6). Все составы, использованные в этом исследовании, перечислены в **Таблице 8**. Пробы хранили при $5 \pm 3^\circ\text{C}$ и $25 \pm 2^\circ\text{C}/60 \pm 5\%$ относительной влажности (ОВ) до 6 месяцев и при $30 \pm 2^\circ\text{C}/65 \pm 5\%$ относительной влажности до 2 месяцев. График выполненного
- 15 анализа показан на **Таблице 9**. Аналитические испытания, которые выполняли в каждый момент времени исследования стабильности, включают описание по внешнему виду, ОФ-ВЭЖХ, ЭХ и АОХ. Методы испытания выполняли в каждый момент времени исследования стабильности.

20 **Таблица 8: Составы для исследования реализуемости жидкого состава Соединения 1**

Состав №	Концентрация Соединения 1 (мг/мл) ¹	Трис Буфер (мМ)	Хелатирующий агент динатриевая соль ЭДТА (мг/мл)	Вспомогательное вещество	Концентрация вспомогательного вещества (мг/мл)	pH
1	14,29	10	0,5	Маннитол	46	8,0
2				Маннитол	46	8,3
3				Маннитол	46	8,6
4				Сахароза	90	8,0
5				Сахароза	90	8,3
6				Сахароза	90	8,6
7				Пропиленгликоль	20	8,0

Состав №	Концентрация Соединения 1 (мг/мл) ¹	Трис Буфер (мМ)	Хелатирующий агент динатриевая соль ЭДТА (мг/мл)	Вспомогательное вещество	Концентрация вспомогательного вещества (мг/мл)	рН
8				Пропиленгликоль	20	8,3
9				Пропиленгликоль	20	8,6
10 ²				Маннитол	46	8,3
11 ²				Сахароза	90	8,3
12 ²				Пропиленгликоль	20	8,3

¹Количество Соединения 1 корректировали на основе количества, измеренного с помощью ВЭЖХ, указанного в сертификате анализа. Сообщается, что чистота материала составляет 84%. Таким образом, для достижения конечной концентрации 12 мг/мл готовили концентрацию 14,29 мг/мл.

²В состав вносили затравки фибрилл.

5

Таблица 9: График испытания в исследовании реализуемости

Условие	Временная точка (месяц)					
	T0	0,5	1	2	3	6
5 ± 3°C		-	X	X	X	X
25 ± 2°C/ 60 ± 5% относительная влажность	X	-	X	X	X	X
30 ± 2°C/ 65 ± 5% относительная влажность		X	X	X	-	-

Материалы

Материалы, использованные в исследовании, указаны далее:

- 5 i) Проба Соединения 1 для испытания, партии NB7956p7A-L, концентрация 12 мг/мл;
- ii) Корпоративный эталонный стандарт Соединения 1, партия RS1237, концентрация 0,89 мг/мл
- iii) Затравки фибрилл Соединения 1, партия C241836-2018-0176-B1, концентрация 12 мг/мл
- 10 iv) Платформы стеклянных шприцев с возможностью предварительного заполнения, BD Neopak, C/N 47433010, партия 4357108
- v) Плунжеры шприцев, West Pharma, C/N 11402007, партия D000077885
- vi) Динатриевая соль ЭДТА, дигидрат, Sigma, C/N E1644, партия SLBV1798
- vii) Маннитол, J.T. Baker, C/N 2553-01, партия 212595
- viii) Пропиленгликоль, Fisher Chemical, C/N P355-1, партия 180248
- 15 ix) Сахароза, Sigma, C/N S3929, партия SLBV6651
- x) Трис-основание, Sigma, C/N T6791, партия SLBQ2306V
- xi) Aeris Peptide XB-C18, 2,6 мкм, 4,6×250 мм, C/N 00G-4505-E0, партии H18-303286, H19 051410, H19-079474, H19-084509, H19-131060 и H19-131061
- 20 xii) BioPro IEX QF, 5 мкм, 4,6×100 мм, C/N QF00505-1046WP, партия 14153
- TOSOH TSKgel G2000SWXL, 5 мкм, 7,8×300 мм, C/N 08540, партии 008C-00776D и A02353-05A

Оборудование

В данном исследовании использовали следующее оборудование:

- 25 i) Система ВЭЖХ Agilent 1100/1200
- ii) Лампа наблюдения, Eisai Machinery, модель MIN-DX
- iii) Экспонометр, Fisher, модель 06-662-63
- iv) Система подсчета частиц методом затенения HIAC, модель 9703
- 30 v) pH-метр, Metter Toledo SevenMulti
- vi) Микроскоп для визуализации микропотоков ProteinSimple, DPA 5200 с Bot 1

Методы

- 35 a) Описание по внешнему виду

Описание путем испытания на внешний вид во всех временных точках выполняли с использованием протокола, озаглавленного «Тестирование внешнего вида для лекарственного вещества биопродукта и жидкого лекарственного продукта клиента 055».

5 b) ОФ ВЭЖХ

Чистоту и содержание белка в пробах во всех временных точках определяли с помощью ОФ-ВЭЖХ с использованием протокола, озаглавленного «Определение идентичности и чистоты Соединения 1 с помощью ОФ-ВЭЖХ».

10 c) Эксклюзионная хроматография

Агрегаты проб во всех временных точках определяли методом эксклюзионной хроматографии с использованием протокола, озаглавленного «Определение чистоты Соединения 1 методом эксклюзионной хроматографии».

15 d) Анионообменная хроматография

Профили неоднородности заряда для проб во всех временных точках определяли с помощью анионообменной хроматографии с использованием протокола, озаглавленного «Определение неоднородности заряда Соединения 1 с помощью анионообменной хроматографии».

20

Результаты

a) Описание по внешнему виду

Результаты описания внешнего вида представлены в **Таблице 10**. Все приготовленные пробы во всех временных точках и условиях представляли собой слегка опалесцирующие, слегка желтые жидкие растворы. Никаких частиц не наблюдали в начальный момент времени, через полмесяца или через месяц для каждого из составов. В 2-месячной временной точке в составах 4, 5 и 12 наблюдали очень мало частиц в условиях $25 \pm 2^\circ\text{C} / 60 \pm 5\%$ относительной влажности, и очень мало частиц наблюдали в составах 2, 5 и 6 в условиях $30 \pm 2^\circ\text{C} / 65 \pm 5\%$ относительной влажности. Через два месяца в остальных составах при соответствующих условиях исследования стабильности не наблюдали никаких частиц. В 3-месячной и 6-месячной временных точках во всех составах наблюдали очень мало частиц в обоих условиях испытани стабильности.

Таблица 10: Сводные данные по внешнему виду

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
1	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,0, партия NB7956p7A	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				30±2°C/ 65 ± 5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			3 мес.	25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			6 мес.	25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
2	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,3, партия NB7956p7B	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрач ность	Частицы
3	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,6, партия NB7956p7C	6 мес.	25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая		Слегка опалесцир ующая	Нет частиц			

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
4	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,0, партия NB7956p7D	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы			
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц			
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
			5	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА,	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы					
		90 мг/мл сахарозы, рН 8,3, партия NB7956p7E	0,5 мес.	30±2°C/ 65±5%	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц					
				5±3°C					Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц	
			1 мес.		25±2°C/ 60±5%	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц				
					30±2°C/ 65±5%					Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.		5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц				
					25±2°C/ 60±5%					Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
					30±2°C/ 65±5%					Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				влажно сть				
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
6	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,6, партия NB7956p7F	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			3 мес.	25±2°C/ 60±5% относит ельная	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				влажно сть				
				5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			6 мес.	25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
7	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгли коля, рН 8,0, партия NB7956p7G	0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			30±2°C/ 65±5% относит ельная	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц	

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				влажно сть				
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
					25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
					25±2°C/ 60±5% относит ельная	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				влажно сть				
8	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгли коля, рН 8,3, NB7956p7H	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы			
				влажно сть							
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц			
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц			
			9	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгли коля, рН 8,6,	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
						0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
		партия NB7956p7I		влажно сть				
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
10	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,3 с затравками фибрилл партия NB7956p7J	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				влажно сть				
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
					25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
11	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,3 с затравками фибрилл партия NB7956p7K	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
					25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
					25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
12	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгли коля, рН 8,3 с затравками фибрилл партия NB7956p7L	Началь ная	Неприм енимо	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			1 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			2 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц

И Н	АФ И (мг/ мл)	Композиция и номер партии	Време нная точка	Услови е	Физическ ое состояние	Цвет	Прозрачн ость	Частицы
				30±2°C/ 65±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Нет частиц
			3 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
			6 мес.	5±3°C	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц
				25±2°C/ 60±5% относит ельная влажно сть	Жидкость	Слегка желтая	Слегка опалесцир ующая	Очень мало частиц

б) Высокоэффективная жидкостная хроматография с обращенной фазой

Результаты анализа чистоты с помощью ОФ-ВЭЖХ показаны в **Таблице 11**. Для всего набора составов начальный средний процент чистоты основного пика колебался от 97,3 до 97,5%, и средний процент общего содержания родственных соединений (TRS) колебался от 2,5 до 2,7%. Для всего набора составов в момент времени и условия 6 мес./5±3°C средний процент чистоты основного пика колебался от 96,4 до 97,2%, и средний процент TRS колебался от 2,8 до 3,6%. Для всего набора составов в момент времени и условия 6 мес./25 ± 2°C/60 ± 5% относительной влажности средний процент

чистоты основного пика колебался от 89,4 до 93,1%, и средний процент TRS колебался от 6,9 до 10,6%. Для всего набора составов в момент времени и условиях 2 мес./30 ± 2°C/65 ± 5% относительной влажности средний процент чистоты основного пика колебался от 92,0 до 94,3%, и средний процент TRS колебался от 5,7 до 8,0%. Для каждого состава наблюдали сходные профили снижения процента основного пика и увеличения процента TRS во всех условиях ускоренного исследования стабильности. Наблюдалось незначительное снижение чистоты основного пика в условии 5±3°C до 6 месяцев по сравнению с исходным значением. Сниженный процент чистоты основного пика зависел от значения pH, в случае которого более высокие значения pH демонстрировали наибольшее изменение.

Результаты по содержанию белка оценивали во всех временных точках и условиях с помощью ОФ-ВЭЖХ (Таблица 11). Каждый из двенадцати (12) уникальных составов готовили при одном уровне концентрации ~12 мг/мл. Содержание белка колебалось от 9,8 до 13,7 мг/мл на протяжении всего исследования. Следовательно, процент от заявленного значения колебался от 84 до 111% при сравнении концентрации белка с начальной временной точкой в течение исследования. Сниженную концентрацию белка наблюдали в 6-месячной временной точке в условиях ускоренного исследования. Более конкретно, снижение содержания зависело от значения pH, в случае которого более высокие значения pH демонстрировали наибольшее изменение.

Таблица 11: Сводные результаты ОФ-ВЭЖХ

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный средний % от заявленного значения от заявленного значения	Фактический Средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
1	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,0	Начальная	Неприменимо	11,1	92,5	97,7	97,4	2,6
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	10,9	90,6	95,7	96,7	3,3
			1 мес.	5±3°C	10,9	91,0	96,1	97,4	2,6
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,8	90,0	95,1	96,2	3,8
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	10,8	90,0	95,1	95,2	4,8
			2 мес.	5±3°C	12,9	107,8	113,8	97,0	3,0
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,4	95,2	100,6	95,5	4,5
				30±2°C/ 65±5% относительная	10,9	91,2	96,4	94,3	5,7

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее кол-во АФИ (мг/мл)	Номинальный средний % от заявленного значения от заявленного значения	Фактический Средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
2	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,3	Начальная	Неприменимо	11,1	92,5	99,7	97,4	2,6
				0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,0	91,4	98,5	96,6
			1 мес.	5±3°C	11,1	92,6	99,8	97,4	2,6
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,4	95,0	102,4	95,9	4,1
				30±2°C/	10,7	89,5	96,5	95,1	4,9
				3 мес.	5±3°C	10,8	90,2	95,3	97,5
			3 мес.	25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,4	86,6	91,5	95,1	4,9
				6 мес.	5±3°C	11,0	92,0	97,2	97,2
			6 мес.	25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,4	86,3	91,2	93,1	6,9

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее кол-во АФИ (мг/мл)	Номинальный	Фактический	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средний % от заявленного значения от заявленного значения		
				65±5% относительная влажность					
			2 мес.	5±3°C	12,0	99,6	107,4	97,2	2,8
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,7	97,9	105,5	95,2	4,8
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,1	92,2	99,4	93,3	6,7
			3 мес.	5±3°C	10,6	88,0	94,9	97,4	2,6
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,2	85,4	92,0	94,4	5,6
			6 мес.	5±3°C	11,1	92,9	100,1	97,2	2,8
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,2	84,8	91,4	92,1	7,9
3	12	10 мМ триса, 0,5	Начальная	Неприменимо	11,3	93,8	102,5	97,4	2,6

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее кол-во АФИ (мг/мл)	Номинальный	Фактический	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средний % от заявленного значения от заявленного значения		
		мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,6	0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	10,9	91,1	99,6	96,1	3,9
			1 мес.	5±3°C	11,3	94,4	103,2	97,2	2,8
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,9	90,5	99,0	95,8	4,2
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	10,9	90,7	99,2	94,4	5,6
			2 мес.	5±3°C	10,6	88,3	96,6	96,7	3,3
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,6	96,5	105,5	94,6	5,4
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,0	91,7	100,3	92,7	7,3
			3 мес.	5±3°C	10,6	88,2	96,5	97,4	2,6
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,3	85,5	93,5	93,2	6,8

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный средний % от заявленного значения от заявленного значения	Фактический Средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
4	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,0	Начальная	Неприменимо	12,3	102,7	99,4	97,4	2,6
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,9	99,1	95,9	96,7	3,3
			1 мес.	5±3°C	11,8	98,5	95,3	97,3	2,7
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	12,0	100,0	96,8	96,0	4,0
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,6	96,8	93,7	95,2	4,8
			2 мес.	5±3°C	13,7	114,1	110,5	97,1	2,9

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный средний %	Фактический Средний %	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %			
						от заявленного значения	от заявленного значения					
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	12,6	104,7	101,4	95,3	4,7			
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	12,3	102,4	99,1	93,7	6,3			
				3 мес.	5±3°C	11,3	94,4	91,4	97,4	2,6		
			25±2°C/ 60±5% относительная влажность		11,4	94,9	91,8	94,1	5,9			
			6 мес.	5±3°C	11,5	95,9	92,9	96,7	3,3			
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,7	88,8	85,9	92,2	7,8			
			5	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,3	Начальная	Неприменимо	11,9	99,4	94,9	97,3	2,7
						0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,9	99,2	94,7	96,4	3,6

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный	Фактический	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средний % от заявленного значения от заявленного значения		
			1 мес.	5±3°C	11,6	96,7	92,3	97,3	2,7
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	12,1	100,9	96,3	95,7	4,3
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,4	95,2	90,9	94,7	5,3
				5±3°C	13,0	108,7	103,8	96,9	3,1
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	12,4	103,5	98,8	94,8	5,2
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,9	99,2	94,7	93,1	6,9
			2 мес.	5±3°C	11,5	95,5	91,2	97,5	2,5
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,7	97,8	93,3	93,8	6,2
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,4	94,6	90,3	96,5	3,5
			3 мес.	5±3°C	11,4	94,6	90,3	96,5	3,5
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,7	97,8	93,3	93,8	6,2
			6 мес.	5±3°C	11,4	94,6	90,3	96,5	3,5

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее кол-во АФИ (мг/мл)	Номинальный средний %	Фактический Средний %	Сред. чистота основного пика %	Средний TRS %
						от заявленного значения	от заявленного значения		
6	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,6	Начальная	Неприменимо	11,9	99,3	96,8	97,4	2,6
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,7	97,9	95,4	96,1	3,9
			1 мес.	5±3°C	12,3	102,3	99,7	97,3	2,7
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,9	99,0	96,5	95,5	4,5
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,4	94,6	92,2	94,3	5,7
			2 мес.	5±3°C	13,2	110,3	107,5	97,0	3,0
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,7	97,6	95,1	94,1	5,9

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный средний %	Фактический Средний %	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						от заявленного значения	от заявленного значения		
7	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгликоля, рН 8,0	Начальная	Неприменимо	12,2	101,3	104,9	97,4	2,6
				0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,7	97,8	101,3	96,7
			1 мес.	5±3°C	11,9	99,2	102,8	97,3	2,7
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,6	96,7	100,2	96,3	3,7
			3 мес.	5±3°C	11,4	94,8	92,4	97,3	2,7
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,4	95,3	92,9	93,1	6,9
				5±3°C	11,4	95,1	92,7	96,5	3,5
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,4	86,3	84,1	89,6	10,4

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее кол-во АФИ (мг/мл)	Номинальный	Фактический	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средний % от заявленного значения от заявленного значения		
				ная влажность					
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,3	94,6	97,9	95,8	4,2
			2 мес.	5±3°C	12,6	104,6	108,4	97,1	2,9
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,9	98,8	102,3	95,6	4,4
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,8	98,6	102,1	94,3	5,7
			3 мес.	5±3°C	11,3	93,9	97,2	97,6	2,4
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,6	96,4	99,8	95,0	5,0
			6 мес.	5±3°C	11,3	93,9	97,2	96,7	3,3
				25±2°C/ 0 ± 5% относительная	10,8	90,2	93,5	93,0	7,0

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный средний % от заявленного го значения от заявленного го значения	Фактический Средний % от заявленного го значения от заявленного го значения	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
8	12	10 мМ триа, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгли коля, рН 8,3	Начальная	Непримени мо	12,0	100,0	98,3	97,5	2,5
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относитель ная влажность	11,8	98,5	96,8	96,6	3,4
			1 мес.	5±3°C	12,1	100,5	98,8	97,4	2,6
				25±2°C/ 60±5% относитель ная влажность	11,9	99,1	97,5	96,3	3,7
				30±2°C/ 65±5% относитель ная влажность	11,4	95,4	93,8	95,1	4,9
			2 мес.	5±3°C	12,1	101,1	99,3	97,0	3,0
				25±2°C/ 60±5% относитель ная влажность	12,0	99,6	97,9	95,1	4,9
				30±2°C/ 65±5% относитель	11,9	95,6	97,8	93,5	6,5

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее кол-во АФИ (мг/мл)	Номинальный средний %	Фактический Средний %	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						от заявленного значения	от заявленного значения		
9	12	10 мМ триа, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгликоля, рН 8,6	Начальная	Неприменимо	12,1	101,1	101,2	97,5	2,5
				0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,6	96,3	96,4	96,3
			1 мес.	5±3°C	12,0	100,0	100,1	97,3	2,7
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,6	97,0	97,1	95,5	4,5
				30±2°C/	11,3	94,0	94,1	94,4	5,6
				6 мес.	5±3°C	11,5	95,9	94,3	97,1
			3 мес.	25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,4	95,2	93,6	94,3	5,7
				5±3°C	11,5	95,7	94,1	97,4	2,6
			6 мес.	25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,6	88,6	87,1	91,5	8,5
				5±3°C	11,5	95,9	94,3	97,1	2,9

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее кол-во АФИ (мг/мл)	Номинальный средний %	Фактический Средний %	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						от заявленного значения	от заявленного значения		
				65±5% относительная влажность					
			2 мес.	5±3°C	11,8	98,5	98,6	96,9	3,1
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,9	98,9	99,0	94,3	5,7
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,5	95,6	95,7	92,3	7,7
			3 мес.	5±3°C	12,2	102,0	102,1	97,1	2,9
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,3	94,4	94,4	93,2	6,8
			6 мес.	5±3°C	11,7	97,5	97,6	96,4	3,6
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,3	86,2	86,3	89,4	10,6
10	12	10 мМ триса, 0,5	Начальная	Неприменимо	11,4	94,7	100,2	97,4	2,6

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее кол-во АФИ (мг/мл)	Номиналь ный средний %	Фактиче ский Средний %	Сред. чистот а основн ого пика %	Средн ий TRS %
						от заявленно го значения от заявленно го значения	от заявленн ого значения от заявленн ого значения		
		мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,3 с затравками фибрилл	0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относитель ная влажность	10,8	89,9	95,1	96,5	3,5
			1 мес.	5±3°C	11,1	92,7	98,1	97,3	2,7
				25±2°C/ 60±5% относитель ная влажность	11,0	91,8	97,1	96,0	4,0
				30±2°C/ 65±5% относитель ная влажность	10,6	88,6	93,8	95,2	4,8
			2 мес.	5±3°C	11,1	92,6	98,0	96,7	3,3
				25±2°C/ 60±5% относитель ная влажность	11,1	92,8	98,2	95,1	4,9
				30±2°C/ 65±5% относитель ная влажность	11,3	94,0	99,5	93,4	6,6
			3 мес.	5±3°C	10,9	91,2	96,5	97,4	2,6
				25±2°C/ 60±5% относитель ная влажность	11,4	94,7	100,2	94,5	5,5

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный средний % от заявленного значения от заявленного значения	Фактический Средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %				
11	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,3 с затравками фибрилл	Начальная	Неприменимо	11,8	98,0	96,8	97,5	2,5				
			0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	12,1	100,5	99,2	96,3	3,7				
			1 мес.	5±3°C	12,1	100,7	99,5	97,3	2,7				
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	12,1	101,2	100,0	95,7	4,3				
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,5	95,5	94,3	94,7	5,3				
			2 мес.	5±3°C	12,4	103,3	102,1	96,9	3,1				
							60±5% относительная влажность						
							6 мес.	5±3°C	10,8	90,3	95,5	97,2	2,8
							6 мес.	25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,3	85,7	90,6	92,1	7,9

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный средний %	Фактический Средний %	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %			
						от заявленного значения	от заявленного значения					
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,6	96,8	95,6	94,6	5,4			
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	12,0	100,4	99,1	92,8	7,2			
			3 мес.	5±3°C	11,7	97,6	96,4	97,3	2,7			
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,6	96,7	95,5	94,0	6,0			
			6 мес.	5±3°C	11,5	96,1	94,9	96,9	3,1			
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,6	88,7	87,6	90,9	9,1			
			12	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгликоля,	Начальная	Неприменимо	11,8	98,3	98,6	97,4	2,6
						0,5 мес.	30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,7	97,8	98,1	96,5	3,5

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный	Фактический	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						средний % от заявленного значения от заявленного значения	Средний % от заявленного значения от заявленного значения		
		рН 8,3 с затравками фибрилл	1 мес.	5±3°C	12,0	100,0	100,4	97,2	2,8
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,8	98,2	98,6	96,0	4,0
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,5	95,5	95,9	94,9	5,1
				5±3°C	11,8	98,1	98,4	97,0	3,0
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,9	99,3	99,6	94,8	5,2
				30±2°C/ 65±5% относительная влажность	11,6	96,9	97,3	93,4	6,6
			3 мес.	5±3°C	11,7	97,1	97,4	97,2	2,8
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	11,4	94,9	95,2	94,3	5,7
				6 мес.	5±3°C	11,4	94,8	95,1	96,9

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временная точка	Условие	Среднее количество АФИ (мг/мл)	Номинальный средний %	Фактический Средний %	Средняя чистота основного пика %	Средний TRS %
						от заявленного значения	от заявленного значения		
				25±2°C/ 60±5% относительная влажность	10,8	89,9	90,2	92,0	8,0

(с) Эксклюзионная хроматография

5 Результаты анализа чистоты с помощью ЭХ показаны в **Таблице 12**. Во всем наборе составов начальное процентное содержание мономера колебалось от 98,8 до 99,2%, процентное содержание агрегатов для всех составов составило 0,3%, и процентное содержание фрагментов колебалось от 0,5 до 0,9%. Во всем наборе составов в момент времени и условиях 6 мес./5±3°C процентное содержание мономера колебалось от 98,7 до 10 99,0%, процентное содержание агрегатов колебалось от 0,4 до 0,5%, и процентное содержание фрагментов колебалось от 0,6 до 0,9%. Во всем наборе составов в момент времени и условиях 6 мес./25±2°C/60±5% относительной влажности процентное содержание мономера колебалось от 98,2 до 98,7%, процентное содержание агрегатов колебалось от 0,7 до 1,0%, и процентное содержание фрагментов колебалось от 0,6 до 15 1,0%. Во всем наборе составов в момент времени и условиях 2 мес./30±2°C/65±5% относительной влажности процентное содержание мономера колебалось от 98,4 до 99,0%, процентное содержание агрегатов колебалось от 0,5 до 0,8%, и процентное содержание фрагментов колебалось от 0,5 до 1,0%. Для каждого состава наблюдали сходные профили снижения процентного содержания мономера и повышения процентного содержания 20 агрегатов и фрагментов в рассматриваемых условиях исследования стабильности. Хотя незначительные изменения могут быть связаны с вариабельностью метода, составы на

основе сахарозы продемонстрировали наибольшее изменение процентного содержания мономера, в то время как составы на основе маннитола продемонстрировали наименьшее изменение процентного содержания мономера. Кроме того, более высокие значения pH продемонстрировали наибольшее изменение для каждого типа вспомогательного вещества, за исключением пропиленгликоля. Кроме того, при сравнении одних и тех же компонентов состава с затравками фибрилл и без них в целом компоненты с затравками фибрилл продемонстрировали более высокую чистоту, в частности, в условиях ускоренного исследования.

В целом данные показывают минимальные изменения содержания агрегатов и фрагментов после 6 месяцев хранения в условиях ускоренного исследования.

Таблица 12: Сводные результаты ЭХ

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Врем енна я точк а	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %			
1	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,0	Нача льная	Неприменимо	98,9	0,3	0,8			
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	98,8	0,4	0,7			
			1 мес.	5±3°C	98,7	0,4	0,9			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,6	0,5	1,0			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,5	0,5	1,0			
			2 мес.	5±3°C	98,7	0,4	1,0			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,7	0,5	0,8			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,4	0,6	1,0			
			3 мес.	5±3°C	98,8	0,4	0,8			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,6	0,5	0,8			
			6 мес.	5±3°C	98,7	0,4	0,9			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,4	0,7	0,9			
			2	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,3	Нача льная	Неприменимо	98,8	0,3	0,9
						0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	98,7	0,4	0,9
	5±3°C	98,7				0,4	1,0			

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Вре нна я точ ка	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %			
3	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,6	1 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,5	0,4	1,0			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,4	0,5	1,1			
			2 мес.	5±3°C	98,7	0,4	0,9			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,6	0,5	0,9			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,6	0,5	0,8			
			3 мес.	5±3°C	98,9	0,4	0,8			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,8	0,5	0,8			
			6 мес.	5±3°C	98,7	0,4	0,9			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,4	0,7	1,0			
			Нача льная	0,5 мес.	Начальная	Начальная	Неприменимо	98,9	0,3	0,8
						30±2°C/65±5% относительная влажность	98,8	0,4	0,8	
						5±3°C	98,6	0,4	1,0	
						25±2°C/60±5% относительная влажность	98,5	0,4	1,1	
						30±2°C/65±5% относительная влажность	98,5	0,5	1,0	
						5±3°C	98,9	0,4	0,8	

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Врем енна я точк а	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,7	0,5	0,8
2 мес.				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,7	0,5	0,8
				5±3°C	99,0	0,3	0,7
3 мес.				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,8	0,5	0,7
				5±3°C	98,7	0,4	0,9
6 мес.				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,4	0,7	1,0
4	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,0	Нача льная	Неприменимо	99,0	0,3	0,7
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,6
			1 мес.	5±3°C	98,6	0,4	1,0
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,4	0,5	1,0
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,4	0,6	1,0
			2 мес.	5±3°C	98,9	0,4	0,7
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,7	0,6	0,7
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,5	0,8	0,7
				5±3°C	99,0	0,4	0,6

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Врем енна я точк а	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %
				3 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,7	0,7
6 мес.	5±3°C	98,8	0,5	0,8			
	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,2	1,0	0,8			
5	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,3	Нача льная	Неприменимо	99,0	0,3	0,6
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,6
			1 мес.	5±3°C	98,6	0,4	1,1
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,4	0,5	1,1
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,3	0,6	1,1
			2 мес.	5±3°C	98,9	0,4	0,7
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,8	0,6	0,6
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,7	0,7	0,6
			3 мес.	5±3°C	99,0	0,4	0,6
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,7	0,6	0,6
			6 мес.	5±3°C	98,8	0,5	0,7
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,3	0,9	0,8

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Врем енна я точк а	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %			
6	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,6	Началь ная	Неприменимо	99,1	0,3	0,6			
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	98,9	0,4	0,6			
			1 мес.	5±3°C	98,6	0,4	1,0			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,4	0,5	1,1			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,4	0,5	1,0			
			2 мес.	5±3°C	99,0	0,4	0,6			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,9	0,6	0,5			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,7	0,7	0,6			
			3 мес.	5±3°C	99,0	0,4	0,6			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,8	0,6	0,6			
			6 мес.	5±3°C	98,9	0,4	0,7			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,3	1,0	0,7			
			7	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгликоля, рН 8,0	Началь ная	Неприменимо	99,1	0,3	0,6
						0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	99,1	0,4	0,6
1 мес.	5±3°C	98,6				0,3	1,0			

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Вре нна я точ ка	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %			
8	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленгликоля, рН 8,3		25±2°C/60±5% относительная влажность	98,5	0,4	1,1			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,4	0,5	1,1			
				5±3°C	99,1	0,4	0,5			
			2 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,6			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,8	0,6	0,6			
				5±3°C	99,1	0,3	0,6			
			3 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,6			
				5±3°C	98,9	0,4	0,6			
			6 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,6	0,7	0,7			
				5±3°C	99,1	0,3	0,6			
						Началь ная	Неприменимо	99,1	0,3	0,6
						0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	99,0	0,4	0,7
						1 мес.	5±3°C	98,5	0,3	1,1
							25±2°C/60±5% относительная влажность	98,5	0,4	1,1
							30±2°C/65±5% относительная влажность	98,4	0,5	1,1
2 мес.	5±3°C	99,1				0,4	0,5			

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Врем енна я точк а	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %
				25±2°C/60±5% относительная влажность	99,0	0,5	0,5
30±2°C/65±5% относительная влажность	98,9	0,6	0,5				
3 мес.	5±3°C	99,1	0,4	0,6			
	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,6			
6 мес.	5±3°C	99,0	0,4	0,6			
	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,6	0,7	0,7			
9	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленглико ля, рН 8,6	Нача льная	Неприменимо	99,1	0,3	0,6
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	99,0	0,4	0,6
			1 мес.	5±3°C	98,5	0,4	1,1
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,5	0,4	1,1
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,4	0,4	1,1
			2 мес.	5±3°C	99,2	0,4	0,5
				25±2°C/60±5% относительная влажность	99,0	0,5	0,5
				30±2°C/65±5% относительная влажность	99,0	0,6	0,5
				5±3°C	99,1	0,3	0,6

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Врем енна я точк а	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %
				3 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,9	0,5
6 мес.	5±3°C	99,0	0,4	0,6			
	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,6	0,7	0,7			
10	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,3 с с затравками фибрилл	Нача льная	Неприменимо	99,1	0,3	0,6
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	98,9	0,4	0,7
			1 мес.	5±3°C	98,7	0,2	1,1
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,4	0,4	1,2
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,3	0,5	1,2
			2 мес.	5±3°C	99,1	0,4	0,5
				25±2°C/60±5% относительная влажность	99,0	0,5	0,5
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,9	0,6	0,5
			3 мес.	5±3°C	99,1	0,4	0,6
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,6
			6 мес.	5±3°C	99,0	0,4	0,6
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,6	0,7	0,7

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Врем енна я точк а	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %			
11	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,3 с с заправками фибрилл	Нача льная	Неприменимо	99,1	0,3	0,5			
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,6			
			1 мес.	5±3°C	98,7	0,4	1,0			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,6	0,5	0,9			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,6	0,6	0,9			
			2 мес.	5±3°C	99,1	0,4	0,5			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,9	0,6	0,5			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,8	0,7	0,5			
			3 мес.	5±3°C	99,1	0,4	0,5			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,8	0,6	0,6			
			6 мес.	5±3°C	99,0	0,5	0,6			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,4	0,9	0,7			
			12	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленглико ля,	Нача льная	Неприменимо	99,2	0,3	0,5
						0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	99,1	0,4	0,5
5±3°C	98,8	0,3				0,8				

И Н	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Врем енна я точк а	Условие	Мон омер %	Общее содерж ание агрега тов %	Общее содержание фрагменто в %
		рН 8,3 с с заправками фибрилл	1 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	98,8	0,4	0,8
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,7	0,5	0,8
			2 мес.	5±3°C	99,1	0,4	0,5
				25±2°C/60±5% относительная влажность	99,0	0,5	0,5
				30±2°C/65±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,5
			3 мес.	5±3°C	99,1	0,4	0,5
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,9	0,5	0,6
			6 мес.	5±3°C	99,0	0,4	0,6
				25±2°C/60±5% относительная влажность	98,7	0,7	0,6

(d) Анионообменная хроматография

Результаты для неоднородности заряда по данным АОХ показаны в **Таблице 13**.

- 5 Во всем наборе составов начальный процент основного пика колебался от 98,1 до 98,7%, процентное содержание основных вариантов колебалось от 0,6 до 1,1%, и процентное содержание кислых вариантов колебалось от 0,6 до 0,8%. Во всем наборе составов в момент времени и условиях 6 мес./5±3°C процент основного пика колебался от 93,3 до 97,1%, процентное содержание основных вариантов колебалось от 0,5 до 0,9%, и
- 10 процентное содержание кислых вариантов колебалось от 2,3 до 6,0%. Во всем наборе составов в момент времени и условиях 6 мес./25±2°C/60±5% относительной влажности процент основного пика колебался от 86,5 до 91,6%, процентное содержание основных

вариантов колебалось от 0,9 до 1,9%, и процентное содержание кислых вариантов колебалось от 7,3 до 11,8%. Во всем наборе составов в момент времени и условиях 2 мес./30 ± 2°C/65 ± 5% относительной влажности процент основного пика колебался от 92,4 до 93,3%, процентное содержание основных вариантов колебалось от 1,0 до 1,4%, и 5 процентное содержание кислых вариантов колебалось от 5,3 до 6,5%. Для каждого состава наблюдали сходные профили снижения процента основного пика и повышения процентного содержания кислых и основных вариантов в рассматриваемых условиях исследования стабильности.

Таблица 13: Сводные результаты АОХ

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %
1	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,0	Начальна я	Неприменимо	98,6	0,8	0,6
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,1	1,2	1,7
			1 мес.	5±3°C	97,8	1,4	0,8
				25±2°C/60±5% относительная влажность	97,0	1,1	1,9
				30±2°C/65±5% относительная влажность	96,4	1,0	2,5
			2 мес.	5±3°C	97,5	1,3	1,2
				25±2°C/60±5% относительная влажность	95,5	1,1	3,5
				30±2°C/65±5% относительная влажность	93,2	1,1	5,6
			3 мес.	5±3°C	96,8	1,3	1,9
				25±2°C/60±5% относительная влажность	93,3	1,3	5,4
			6 мес.	5±3°C	95,2	0,9	3,9
				25±2°C/60±5% относительная влажность	90,1	1,3	8,5
			2	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,3	Начальна я	Неприменимо
0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,1				1,1	1,8
1 мес.	5±3°C	98,1				1,0	0,9

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %			
3	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,6		25±2°C/60±5% относительная влажность	96,9	0,9	2,2			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	96,3	0,9	2,8			
				5±3°C	98,5	0,9	0,6			
			2 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	94,6	1,2	4,2			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	93,0	1,2	5,8			
				5±3°C	96,7	1,2	2,0			
			3 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	93,2	1,2	5,6			
				5±3°C	95,9	0,9	3,2			
			6 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	89,8	1,2	9,0			
				5±3°C	98,7	0,7	0,6			
						Начальна я	Неприменимо	98,7	0,7	0,6
						0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,0	1,0	2,0
						1 мес.	5±3°C	98,1	0,9	0,9
							25±2°C/60±5% относительная влажность	97,2	0,8	2,0
							30±2°C/65±5% относительная влажность	96,1	0,9	3,0
2 мес.	5±3°C	97,9	0,8	1,3						

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %			
4	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,0		25±2°C/60±5% относительная влажность	93,9	2,2	3,9			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	92,5	1,4	6,1			
			3 мес.	5±3°C	96,2	1,2	2,6			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	93,2	1,4	5,5			
			6 мес.	5±3°C	95,2	0,7	4,1			
				25±2°C/60±5% относительная влажность	88,9	1,0	10,1			
						Начальна я	Неприменимо	98,6	0,7	0,7
						0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,1	1,1	1,8
						1 мес.	5±3°C	98,0	1,0	1,0
							25±2°C/60±5% относительная влажность	97,2	0,9	1,9
							30±2°C/65±5% относительная влажность	96,2	1,1	2,7
						2 мес.	5±3°C	98,2	1,2	0,7
25±2°C/60±5% относительная влажность	95,6	1,2					3,1			
30±2°C/65±5% относительная влажность	93,1	1,3					5,6			
3 мес.	5±3°C	96,4				1,2	2,4			

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %
5	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,3		25±2°C/60±5% относительная влажность	94,2	1,3	4,5
				6 мес.	5±3°C	93,3	0,7
			6 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	88,5	1,2	10,4
				Начальна я	Неприменимо	98,7	0,6
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,0	1,0	1,9
				1 мес.	5±3°C	98,2	1,0
			25±2°C/60±5% относительная влажность		97,0	0,9	2,1
			30±2°C/65±5% относительная влажность		96,1	0,9	3,0
			2 мес.	5±3°C	97,7	1,2	1,1
				25±2°C/60±5% относительная влажность	95,1	1,0	3,8
				30±2°C/65±5% относительная влажность	92,6	1,1	6,3
			3 мес.	5±3°C	96,5	1,1	2,4
				25±2°C/60±5% относительная влажность	92,4	1,2	6,4
			6 мес.	5±3°C	95,6	0,9	3,5
25±2°C/60±5% относительная влажность	89,4	1,0		9,6			

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %
6	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,6	Начальна я	Неприменимо	98,6	0,6	0,7
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	96,9	1,1	2,0
			1 мес.	5±3°C	98,2	1,0	0,8
				25±2°C/60±5% относительная влажность	96,7	0,9	2,4
				30±2°C/65±5% относительная влажность	95,9	0,9	3,3
			2 мес.	5±3°C	97,3	1,4	1,3
				25±2°C/60±5% относительная влажность	95,6	1,0	3,4
				30±2°C/65±5% относительная влажность	92,9	1,0	6,1
			3 мес.	5±3°C	97,2	0,8	2,0
				25±2°C/60±5% относительная влажность	92,4	1,1	6,5
			6 мес.	5±3°C	95,7	0,5	3,8
				25±2°C/60±5% относительная влажность	89,3	0,9	9,8
			7	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленглико ля, рН 8,0	Начальна я	Неприменимо
0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,2				1,0	1,8
1 мес.	5±3°C	98,2				0,9	0,9

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %			
8	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленглико ля, рН 8,3		25±2°C/60±5% относительная влажность	96,9	0,9	2,1			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	96,4	1,0	2,7			
				5±3°C	98,0	0,9	1,1			
			2 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	95,1	0,9	3,9			
				30±2°C/65±5% относительная влажность	93,3	1,1	5,6			
				5±3°C	96,9	1,1	2,0			
			3 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	93,8	1,1	5,1			
				5±3°C	97,1	0,7	2,3			
			6 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	91,6	1,2	7,3			
				5±3°C	97,1	0,7	2,3			
						Начальна я	Неприменимо	98,3	1,0	0,7
						0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,4	0,7	1,9
						1 мес.	5±3°C	98,3	0,9	0,8
							25±2°C/60±5% относительная влажность	97,0	0,8	2,2
							30±2°C/65±5% относительная влажность	96,3	0,9	2,7
2 мес.	5±3°C	98,2				1,0	0,9			

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %	
9	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленглико ля, рН 8,6	3 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	94,7	1,0	4,3	
				30±2°C/65±5% относительная влажность	93,1	1,2	5,7	
				5±3°C	97,5	0,6	1,9	
				25±2°C/60±5% относительная влажность	92,9	1,6	5,5	
				5±3°C	95,5	0,6	3,9	
				25±2°C/60±5% относительная влажность	87,5	1,9	10,6	
			Начальна я	Неприменимо	98,5	0,8	0,7	
				0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	96,9	1,0	2,1
					5±3°C	98,5	0,8	0,7
				1 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	96,9	0,8	2,3
					30±2°C/65±5% относительная влажность	96,1	0,8	3,0
					5±3°C	97,9	0,9	1,2
2 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	94,5		0,9	4,6			
	30±2°C/65±5% относительная влажность	93,0	1,2	5,9				
3 мес.	5±3°C	97,1	1,1	1,8				

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %	
10	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 46 мг/мл маннитола, рН 8,3 с с затравками фибрилл		25±2°C/60±5% относительная влажность	92,6	1,2	6,2	
				6 мес.	5±3°C	96,1	0,7	3,3
					25±2°C/60±5% относительная влажность	90,3	0,9	8,8
					Начальна я	Неприменимо	98,5	0,9
					30±2°C/65±5% относительная влажность	97,0	1,0	2,0
					1 мес.	5±3°C	98,3	0,9
			25±2°C/60±5% относительная влажность	97,2		0,8	2,1	
			30±2°C/65±5% относительная влажность	96,2		0,8	3,1	
			2 мес.		5±3°C	97,5	1,1	1,4
					25±2°C/60±5% относительная влажность	95,0	1,0	4,0
					30±2°C/65±5% относительная влажность	92,7	1,1	6,2
			3 мес.		5±3°C	97,0	1,2	1,9
					25±2°C/60±5% относительная влажность	92,7	1,2	6,1
			6 мес.		5±3°C	96,8	0,7	2,5
25±2°C/60±5% относительная влажность	90,8	1,0			8,2			

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общее содержан ие основных варианто в %	Общее содержан ие кислых варианто в %
11	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 90 мг/мл сахарозы, рН 8,3 с с затравками фибрилл	Начальна я	Неприменимо	98,6	0,8	0,6
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,1	0,8	2,1
			1 мес.	5±3°C	98,2	0,8	1,0
				25±2°C/60±5% относительная влажность	96,8	0,9	2,3
				30±2°C/65±5% относительная влажность	95,9	1,0	3,1
			2 мес.	5±3°C	97,9	1,1	1,1
				25±2°C/60±5% относительная влажность	94,6	1,0	4,4
				30±2°C/65±5% относительная влажность	92,4	1,2	6,5
			3 мес.	5±3°C	96,1	1,1	2,7
				25±2°C/60±5% относительная влажность	93,0	1,1	6,0
			6 мес.	5±3°C	95,6	0,6	3,9
				25±2°C/60±5% относительная влажность	86,5	1,8	11,8
12	12	10 мМ триса, 0,5 мг/мл ЭДТА, 20 мг/мл пропиленглико ля,	Начальна я	Неприменимо	98,6	0,7	0,7
			0,5 мес.	30±2°C/65±5% относительная влажность	97,1	1,0	1,9
			1 мес.	5±3°C	98,2	0,8	1,0

ИН	АФИ (мг/мл)	Композиция композиция	Временна я точка	Условие	Основно й пик %	Общес содержан ие основных варианто в %	Общес содержан ие кислых варианто в %
		рН 8,3 с с затравками фибрилл		25±2°C/60±5% относительная влажность	97,0	0,9	2,2
				30±2°C/65±5% относительная влажность	96,4	0,9	2,7
				5±3°C	98,2	1,0	0,8
			2 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	95,0	1,0	4,0
				30±2°C/65±5% относительная влажность	93,3	1,4	5,3
				5±3°C	96,6	1,1	2,3
			3 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	94,9	0,7	4,4
				5±3°C	96,6	0,7	2,7
			6 мес.	25±2°C/60±5% относительная влажность	87,5	1,8	10,6
				5±3°C	96,6	0,7	2,7

Влияние антиоксидантов на стабильность Соединения 1

Введение

Исследования деградации показали, что Соединение 1 может быть подвержено окислению. Включение ЭДТА, широко используемого антиоксиданта, эффективно подавляет окисление в растворенном состоянии. Также можно рассмотреть другие вспомогательные вещества для ограничения окисления. В текущем исследовании ЭДТА, цитрат и метионин оценивали в качестве антиоксидантов для жидких составов Соединения I. Пробу без какого-либо антиоксиданта включали в качестве контроля.

Материалы и методы

АФИ Соединения 1 и вспомогательные вещества, использованные в исследовании, подробно описаны в **Таблице 14**. Все остальные лабораторные реагенты использовали как есть.

Таблица 14: Материалы исследования

Материал	ИН	Срок годности
Соединение I (содержание пептида = 83,7%) (Чистота = 97,1%)	BO1706P002	н/п
Трис Молекулярная масса = 121,136 г/моль	D313752	июль 2023 г.
глицерин, синтетический	D097358	октябрь 2022 г.
Лимонная кислота, безводная Молекулярная масса = 192,123 г/моль	D251666	май 2023 г.
Метионин Молекулярная масса = 149,21 г/моль	SLCD9864	н/п
Дигидрат динатриевой соли ЭДТА Молекулярная масса = 372,24 г/моль	CDBB4550V	н/п
NaOH, 1 н. ^b	164777	июль 2022 г.
Очищенная вода	AE29421220	июль 2022 г.

^a: Количество Соединения 1 корректируется с учетом количества по данным ВЭЖХ, указанного в сертификате анализа.

^b: Количество, достаточное для корректировки pH

Составы, содержащие Соединение 1, подлежащие исследованию, представлены в Таблице 15.

Таблица 15: Композиция состава Соединения I

Партия №	Матрикс лекарственного продукта Соединения I				
	Активный	Буфер	Агент для регуляции тоничности	Антиоксидант	pH
	Соединение 1 (мг/мл)	Трис (мг/мл, 10 мМ)	Глицерин, синтетический (мг/мл)		
25-1	20	1,21	20	–	8,2
25-2	20	1,21	20	ЭДТА 0,5 мг/мл	8,2
25-3	20	1,21	20	Цитрат 1,92 мг/мл (10 мМ)	8,2
25-4	20	1,21	20	Метионин 1,49 мг/мл (10 мМ)	8,2
26	20	1,21	20	Метионин 14,9 мг/мл (100 мМ)	8,2

5

Растворы фильтровали через фильтры из ПВДФ с размером пор 0,22 мкм.

Растворы вносили в стеклянные флаконы в вытяжном шкафу с ламинарным потоком.

Флаконы закрывали крышкой и хранили при 5°C, 25°C и 30°C. Готовили четыре состава, содержащие Соединение 1, для оценки эффективности стабилизации антиоксидантами, а именно ЭДТА, цитратом и метионином. Также включали контрольную пробу, которая не содержала никакого антиоксиданта (Таблица 15, партии №№ 25-1, 25-2, 25-3 и 25-4).

10

Впоследствии пятую пробу, содержащую более высокую концентрацию метионина (100 мМ в сравнении с 10 мМ), готовили для оценки влияния концентрации метионина (Таблица 15, партия № 26). Пробы готовили и хранили при 5°C, 25°C и 30°C до 3

15

месяцев. В соответствующие моменты времени выполняли анализы стабильности для оценки физической и химической стабильности.

Внешний вид составов Соединения I

Внешний вид составов Соединения 1 через три месяца при визуальном осмотре показал отчетливые различия между составами (Таблица 15). При 5°C растворы были бесцветными. Однако при 25°C и 30°C контроль и пробы, содержащие метионин, были слегка желтыми, в то время как пробы, содержащие ЭДТА и цитрат, оставались бесцветными. Изменение цвета часто является признаком химической деградации. При 5°C скорость химической деградации может быть достаточно низкой независимо от стабилизаторов, и, следовательно, все растворы выглядят бесцветными. При повышенных температурах расходящиеся кинетики деградации отражают действие антиоксидантов.

10

Таблица 16: Внешний вид составов Соединения 1 через три (3) месяца

Партия №	Стабилизатор	Температура (°C)	Внешний вид
25-1	Отсутствует; Контроль	5	Бесцветный
25-2	ЭДТА, 0,5 мг/мл		Бесцветный
25-3	Цитрат, 10 мМ		Бесцветный
25-4	Метионин, 10 мМ		Данные недоступны
25-1	Отсутствует; Контроль	25	Слегка желтая
25-2	ЭДТА, 0,5 мг/мл		Бесцветный
25-3	Цитрат, 10 мМ		Бесцветный
25-4	Метионин, 10 мМ		Слегка желтая
25-1	Отсутствует; Контроль	30	Слегка желтая
25-2	ЭДТА, 0,5 мг/мл		Бесцветный
25-3	Цитрат, 10 мМ		Бесцветный
25-4	Метионин, 10 мМ		Слегка желтая

Влияние антиоксиданта на химическую стабильность Соединения 1 по данным ОФ-ВЭЖХ

Данные в Таблице 17 показывают, что химическая деградация Соединения 1 не была существенной в условиях охлаждения. При 25°C и 30°C существуют значительные различия в эффективности стабилизации. Без какого-либо антиоксиданта контрольная пробы показала быструю химическую деградацию. Метионин, обычно используемый антиоксидант в составах моноклональных антител, продемонстрировал более низкую эффективность стабилизации (как при 10 мМ, так и при 100 мМ) по сравнению с ЭДТА и

15

цитратом. Химическая деградация подавлялась как ЭДТА, так и цитратом, при этом ЭДТА был немного эффективнее, чем цитрат.

Таблица 17: Общее содержание примесей Соединения 1 по данным ОФ-ВЭЖХ

Темп. (°C)	Время (месяц)	Общее содержание примесей (%)				
		25-1 (контроль)	25-2 (ЭДТА)	25-3 (цитрат)	25-4 (10 мМ метионина)	26 (100 мМ метионина)
T = 5°C	0	2,5	2,4	2,5	2,5	2,8
	3	3,1	2,7	2,9	3,1	3,0
T = 25°C	0	2,5	2,4	2,5	2,5	2,8
	1	6,4	4,5	4,9	6,0	5,9
	3	13,6	8,5	9,4	12,9	-
T = 30°C	0	2,5	2,4	2,5	2,5	2,8
	1	8,3	5,5	6,0	7,5	7,5
	3	19,8	11,6	14,0	17,6	-

5

Данные экспериментов, описанных выше, демонстрируют, что окисление Тгр является одним из основных путей деградации. Данные в **Таблице 18** показывают, что возможное окисление Тгр было почти полностью подавлено ЭДТА или цитратом, при этом при использовании метионина был достигнут меньший эффект.

10

Таблица 18: Примеси Соединения 1, связанные с окислением Тгр, по данным ОФ-ВЭЖХ

Темп. (°C)	Время (месяц)	Окисление Тгр (%)				
		25-1 (контроль)	25-2 (ЭДТА)	25-3 (цитрат)	25-4 (10 мМ метионина)	26 (100 мМ метионина)
T = 5°C	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	3	0,1	0,1	0,0	0,2	0,1
T = 25°C	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

	1	0,4	0,1	0,1	0,3	0,3
	3	1,0	0,1	0,1	0,9	-
T = 30°C	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	1	0,5	0,1	0,1	0,4	0,4
	3	1,3	0,2	0,2	1,0	-

Влияние антиоксиданта на физическую стабильность Соединения 1

Образование ковалентных агрегатов оценивали методом эксклюзионной хроматографии (ЭХ). Общее содержание агрегатов, измеренное с помощью ЭХ за три месяца, показано на **Фигуре 6а** для флаконов, хранившихся при 5°C, на **Фигуре 6б** для флаконов, хранившихся при 25°C, и на **Фигуре 6с** для флаконов, хранившихся при 30°C. Все составы имели хорошие характеристики при 5°C. При 25°C и 30°C ЭДТА и цитрат продемонстрировали значительную эффективность стабилизации.

В дополнение к ЭХ трехмесячные пробы испытывали на невидимые твердые частицы с использованием методов затенения света (НІАС) и визуализации потока (MFI). Экспериментальные данные представлены в **Таблице 19**. Не наблюдали очевидных тенденций. Количество частиц согласно НІАС находится в пределах спецификаций для измерений ≥ 10 мкм и ≥ 25 мкм.

15 **Таблица 19: Общее содержание агрегатов Соединения 1 по данным ЭХ**

Темп. (°C)	Время (месяц)	Общее содержание агрегатов (%)			
		25-1 (контроль)	25-2 (ЭДТА)	25-3 (цитрат)	25-4 (10 мМ метионина)
T = 5°C	0	0,3	0,3	0,3	0,3
	3	0,5	0,4	0,3	0,5
T = 25°C	0	0,3	0,3	0,3	0,3
	3	3,2	0,7	0,7	2,7
T = 30°C	0	0,3	0,3	0,3	0,3
	3	4,6	0,8	0,9	3,3

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

1. Фармацевтический состав, содержащий:

(i) соединение следующей формулы:

5 His-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-
Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Xaa28-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly
где

Xaa2 представляет собой Aib;

Xaa28 представляет собой Glu или Ser;

10 Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-
аминогруппы боковой цепи Lys с C14-C24 жирной кислотой посредством
линкера между Lys в положении 20 и C14-C24 жирной кислотой, причем
указанный линкер представляет собой ([2-(2-аминоэтоксид)этоксид]ацетил)2-
(γ -Glu)_t, где t представляет собой 1 или 2; и

15 C-концевая аминокислота необязательно амидирована (SEQ ID NO: 5);

(ii) буфер;

(iii) агент для регуляции тоничности; и

(iii) антиоксидант,

причем рН указанного состава составляет 7,8-9,0.

20

2. Фармацевтический состав по п. 1, отличающийся тем, что указанное соединение
выбрано из группы, состоящей из:

(a) соединения следующей формулы:

25 His-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-
Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Glu-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

где Xaa 2 представляет собой Aib;

30 Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-
аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)этоксид]-ацетил)2-(γ -Glu)-CO-
(CH₂)₁₈CO₂H; и

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 1);

35 (b) соединения следующей формулы:

His-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Ser-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

5 где Xaa 2 представляет собой Aib;

Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(γ-Glu)2-CO-(CH₂)₁₈CO₂H; и

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 2);

10

(c) соединения следующей формулы:

His-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Glu-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

15

где Xaa 2 представляет собой Aib;

Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(γ-Glu)-CO-(CH₂)₁₆CO₂H; и

20

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 3);

(d) соединения следующей формулы:

His-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Ser-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

25

где Xaa 2 представляет собой Aib;

Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(γ-Glu)2-CO-(CH₂)₁₆CO₂H; и

30

C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 4).

3. Фармацевтический состав по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанное соединение имеет следующую формулу:

35

His-Xaa2-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Lys-Lys-Ala-Lys-Glu-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-Leu-Glu-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly

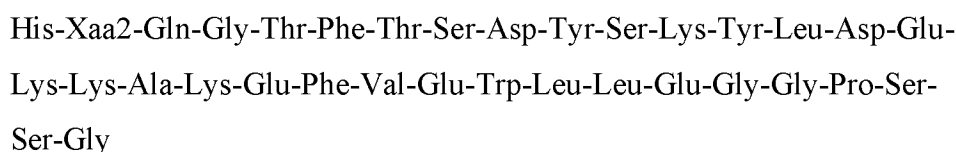
где Xaa 2 представляет собой Aib;

- 5 Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)этоксид]-ацетил)2-(gamma-Glu)-CO-(CH₂)₁₈CO₂H; и C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 1).
- 10 4. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что указанный состав содержит от 1 мг/мл до 100 мг/мл указанного соединения.
5. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанный буфер выбран из группы, состоящей из фосфатного буфера и
- 15 трис(гидроксиметил)аминометанового буфера (или 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диол[(HOCH₂)₃CNH₂]).
6. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что указанный состав содержит от 1 мМ до 20 мМ указанного буфера.
- 20 7. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что указанный буфер представляет собой трис(гидроксиметил)аминометановый (Трис) буфер.
8. Фармацевтический состав по п. 7, отличающийся тем, что указанный состав
- 25 содержит 10 мМ трис-буфера.
- 9 Фармацевтический состав по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный агент для регуляции тоничности выбран из группы, состоящей из маннитола, сахарозы, трегалозы, пропиленгликоля, глицерина, хлорида натрия и гидрохлорида
- 30 аргинина.
10. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что указанный состав содержит от 5 мг/мл до 150 мг/мл указанного агента для регуляции тоничности.
- 35

11. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что указанный агент для регуляции тоничности представляет собой маннитол.
- 5 12. Фармацевтический состав по п. 11, отличающийся тем, что указанный состав содержит 45-55 мг/мл маннитола.
- 10 13. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что указанный антиоксидант выбран из группы, состоящей из ловушек радикалов, хелаторов или обрывающих цепь агентов.
14. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-13, отличающийся тем, что указанный состав содержит 0,05-10,0 мг/мл указанного антиоксиданта.
- 15 15. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что указанный антиоксидант выбран из группы, состоящей из ЭДТА, лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, бутилированного гидрокситолуола (ВНТ), бутилированного гидроксианизола (ВНА), сульфита натрия, п-аминобензойной кислоты, глутатиона, пропилгаллата, гистидина, цистеина, метионина, этанола и N-ацетилцистеина.
- 20 16. Фармацевтический состав по п. 15, отличающийся тем, что указанный антиоксидант представляет собой ЭДТА.
- 25 17. Фармацевтический состав по п. 16, отличающийся тем, что указанный состав содержит 0,2-1,0 мг/мл ЭДТА.
18. Фармацевтический состав по п. 16 или п. 17, отличающийся тем, что указанный состав содержит 0,5 мг/мл ЭДТА.
- 30 19. Фармацевтический состав по п. 15, отличающийся тем, что указанный антиоксидант представляет собой лимонную кислоту.
20. Фармацевтический состав по п. 19, отличающийся тем, что указанный состав содержит от 5 мМ до 15 мМ лимонной кислоты.

21. Фармацевтический состав по п. 18 или 19, отличающийся тем, что указанный состав содержит от 8 мМ до 12 мМ лимонной кислоты.
22. Фармацевтический состав по любому из пп. 19-21, отличающийся тем, что указанный состав содержит 10 мМ лимонной кислоты.
23. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-22, отличающийся тем, что рН указанного состава составляет примерно 8,0-8,6.
24. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-23, отличающийся тем, что рН указанного состава составляет примерно 8,0-8,3.
25. Фармацевтический состав по п. 1, содержащий:

- (i) от 1 мг/мл до 100 мг/мл соединения следующей формулы:



- где Xaa 2 представляет собой Aib;
- Lys в положении 20 химически модифицирован путем конъюгации эpsilon-аминогруппы боковой цепи Lys с ([2-(2-аминоэтоксид)-этоксид]-ацетил)2-(γ -Glu)-CO-(CH₂)₁₈CO₂H; и
- C-концевая аминокислота амидирована (SEQ ID NO: 1);

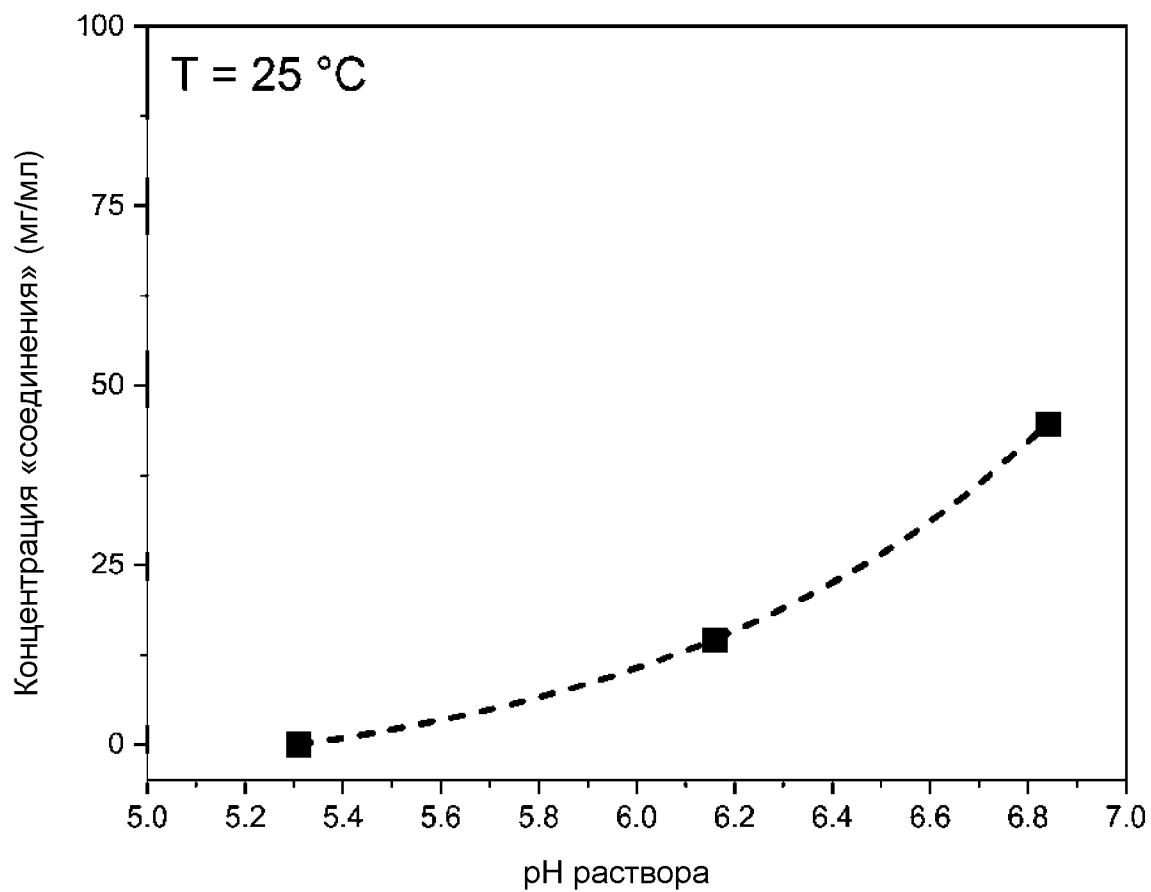
- (ii) 10 мМ трис-буфера;
- (iii) 46 мг/мл маннитола;
- (iv) 0,5 мг/мл ЭДТА,

причем рН указанного состава составляет 8,0-8,3.

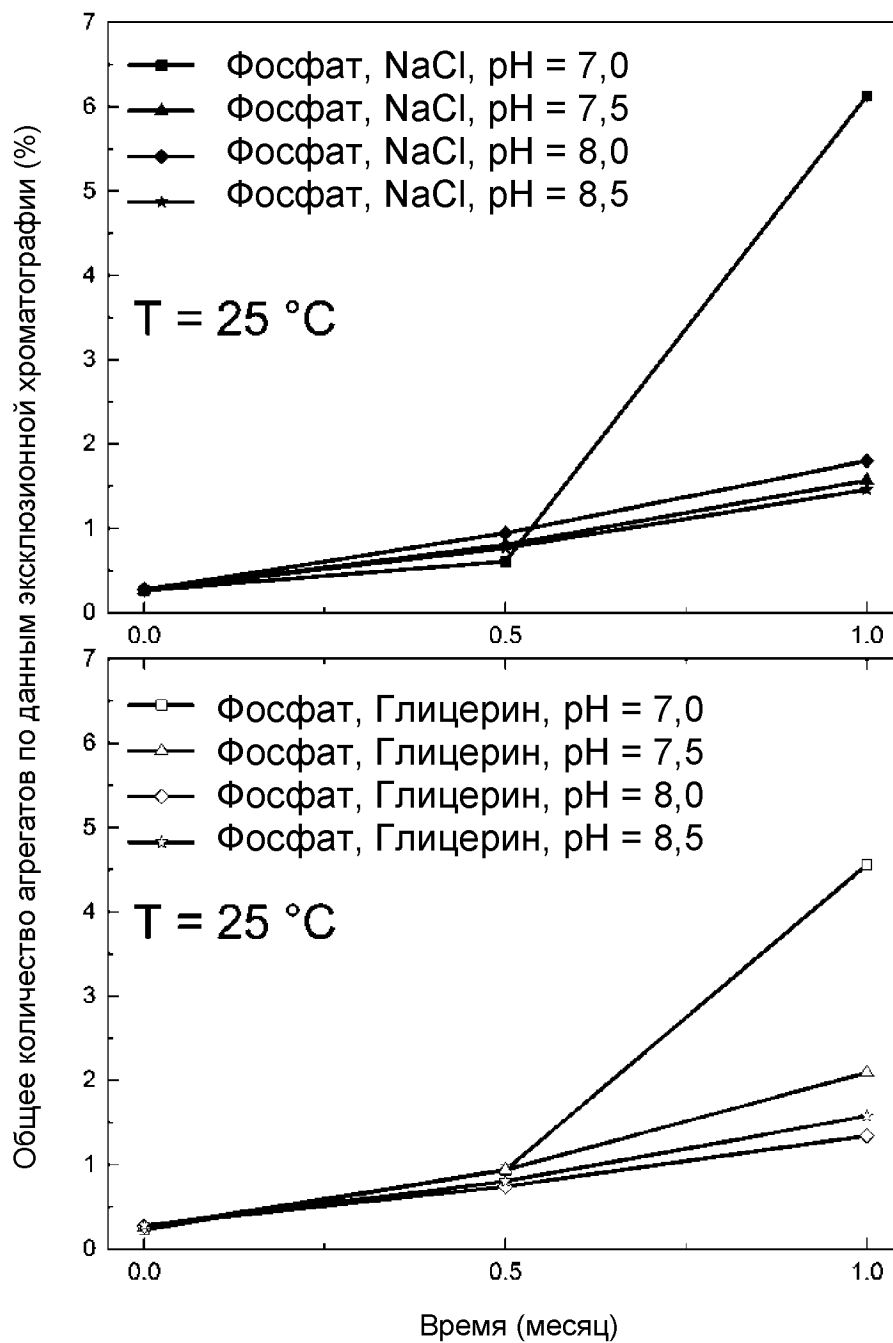
26. Способ лечения и/или предотвращения диабета 2 типа, отличающийся тем, что указанный способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества фармацевтического состава по любому из пп. 1-25.

27. Способ лечения и/или предотвращения ожирения, отличающийся тем, что указанный способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества фармацевтического состава по любому из пп. 1-25.
- 5 28. Способ лечения и/или предотвращения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), отличающийся тем, что указанный способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества фармацевтического состава по любому из пп. 1-25.
- 10 29. Способ лечения и/или предотвращения неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), отличающийся тем, что указанный способ включает введение пациенту терапевтически эффективного количества фармацевтического состава по любому из пп. 1-25.
- 15 30. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-25 для применения при лечении и/или предотвращении диабета 2 типа.
31. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-25 для применения при лечении и/или предотвращении ожирения.
- 20 32. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-25 для применения при лечении и/или предотвращении НАЖБП.
33. Фармацевтический состав по любому из пп. 1-25 для применения при лечении и/или предотвращении НАСГ.
- 25 34. Применение фармацевтического состава по любому из пп. 1-25 в изготовлении лекарственного средства для применения при лечении диабета 2 типа.
- 30 35. Применение фармацевтического состава по любому из пп. 1-25 в изготовлении лекарственного средства для применения при лечении ожирения.
36. Применение фармацевтического состава по любому из пп. 1-25 в изготовлении лекарственного средства для применения при лечении НАЖБП.

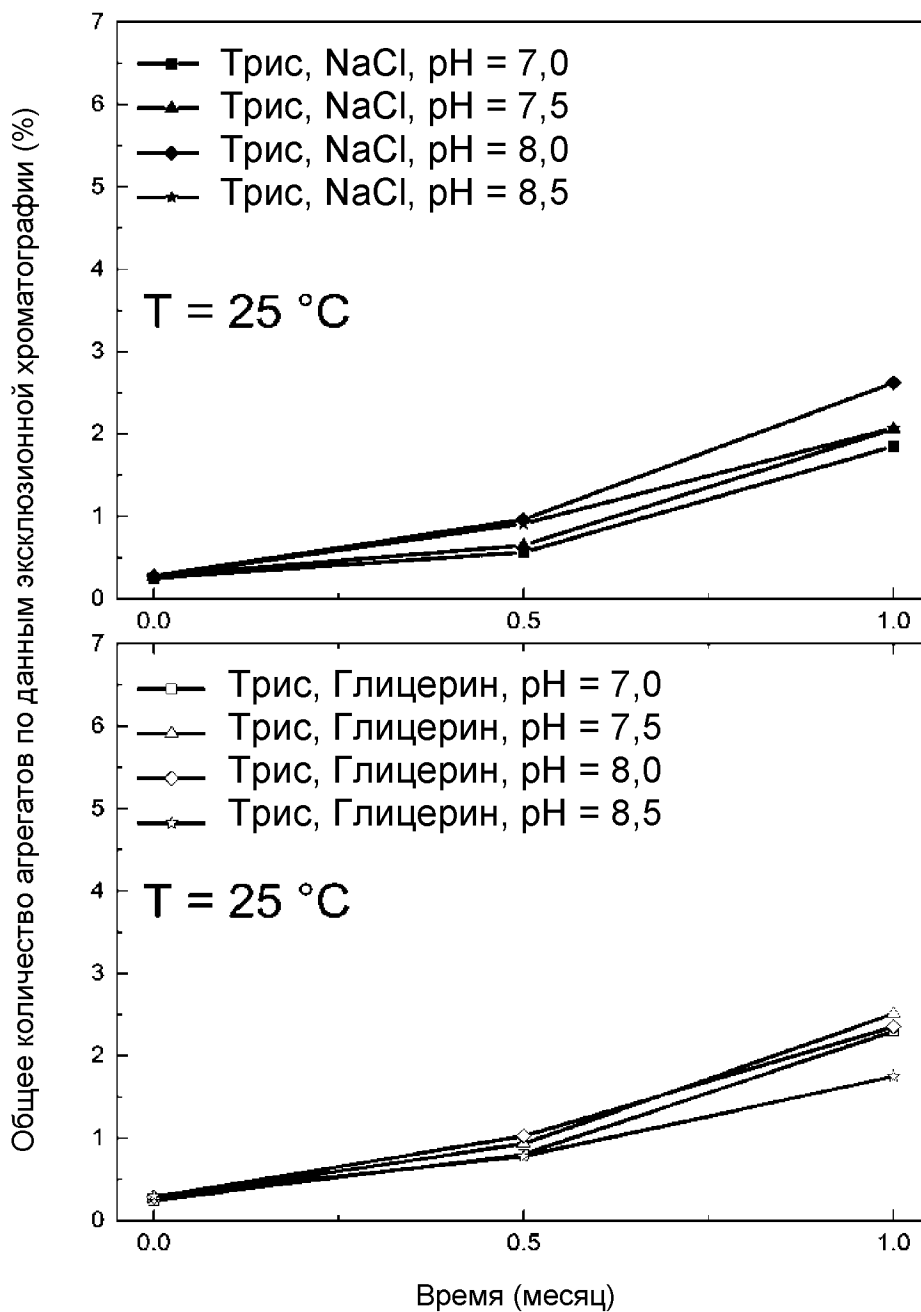
37. Применение фармацевтического состава по любому из пп. 1-25 в изготовлении лекарственного средства для применения при лечении НАСГ.



Фигура 1: Концентрация Соединения 1 в растворе в зависимости от pH

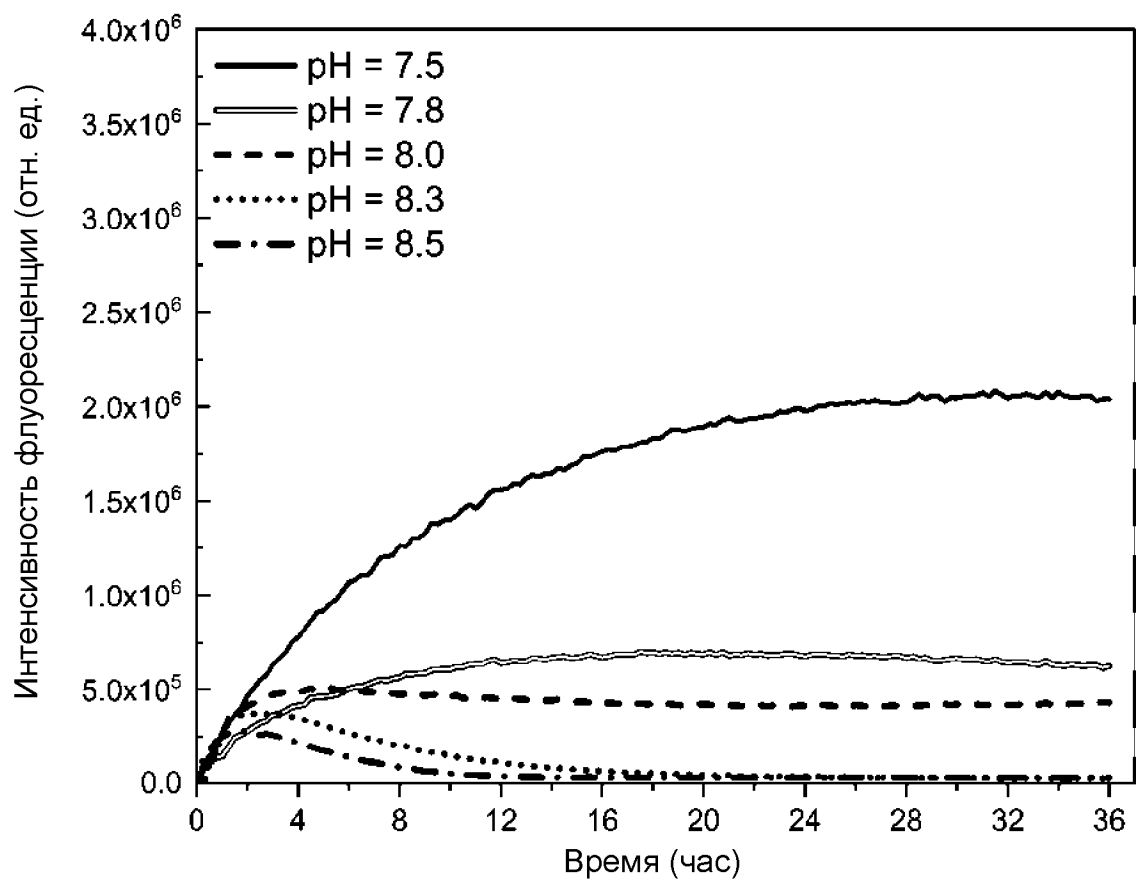


Фигура 2а: Общее содержание агрегатов по данным эксклюзионной хроматографии (ЭХ) в жидких составах Соединения 1, T = 25°C.

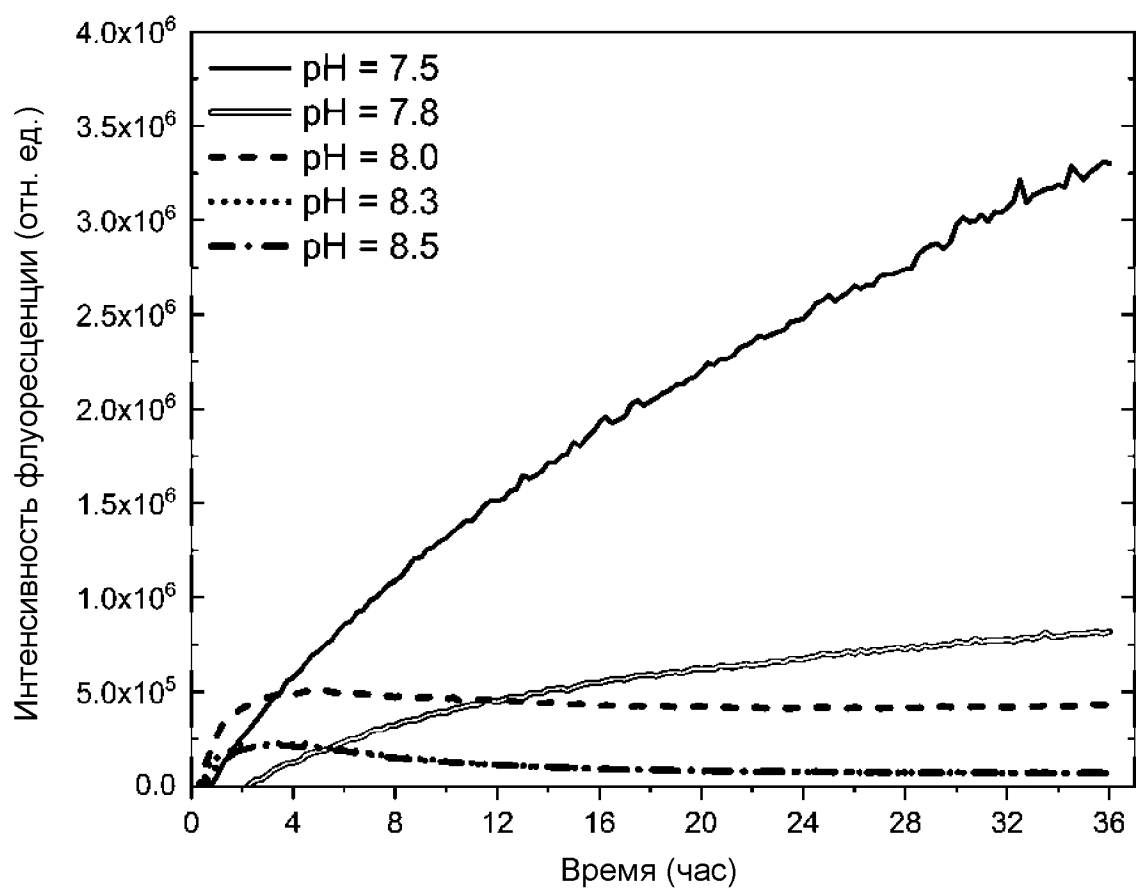


**Фигура 2b: Общее содержание агрегатов по данным ЭХ жидких составов
Соединения 1, T = 25 °C.**

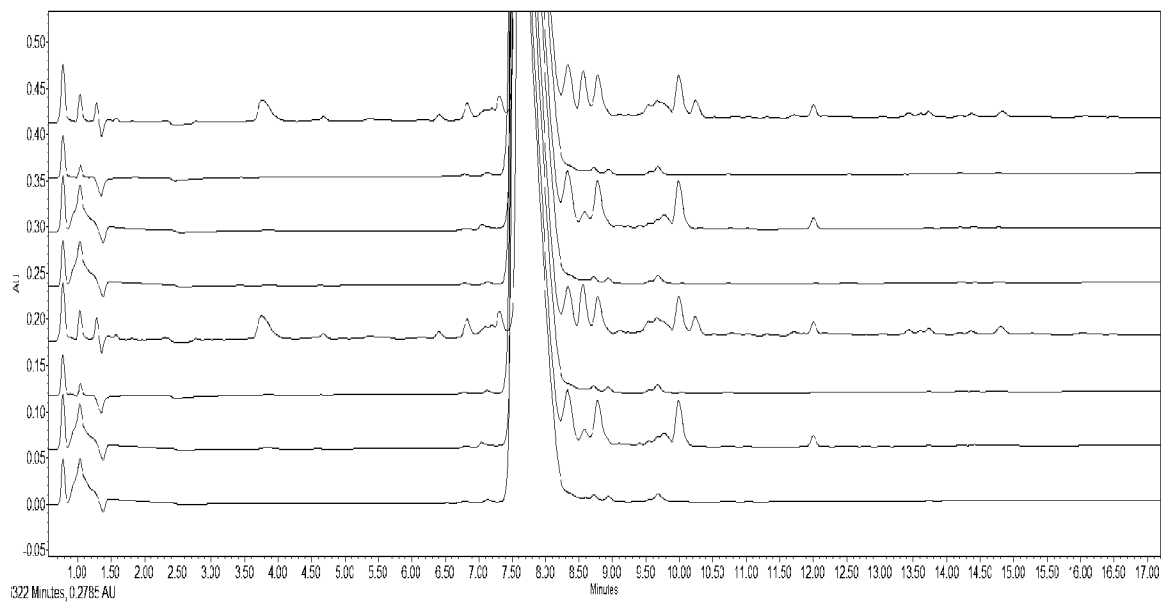
**Матрицы содержали 10 мМ трис-буфера с NaCl или глицерином в качестве
агента для регуляции тоничности.**



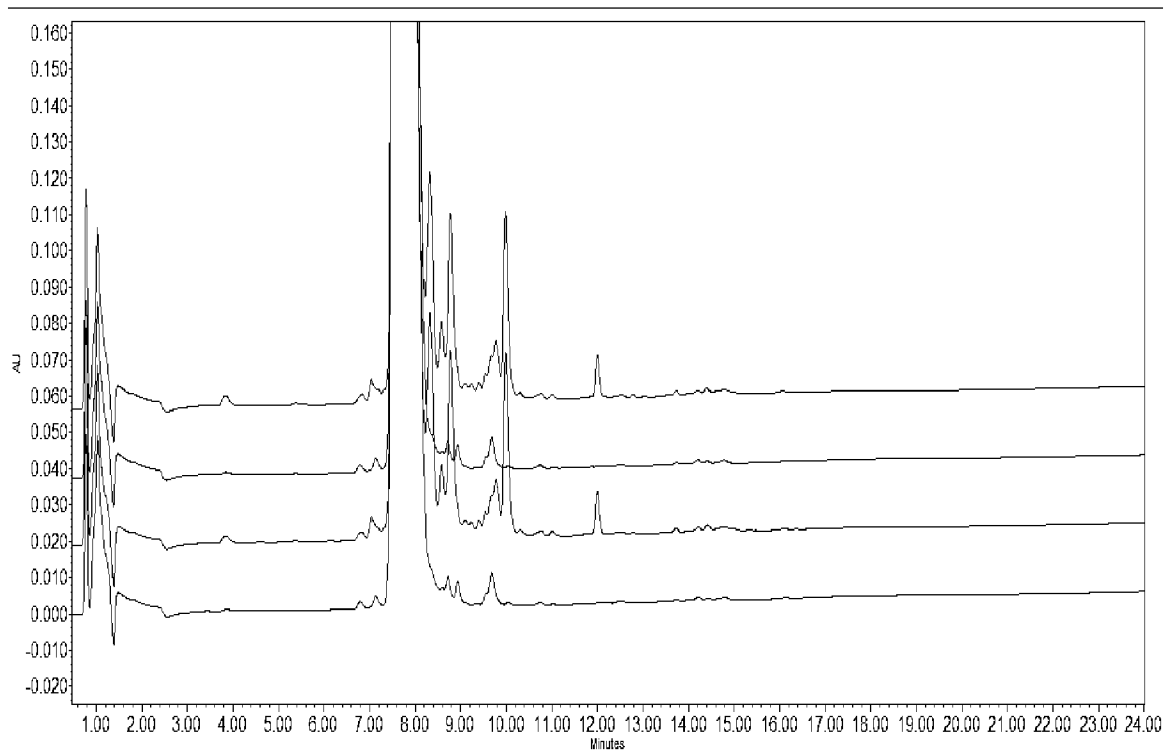
Фигура 3а: Флуоресцентный сигнал ThT 2 мг/мл Соединения 1 с затравками фибрилл



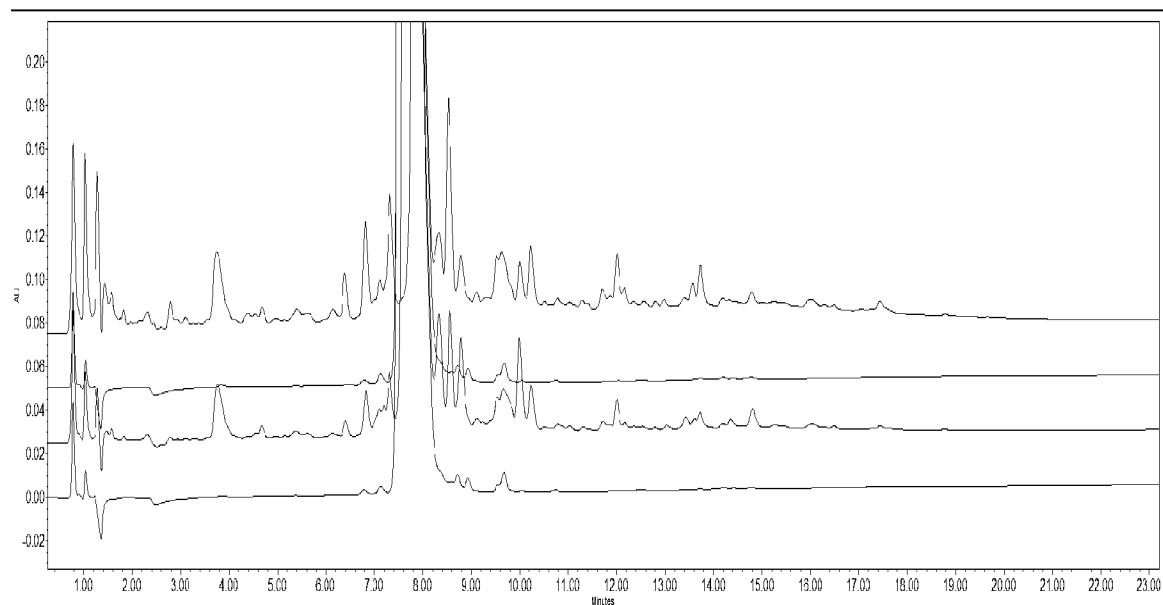
Фигура 3в: Флуоресцентный сигнал ThT 12 мг/мл Соединения 1 с затравками фибрилл



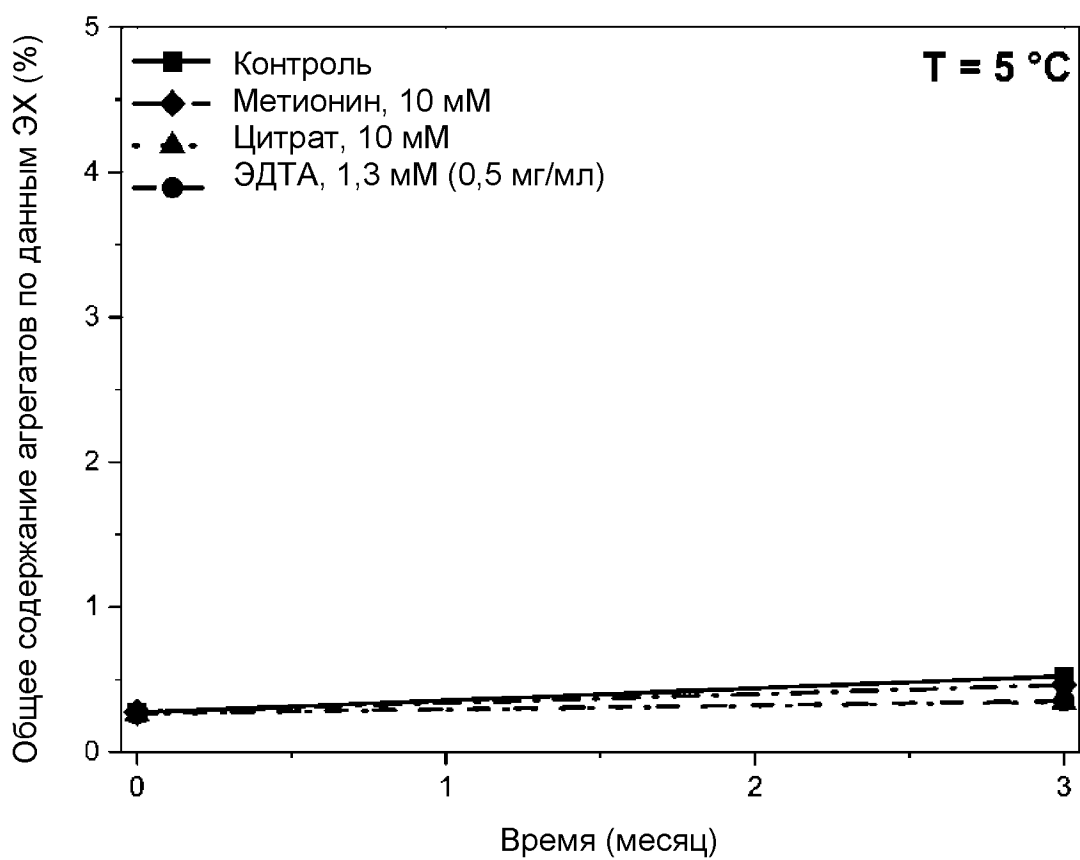
Фигура 4: Хроматограмма ОФ-ВЭЖХ 2 мг/мл состава Соединения 1, хранившегося при 40°C до 4 недель



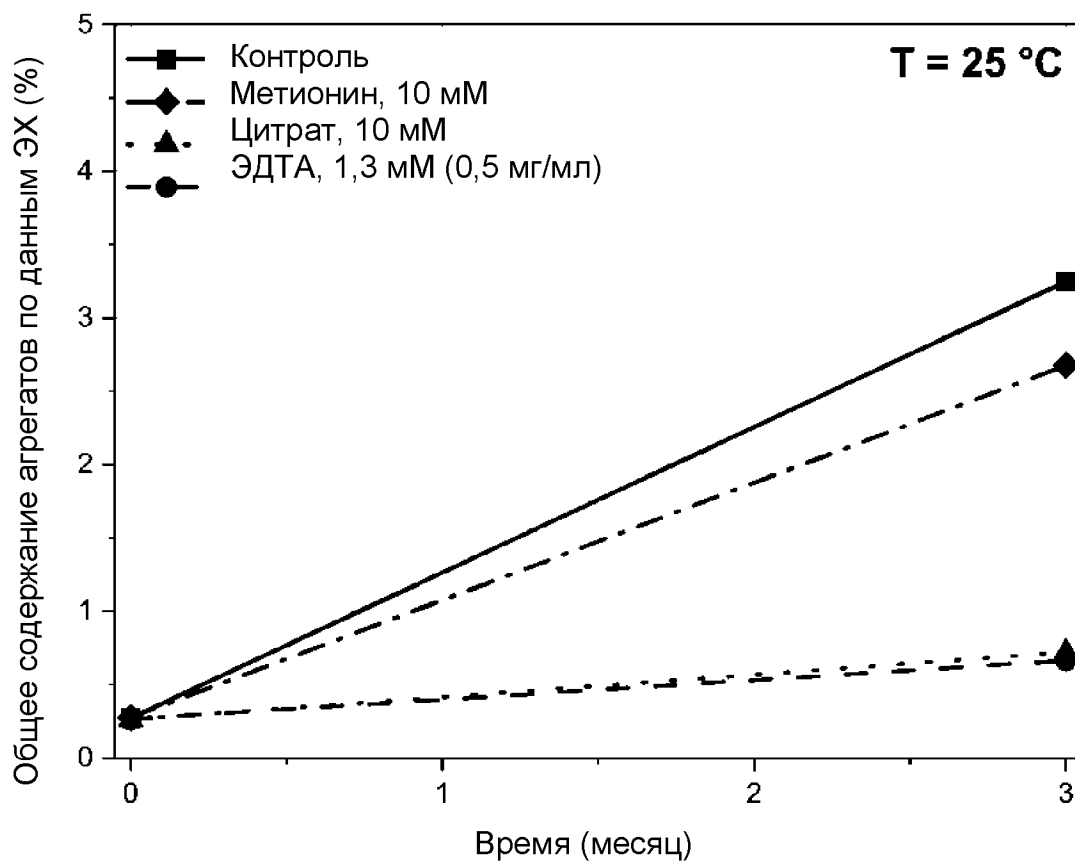
**Фигура 5а: ОФ-ВЭЖХ состава Соединения 1, 2 мг/мл
(партия 1, содержащая 0,5 мг/мл ЭДТА)**



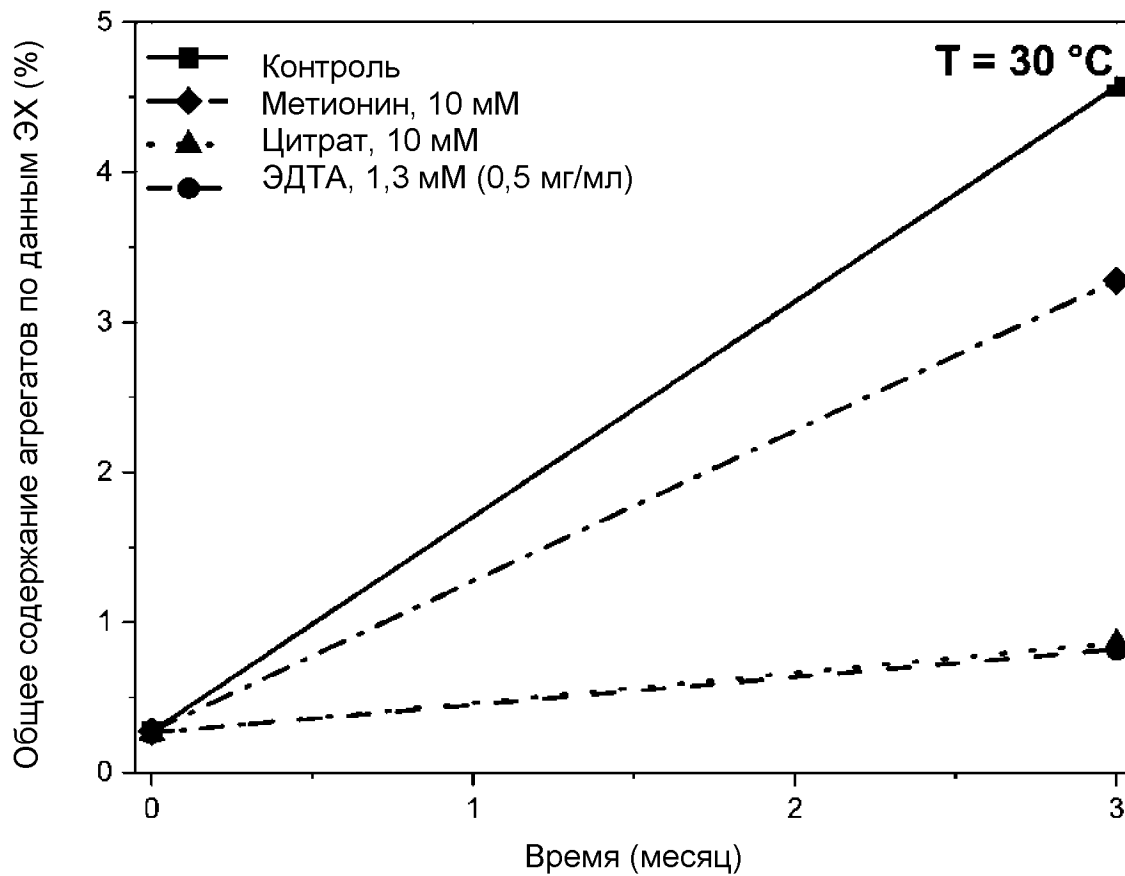
**Фигура 5b: ОФ-ВЭЖХ состава Соединения 1, 2 мг/мл
(партия 2, без 0,5 мг/мл ЭДТА)**



Фигура 6а: Общее содержание агрегатов по данным ЭХ при 5°C



Фигура бв: Общее содержание агрегатов по данным ЭХ при 25°C



Фигура 6с: Общее содержание агрегатов по данным ЭХ при 30°C