

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202393585** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.02.21

(22) Дата подачи заявки
2022.07.07

(51) Int. Cl. *A61K 9/08* (2006.01)
A61J 1/05 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)

(54) **РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ, КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ СТАБИЛИЗАЦИИ
РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ**

(31) **202121030619**

(32) **2021.07.08**

(33) **IN**

(86) **PCT/IB2022/056276**

(87) **WO 2023/281432 2023.01.12**

(71) Заявитель:

**ЮНИЧЕМ ЛАБОРАТОРИЕС ЛТД
(IN)**

(72) Изобретатель:

**Сазе Джананжей, Мишра Вивек, Жог
Сунил, Ияппан Сараванакумар (IN)**

(74) Представитель:

Сагитов В.Р. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к рекомбинантным белкам, их композициям и способам их стабилизации. В частности, изобретение относится к стабильному рекомбинантному белку SEQ ID NO: 1 и композиции, содержащей рекомбинантный белок SEQ ID NO: 1. Кроме того, изобретение относится к способу получения, хранения и стабилизации рекомбинантного белка SEQ ID NO: 1 и его композиции в целях увеличения срока хранения.

A1

202393585

202393585

A1

РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ, КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ СТАБИЛИЗАЦИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ

Область техники

Настоящее изобретение относится к рекомбинантному лектину, полученному из лектина *Sclerotium rolfsii*, композициям и способам повышения стабильности такого лектина.

Уровень техники

Лектины представляют собой высокоспецифичные углеводсвязывающие белки, макромолекулы, которые обладают высокой специфичностью к сахарным компонентам других молекул. Многие лектины используются в качестве биомаркеров, позволяющих выявлять рост злокачественных клеток на раннем этапе, или в качестве индукторов аутофагии, в то время как другие лектины также демонстрируют способность ингибировать рост раковых клеток посредством апоптоза. Лектины модулируют пути, связанные со злокачественными новообразованиями, и обладают потенциалом для применения в качестве диагностических инструментов и терапевтических средств при борьбе со онкологическими заболеваниями. В настоящее время большинство имеющихся в продаже лектинов получают из растений и других эукариот.

Лектин *Sclerotium rolfsii* (или SRL) представляет собой лектин, выделенный из склероциальных телец передающегося через почву фитопатогенного грибка *Sclerotium rolfsii*. SRL обладает специфичностью к антигену Томсена-Фриденрайха (TF) и антигену Tn. Антиген TF представляет собой дисахарид ($\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}\text{-}\alpha\text{-Ser/Thr}$), сверхэкспрессируемый на поверхности различных опухолевых клеток человека. Антиген Tn представляет собой моносахарид ($\text{GalNAc}\text{-}\alpha\text{-Ser/Thr}$). Известно, что антигены TF и Tn участвуют в адгезии опухолевых клеток к эндотелию посредством механизма рекрутинга галектина-3 и MUC-1, что является первым этапом образования метастазов. Кроме того, стало очевидно, что этот путь можно заблокировать растущим числом молекул, тем самым создавая пути для терапевтического вмешательства. Было показано, что благодаря

своей специфичности к антигенам TF и Tn SRL связывается с опухолевыми клетками человека.

Патентные заявки WO/2010/095143, WO/2014/203261 и WO/2020/044296 раскрывают несколько рекомбинантных вариантов SRL и полностью включены в данный документ путем отсылки. Помимо улучшения специфичности к антигенам TF и Tn по сравнению с нативным SRL, новые варианты показали высокую растворимость и стабильность. Терапевтическое применение этих вариантов при злокачественных заболеваниях раскрыто в перечисленных выше патентных заявках. Патентная заявка WO/2020/074984 дополнительно раскрывает терапевтическое применение таких вариантов для лечения или профилактики воспалительных заболеваний и полностью включена в данный документ путем отсылки.

Разработка лекарственной формы фармацевтических белков и полипептидов, как и прочих биофармацевтических препаратов, затруднена в связи с проблемами со стабильностью. Как правило, в традиционных растворах белки нестабильны. Они склонны к деградации, такой как окислительное дезаминирование, агрегации и осаждению вследствие как химических, так и физических процессов. Агрегация, осаждение, коагуляция и вязкость представляют особую проблему для большинства белков, особенно при высоких концентрациях белка. Белки обычно более стабильны в лиофилизированном состоянии, чем в виде раствора. Тем не менее, нестабильность при хранении и транспортировке ограничивает успешное продвижение на рынке различных лекарственных форм, содержащих белок.

Основной принцип разработки фармацевтических белковых препаратов заключается в необходимости устранения определенной нестабильности. Пути расщепления белков можно разделить на два различных класса, а именно нестабильность химических и физических свойств. Нестабильность химических свойств приводит к изменению белка посредством образования или расщепления связи. Примерами нестабильности химических свойств являются деаминирование, рацемизация, гидролиз, окисление, β -элиминирование и дисульфидный обмен. Напротив, нестабильность физических свойств не приводит к ковалентным изменениям в белке; скорее, нестабильность физических

свойств связана с изменениями в структуре белка более высокого порядка (вторичной и выше). К ним относятся денатурация, поверхностная адсорбция, агрегация и осаждение. (Маннинг и соавт., Фармацевтические исследования, 6,903 (1989)). Более того, некоторые белки чувствительны к воздействию условий окружающей среды и/или УФ-излучения во время производства, приготовления и хранения, что может привести к деградации белка и потенциально повлиять на эффективность препарата. Например, фотооблучение белков может привести к агрегации, окислению, фрагментации и снижению биологической активности.

Хотя в патентных заявках WO/2010/095143 и WO/2014/203261 проблемы стабильности нативного SRL решают путем модификации последовательности, модифицированные рекомбинантные лектины не обладают стабильностью, необходимой для подготовки и разработки лекарственной формы препарата. Рекомбинантные лектины были дополнительно стабилизированы добавлением стабилизаторов в лекарственную форму, как описано в патентной заявке WO/2021/005500, содержание которой полностью включено в данный документ путем отсылки. Тем не менее, проблема обеспечения стабильности белков по-прежнему оставалась актуальной во время приготовления, хранения или транспортировки, поскольку в процессе часто происходила агрегация или окисление белков.

Фармацевтическая лекарственная форма должна отличаться стабильностью при комнатной температуре, простотой обращения и длительным сроком годности, чтобы ее было удобно транспортировать, хранить и обрабатывать. Образование агрегатов, окисление, коагуляция и/или осаждение белков во время хранения и обработки фармацевтической композиции может отрицательно влиять на биологическую активность белка, приводя к потере терапевтической эффективности фармацевтической композиции.

Цель изобретения

Таким образом, целью настоящего изобретения является создание рекомбинантного лектина, обладающего долговременной стабильностью при комнатной температуре и

долговременной стабильностью при температуре ниже комнатной. Такой рекомбинантный лектин отличается более длительным сроком хранения.

Другой целью настоящего изобретения является разработка способа улучшения долгосрочной стабильности рекомбинантного лектина, в частности рекомбинантного лектина, полученного из SRL.

Еще одной целью настоящего изобретения является разработка стабильной, фармацевтически приемлемой, терапевтически эффективной лекарственной формы рекомбинантного лектина. В частности, целью является создание лекарственной формы лектина, отличающейся стабильностью в течение длительного времени при комнатной температуре и в течение длительного времени при температуре ниже комнатной.

Еще одной целью является создание стабильной лиофилизированной лекарственной формы лектина с улучшенной стабильностью, отличающейся простотой обработки, хранения и транспортировки в течение срока годности.

Другой целью настоящего изобретения является разработка процесса получения стабильной, фармацевтически приемлемой, терапевтически эффективной лекарственной формы рекомбинантного лектина.

Еще одной целью настоящего изобретения является разработка способа улучшения долгосрочной стабильности лекарственной формы, содержащей рекомбинантный лектин.

Сущность изобретения

Согласно первому аспекту настоящего изобретения предложен стабильный лектин с SEQ ID NO. 1, содержащий менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении по меньшей мере в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °C и относительной влажности примерно 60%; причем лектин хранят в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм; причем свободное пространство в контейнере содержит инертную атмосферу или вакуум.

Согласно второму аспекту настоящего изобретения предложен лектин SEQ ID NO. 1, содержащий менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении по меньшей мере в течение примерно 1 года при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С; причем лектин хранят в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу.

Согласно третьему аспекту настоящего изобретения предложен способ повышения стабильности лектина SEQ ID NO. 1, причем способ содержит этап хранения лектина SEQ ID NO. 1 в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу, причем дополнительно лектин SEQ ID NO. 1 содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении указанного контейнера по меньшей мере в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °С и относительной влажности примерно 60%.

Согласно четвертому аспекту настоящего изобретения предложен способ повышения стабильности лектина SEQ ID NO. 1, причем способ содержит этап хранения лектина SEQ ID NO. 1 в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу, причем лектин SEQ ID NO. 1 содержит 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении указанного контейнера по меньшей мере в течение примерно 1 года при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С.

Согласно пятому аспекту настоящего изобретения предложена композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1 и стабилизатор, причем композиция содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении по меньшей мере в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °С и относительной влажности 60%; причем

композицию хранят в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу.

Согласно шестому аспекту настоящего изобретения предложена композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1 и стабилизатор, причем композиция содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении по меньшей мере в течение примерно 1 года при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С; причем композицию хранят в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу.

Согласно седьмому аспекту настоящего изобретения предложена лиофилизированная композиция, содержащая:

- a) лектин SEQ ID NO. 1 и
- b) стабилизатор, состоящий в основном из аминокислоты или ее соли, поверхностно-активного вещества, сахара или углевода или их комбинации,

причем композиция, хранящаяся в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу, остается стабильной в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °С и относительной влажности примерно 60%, и после хранения в течение этого периода композиция содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

Согласно восьмому аспекту настоящего изобретения, предложена лиофилизированная композиция, содержащая:

- a) лектин SEQ ID NO. 1 и
- b) стабилизатор, состоящий в основном из аминокислоты или ее соли, поверхностно-активного вещества, сахара или углевода или их комбинации,

причем композиция, хранящаяся в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу, остается стабильной в течение примерно 1 года при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С, и композиция содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения предложена стабильная фармацевтическая композиция, содержащая:

а) от примерно 0,0001% (м/о) до примерно 10% (м/о) рекомбинантного лектина, полученного из лектина *Sclerotium rolfsii*; и

б) от примерно 0,01% (м/о) до примерно 10% (м/о) одной или нескольких аминокислот или их фармацевтически приемлемых солей;

с) от примерно 0,0001% (м/о) до примерно 1% (м/о) одного или нескольких поверхностно-активных веществ; или

д) от примерно 0,1% (м/о) до примерно 15% (м/о) одного или нескольких углеводов или сахаров.

Используемый здесь процент относится к количеству (массе) компонента в готовой лекарственной форме в объеме, готовом для введения. Процент может быть определен способами, известными из уровня техники.

Согласно девятому аспекту настоящего изобретения предложена стабильная лиофилизированная композиция для парентерального введения, содержащая:

а) от примерно 0,01% м/о до примерно 2% м/о лектина SEQ ID NO. 1,

б) от примерно 0,04% м/о до примерно 0,8% м/о полисорбата 80,

с) от примерно 0,08% м/о до примерно 1,6% м/о L-аргинина хлористоводородной кислоты,

д) от примерно 0,09% м/о до примерно 19,2% м/о сахарозы и

е) от примерно 0,09% м/о до примерно 20% м/о маннита,

причем композиция, хранящаяся в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу, остается стабильной в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °С и относительной влажности примерно 60%, и после хранения в течение этого периода композиция содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

Согласно десятому аспекту настоящего изобретения предложена стабильная лиофилизированная композиция для парентерального введения, содержащая:

- а) от примерно 0,01% м/о до примерно 2% м/о лектина SEQ ID NO. 1,
- б) от примерно 0,04% м/о до примерно 0,8% м/о полисорбата 80,
- с) от примерно 0,08% м/о до примерно 1,6% м/о L-аргинина хлористоводородной кислоты,
- д) от примерно 0,09% м/о до примерно 19,2% м/о сахарозы и
- е) от примерно 0,09% м/о до примерно 20% м/о маннита,

причем композиция, хранящаяся в герметичном контейнере, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу, остается стабильной в течение примерно 1 года при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С, и после хранения в течение этого периода композиция содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

Согласно одиннадцатому аспекту настоящего изобретения предложен герметичный контейнер, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и содержит лектин SEQ ID NO. 1 или его композицию и свободное пространство, причем свободное пространство содержит вакуум или инертную атмосферу.

Согласно двенадцатому аспекту настоящего изобретения предложен способ упаковки лектина SEQ ID NO. 1 или его фармацевтической композиции, причем способ содержит следующие этапы:

- a) помещение лектина SEQ ID NO. 1 или композиции в контейнер, который препятствует проникновению/не пропускает световые волны с длиной волны от 100 до 500 нм, и
- b) герметизация контейнера таким образом, чтобы лектин SEQ ID NO. 1 или композиция оставались в контакте с вакуумом или инертной атмосферой.

Согласно тринадцатому аспекту изобретения предложен способ изготовления стабильной лиофилизированной композиции, содержащей:

- a) лектин SEQ ID NO. 1 и
- b) стабилизатор, состоящий в основном из аминокислоты или ее соли, поверхностно-активного вещества, сахара или углевода или их комбинации,

причем способ содержит этап изготовления лекарственной формы под воздействием света с длиной волны более примерно 500 нм.

Согласно четырнадцатому аспекту изобретения, предложен рекомбинантный лектин SEQ ID NO. 1, по существу не содержащий примесей в виде белка с Формулой I.

Согласно пятнадцатому аспекту изобретения предложена композиция, содержащая рекомбинантный лектин SEQ ID NO. 1, причем композиция практически не содержит примесей в виде белка с Формулой I.

Описание чертежей:

Фигура 1: Результаты количественного определения композиции, хранившейся во флаконах из прозрачного и янтарного стекла при температуре 25 °С и относительной влажности 60%

Фигура 2: Содержание высокомолекулярного белка в композиции, хранившейся во флаконах из прозрачного и янтарного стекла при температуре 25 °С и относительной влажности 60%

Фигура 3: Содержание максимального количества единичной примеси в композиции, хранившейся во флаконах из прозрачного и янтарного стекла при температуре 25 °С и относительной влажности 60%

Фигура 4: Сумма примесей в композиции, хранившейся во флаконах из прозрачного и янтарного стекла при температуре 25 °С и относительной влажности 60%

Фигура 5: Результаты количественного определения композиции, хранившейся во флаконах из прозрачного и янтарного стекла при температуре 2–8 °С

Фигура 6: Содержание высокомолекулярного белка в композиции, хранившейся во флаконах из прозрачного и янтарного стекла при температуре 2–8 °С

Фигура 7: Содержание максимального количества единичной примеси в композиции, хранившейся во флаконах из прозрачного и янтарного стекла при температуре 2–8 °С

Фигура 8: Сумма примесей в композиции, хранившейся во флаконах из прозрачного и янтарного стекла при температуре 2–8 °С.

Определения:

Используемый здесь термин «комнатная температура» относится к температуре в диапазоне от 20 до 30 °С, предпочтительно к температуре в диапазоне от 22 до 27 °С, более предпочтительно к температуре в диапазоне от 23 до 26 °С.

Срок годности — это период времени с даты производства, в течение которого ожидается, что лекарственный препарат будет соответствовать утвержденной спецификации при хранении в рекомендуемых условиях. Срок годности обычно выражается в месяцах, т.е. 24 месяца, 36 месяцев и максимум до 60 месяцев. Для целей настоящего изобретения срок хранения лектина SEQ ID NO. 1 составляет по меньшей мере 1 месяц, по меньшей мере 3 месяца, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев или по меньшей мере 24 месяца.

Используемый здесь термин «лектин» относится к углеводсвязывающему белку, причем используемый здесь термин «белок» относится к полимеру аминокислотных остатков.

Термины «лекарственная форма», «композиция», «фармацевтическая лекарственная форма» и «фармацевтическая композиция» взаимозаменяемы и относятся к препаратам, которые находятся в такой форме, которая обеспечивает эффективность биологической активности действующих веществ и, следовательно, может быть введена субъекту в целях терапевтического применения, причем субъектом предпочтительно является человек. «Действующие вещества» в настоящем документе относятся к рекомбинантному лектину или рекомбинантному белку, обладающему нужной биологической или терапевтической активностью для излечения субъекта от заболевания или избавления от симптомов заболевания или замедления или задержки прогрессирования заболевания. Лекарственную форму согласно настоящему изобретению готовят в виде жидкой или твердой лекарственной формы. Жидкая лекарственная форма представляет собой растворы, эмульсии или суспензии, подходящие для перорального введения или инъекций. Специалисту в данной области техники будет понятно, что жидкая лекарственная форма находится в такой среде, как вода для инъекций (ВДИ), служащей жидким носителем. Твердую лекарственную форму получают либо путем смешивания твердых ингредиентов, либо путем выпаривания среды растворителя. Твердые лекарственные формы также можно получить путем лиофилизации жидкой лекарственной формы, причем в процессе лиофилизации материал, подлежащий сушке, сначала замораживают, а затем лед или замороженный растворитель удаляют посредством сублимации в вакууме или инертной атмосфере. По соображениям стабильности вспомогательные вещества могут быть добавлены в лекарственную форму до ее лиофилизации. В процессе лиофилизации может потребоваться определение и соблюдение соответствующих температур хранения, температур продукта, уровней вакуума, заморозки, параметров первичной сушки и параметров вторичной сушки, что входит в компетенцию специалиста в данной области техники. Твердая лекарственная форма также может быть известна как лиофилированная лекарственная форма.

Термин «лекарственный препарат» относится к готовой лекарственной форме, которая содержит фармацевтическую субстанцию, как правило, но не обязательно, в сочетании с одним или несколькими другими вспомогательными веществами. В контексте настоящего

изобретения композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1 со вспомогательным веществом, представляет собой лекарственный препарат.

Термин «фармацевтическая субстанция» относится к действующему веществу, предназначенному для обеспечения фармакологической активности или другого прямого эффекта при диагностике, излечении, смягчении, лечении или профилактике заболевания или для воздействия на структуру или любую функцию человеческого организма, но не подразумевает промежуточные продукты, используемые при синтезе такого вещества. Для целей настоящего изобретения фармацевтическая субстанция представляет собой лектин SEQ ID NO. 1.

Термин «контейнер» относится к объекту, в котором хранят содержимое лекарственного препарата или композиции. Контейнер, такой как флакон, шприц, картридж или ампула, причем такой контейнер не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны 100–500 нм или является непрозрачным. В контексте настоящего изобретения контейнер представляет собой герметичный контейнер темного цвета, например черного, синего, красного или янтарного, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длинами волн в примерном диапазоне от 100 до 500 нм. Для целей настоящего изобретения контейнер представляет собой светостойкий контейнер янтарного цвета, содержащий лектин SEQ ID NO. 1 или его композиция со стабилизирующими веществами, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн в ультрафиолетовой (УФ) и ближней видимой части спектра с длинами волн в примерном диапазоне от 100 до 500 нм. Предусмотрена возможность изготовления контейнера из стеклянного материала, в частности из стекла типа I, II, III или IV.

Термин «светостойкий» относится к системе контейнера/крышки, которая защищает содержимое от воздействия света благодаря специфическим свойствам материала, из которого она выполнена, включая любое нанесенное на него покрытие. В контексте настоящего изобретения светостойкий контейнер представляет собой флакон янтарного цвета, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн в

ультрафиолетовой (УФ) и ближней видимой части спектра с длинами волн в примерном диапазоне от 100 до 500 нм.

Термин «непрозрачный» относится к способности или свойству материала блокировать прохождение света. Для целей настоящего изобретения термин «непрозрачный» относится к материалу, который является полупрозрачным или частично непрозрачным. Такой материал непроницаем или частично непроницаем для света.

Термин «инертная атмосфера» означает «химически неактивную» атмосферу. Инертная атмосфера может представлять собой вакуум или атмосферу инертного газа, такого как азот, диоксид углерода, аргон, гелий и т.д.; используется для покрытия композиции при хранении, очистки технологических линий и емкостей от химически активных газов и жидкостей, а также покрытия смеси в частично заполненной емкости. В контексте настоящего изобретения в контейнере, содержащем лектин SEQ ID NO. 1 или его композицию, есть свободное пространство, которое содержит вакуум или инертную атмосферу.

Термин «количественное определение» относится к количественной оценке фармацевтической субстанции, присутствующей в лекарственном препарате, с помощью подходящего аналитического способа, известного в данной области техники. В контексте настоящего изобретения «количественное определение» представляет собой анализ для определения количественной оценки лектина SEQ ID NO. 1 в композиции способом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Термин «разбавитель» означает разбавляющее вещество, используемое для разбавления лекарственного средства. Разбавитель может представлять собой жидкость для растворения лекарственных препаратов, предназначенных для инъекционного, перорального или ингаляционного введения. Разбавитель может представлять собой физиологический раствор (ФР), стерильную воду для инъекций (СВДИ), 5% раствор декстрозы в воде (D5W). В контексте настоящего изобретения лиофилизированная лекарственная форма может быть восстановлена соответствующим фармацевтически приемлемым разбавителем или смесью таких разбавителей для получения необходимой

концентрации, как известно специалисту в данной области техники. Стерильная вода для инъекций более предпочтительна в качестве разбавителя.

Термин «стабилизатор» или «стабилизирующие вещества» обозначает вспомогательные вещества в композиции согласно настоящему изобретению. В контексте настоящего изобретения понимаются так, как раскрыто в WO2021/005500.

Подробное раскрытие изобретения

Список последовательностей:

Последовательность с идентификационным номером: 1: представляет собой вариант аминокислотной последовательности лектина *S. rolf sii*

TYKIT VRVYQ TNPDA FFHPV EKT VW KYANG GTWTI TDDQH VLTMG GSGTS GTLRF HADNG ESFTA
TFGVH NYKRW CDIVT NLAAD ETGMV INQQY YSQKN REEAR ERQLS NYQVK NAKGR NFAQV YTEAE
GNDLH ANLII G

Последовательность с идентификационным номером: 2: представляет собой вариант (Met-Lectin) SEQ ID NO. 1 с аминокислотной последовательностью:

MTYKI TVRVY QTNPDA AFFHP VEKTV WKYAN GGTWT ITDDQ HVLTM GSGT SGTLR FHADN GESFT
ATFGV HNYKR WCDIV TNLAA DETGM VINQQ YYSQK NREEA RERQL SNYQV KNAKG RNFQI VYTEA
EGNDL HANLI IG

Согласно одному из аспектов настоящее изобретение позволяет получить стабильный лектин.

Лектин SEQ ID NO. 1 был впервые раскрыт в патентной заявке Индии 350/MUM/2009 как Rec 2, который был получен из лектина *Sclerotium rolf sii* (SRL).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предложен стабильный рекомбинантный лектин SEQ ID NO. 1.

Термин «рекомбинантный» означает, что нуклеиновая кислота или полипептид были искусственно или синтетически (т.е. искусственным путем) изменены посредством вмешательства человека. Изменения могут быть произведены на материале,

находящемся в своей естественной среде или состоянии или удаленном из нее. Например, «рекомбинантная нуклеиновая кислота» представляет собой кислоту, полученную путем рекомбинации нуклеиновых кислот, например, во время клонирования, перестановки ДНК или других хорошо известных молекулярно-биологических способов. «Молекула рекомбинантной ДНК» состоит из сегментов ДНК, соединенных вместе с помощью таких молекулярно-биологических способов. Термин «рекомбинантный белок» или «рекомбинантный полипептид», используемый здесь, относится к молекуле белка, экспрессируемой с использованием рекомбинантной молекулы ДНК. Белок согласно настоящему изобретению может быть экспрессирован в бактериях или дрожжах.

В одном из вариантов осуществления изобретения рекомбинантный лектин, содержащий последовательность с идентификационным номером: 1, предназначен для включения лектинов с более чем 85% гомологией к лектину в последовательность с идентификационным номером: 1. Термин «гомология», используемый в настоящей заявке, относится к лектину, который по меньшей мере на 85% идентичен лектину SEQ ID NO. 1 в данной области или части последовательности. Процент гомологии последовательности с идентификационным номером: 1 и других последовательностей определяется с использованием алгоритма BLASTP с установленными по умолчанию параметрами (Алтшуль и соавт., Обзор нуклеиновых кислот, 1 сентября 1997; 25(17):3389-402). В частности, ознакомиться с алгоритмом BLAST можно по следующему адресу: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. В альтернативном варианте осуществления изобретения для глобального выравнивания последовательностей процент гомологии между двумя последовательностями определяют с помощью алгоритма EMBOSS Needle с параметрами по умолчанию. В частности, ознакомиться с алгоритмом EMBOSS Needle можно по следующему адресу: https://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/.

Если не указано иное, термин «гомология» в настоящем описании используется как синоним термина «идентичность».

В одном из вариантов осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 может содержать его фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, депо-форму или любую другую

фармацевтически приемлемую форму. Фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат, депо-форма или любая другая фармацевтически приемлемая форма SEQ ID NO. 1 относятся к веществам, которые обладают такой же биологической эффективностью, как и вещества SEQ ID NO. 1, и не обладают теми или иными нежелательными свойствами. Соли, сольваты, гидраты и депо-формы можно получать способами, известными в данной области техники.

Последовательность с идентификационным номером: 1 можно получить с помощью процессов, раскрытых в патентных заявках 350/MUM/2009 или WO/2020/074977. Для целей настоящего изобретения лектин был получен и очищен с помощью способа, раскрытого в патентной заявке WO/2020/074977, содержание которой полностью включено в данный документ путем отсылки.

Согласно другому аспекту настоящим изобретением предложена композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения предложена композиция, содержащая рекомбинантный лектин SEQ ID NO. 1.

В одном из вариантов осуществления изобретения предложена композиция, содержащая рекомбинантный лектин SEQ ID NO. 1 и стабилизатор.

Согласно одному из аспектов изобретения стабилизатор может быть выбран из поверхностно-активных веществ, детергентов, аминокислот, фармацевтически приемлемой соли аминокислоты, углеводов или сахарных стабилизаторов, аминов, полиолов или их комбинаций.

Согласно этому варианту осуществления изобретения в качестве примеров поверхностно-активных веществ, не имеющих ограничительного характера, можно привести Твин® 20 (полисорбат 20), Твин® 40 (полисорбат 40), Твин® 60 (полисорбат 60), Твин® 80 (полисорбат 80), сорбитанмоноолеат, сорбитанмонопальмитат, сорбитмоностеарат, сорбитанристеарат, сорбитанмоноолеат, Тритон™ X-100, Пльороник® F-68, Пльороник® F-88, Пльороник® F-127 (полоксамеры), сорбитанмонолаурат, сорбитанмоностерат,

сорбитанристеарат, Полоксамер 188 и Бриж 35 (полиоксиэтиленалкиловый эфир) или комбинации данных веществ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения содержание поверхностно-активного вещества может находиться в диапазоне от 0,001 мг/мл до 10 мг/мл или от 0,0001% (м/о) до 1,0% (м/о).

В некоторых вариантах осуществления изобретения стабильная композиция содержит рекомбинантный лектин, полученный из лектина *Sclerotium rolfsii*, и одно или несколько поверхностно-активных веществ, причем соотношение содержания белка и поверхностно-активного вещества находится в диапазоне от 1:0,0002 до 1:10.

Кроме того, согласно одному из вариантов осуществления изобретения аминокислота может представлять собой глицин, аланин, серин, треонин, цистеин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, пролин, фенилаланин, тирозин, триптофан, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, аспарагин, глутамин, гистидин, лизин, аргинин или их комбинации. Аминокислота может представлять собой L-аминокислоту или D-аминокислоту, L-аминокислота более предпочтительна. Аминокислоту можно использовать как таковую или в виде ее соли. Соль может представлять собой соль щелочного металла или соль щелочноземельного металла, соли аммония, соли органических аминов, такие как соль триэтиламина или соль триэтаноламина, соль аргинина, такую как соли основных аминокислот или соли кислот, например, гидрохлорид, гидробромид, сульфат, нитрат, фосфат, соли минеральной кислоты, соль лимонной кислоты, оксалат, тартрат или любую другую соль аминокислоты, известную специалисту в данной области техники. В одном из вариантов осуществления изобретения аминокислота представляет собой L-гистидин, L-аргинин, глутаминовую кислоту или метионин. В другом варианте осуществления изобретения аминокислота представляет собой гидрохлорид аминокислоты, в частности, L-гистидина, L-аргинина, глутаминовой кислоты или метионина. В предпочтительном варианте осуществления изобретения аминокислота представляет собой гидрохлорид L-гистидина или L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления изобретения концентрация аминокислоты или ее фармацевтически приемлемой соли находится в диапазоне от 0,01% (м/о) до 10% (м/о) или от 0,1 мг/мл до 100 мг/мл.

В другом варианте осуществления изобретения стабильная композиция содержит рекомбинантный лектин, полученный из лектина *Sclerotium rolfsii*, и одну или несколько аминокислот или ее фармацевтически приемлемую соль. Соотношение содержания белка и аминокислоты или ее фармацевтически приемлемой соли находится в диапазоне от 1:0,1 до 1:10.

Согласно другому варианту осуществления изобретения в качестве примеров углеводных или сахарных стабилизаторов, не имеющих ограничительного характера, можно привести сахарозу, трегалозу, сорбит, глицерин, маннит, лактозу, ксилит, арабит, эритрит, лактит, мальтитолу, глюкозу, раффинозу, мальтозу, декстран, инозит или комбинацию данных веществ. В некоторых вариантах осуществления изобретения углевод представляет собой сахарозу или маннит. В другом варианте осуществления изобретения концентрация углеводов находится в диапазоне от 0,1% (м/о) до 15% (м/о) или от 1,0 мг/мл до 150,0 мг/мл.

В следующем варианте осуществления изобретения стабильная композиция содержит рекомбинантный лектин, полученный из лектина *Sclerotium rolfsii*, и один или несколько углеводных или сахарных стабилизаторов, причем соотношение содержания белка и углевода находится в диапазоне от 1:0,1 до 1:150.

Согласно аспекту изобретения стабилизатор может быть дополнительно выбран из аминов, подобных основным белкам, таких как протамин или фармацевтически приемлемая соль протамина, или природных или синтетических полимеров, несущих аминные остатки, таких как полилизин. Например, протамин может быть получен из сырья человеческого происхождения или из рыбного сырья. Стабилизатор также может быть представлен полиолами, такими как ПЭГ 400 – ПЭГ 20000, глицерин или ксилит.

В особенно предпочтительном варианте осуществления изобретения стабилизатор представляет собой комбинацию одного или нескольких из поверхностно-активных

веществ, аминокислот, фармацевтически приемлемых солей аминокислот и/или углеводов. Например, стабилизатор может представлять собой комбинацию поверхностно-активного вещества и аминокислоты или комбинацию аминокислоты или ее соли и углевода.

В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предложена композиция, содержащая:

- a) лектин SEQ ID NO. 1 и
- b) стабилизатор, состоящий по существу из аминокислоты или ее соли, поверхностно-активного вещества, сахара или углевода или данных веществ.

В более конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предложена композиция, содержащая:

- a) от примерно 0,01% м/о до примерно 2% м/о лектина SEQ ID NO. 1,
- b) от примерно 0,04% м/о до примерно 0,8% м/о полисорбата 80,
- c) от примерно 0,08% м/о до примерно 1,6% м/о L-аргинина хлористоводородной кислоты,
- d) от примерно 0,09% м/о до примерно 19,2% м/о сахарозы и
- e) от примерно 0,09% м/о до примерно 20% м/о маннита,

В одном из вариантов осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1, или композицию, содержащую лектин SEQ ID NO. 1 можно хранить в стеклянном контейнере, таком как флакон, шприц, ампула, причем такой контейнер препятствует проникновению световых волн с длиной волны 100–500 нм или является непрозрачным. Хорошо известно, что стеклянные контейнеры классифицируются по типам I, II, III и IV. Контейнеры из стекла типа I содержат 10% оксида бора, 80% кремнезема и небольшие количества оксида алюминия и оксида натрия. Содержащийся в нем оксид бора придает ему высокую гидролитическую устойчивость и химическую инертность. В частности, контейнер из стекла типа I полностью соответствует требованиям к упаковочным материалам для препаратов для парентерального и непарентерального введения. Контейнеры из стекла типа II характеризуются высокой гидролитической устойчивостью. Контейнеры из стекла типа II – это контейнеры из стекла типа III, внутренняя поверхность которых обработана

серой. Такая обработка помогает предотвратить старение стекла. Стекло типа II обычно имеет более низкую температуру плавления по сравнению со стеклом типа I, поэтому его гораздо легче формовать. Контейнеры из стекла типа II подходят для хранения нейтральных водных препаратов и кислых препаратов, как для парентерального, так и непарентерального введения. Контейнеры из стекла типа III состоят из 10% оксида кальция, 15% оксида натрия и 75% диоксида кремния. Они также содержат незначительное количество оксида алюминия, оксида калия и оксида магния. В то время как оксид магния снижает температуру, необходимую для формования стекла, оксид алюминия повышает их химическую устойчивость, контейнеры из стекла такого типа используются для упаковки препаратов для непарентерального введения, а также для упаковки некоторых препаратов для парентерального введения. Контейнеры из стекла типа IV содержат натронную известь общего назначения и отличаются низкой гидролитической устойчивостью. Эта категория стеклянных контейнеров лучше всего подходит для продуктов, предназначенных для автоклавирования, поскольку при этом увеличивается скорость эрозии стеклянного контейнера. Контейнеры из стекла типа IV используются для хранения лекарственных форм для перорального введения и местного применения. В частности, в настоящем изобретении контейнер представляет собой контейнер из стекла типа I.

В одном из вариантов осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1, или композицию, содержащую лектин SEQ ID NO. 1, можно хранить в контейнере, таком как флакон, шприц, картридж или ампула, причем такой контейнер препятствует проникновению световых волн с длиной волны 100–500 нм или является непрозрачным. В частности, контейнер представляет собой контейнер темного цвета, такого как черный, синий, красный или янтарный, который препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм. Свет, проникающий через первичную упаковку, приводит к разрушению многих фармацевтических препаратов. Воздействие света усиливается и становится гораздо более опасным по мере уменьшения длины волны света. Светочувствительные продукты должны быть упакованы в светостойкие флаконы из янтарного стекла и пластиковые флаконы, поскольку они рассчитаны на поглощение света

в УФ-диапазоне для защиты фармацевтических препаратов. Измерение характеристик светопроницаемости стеклянных и пластиковых флаконов является важным фактором оценки способности упаковочного материала к защите фармацевтических препаратов от разрушения. На светопроницаемость может влиять изменение химического состава стеклянного флакона, поэтому не все флаконы янтарного стекла обеспечивают достаточную защиту от ультрафиолетовых лучей. Степень, в которой ультрафиолетовые лучи могут вызвать фотохимическую реакцию, зависит от их проникновения в систему. Энергия излучения искусственных источников, в виде УФ или видимого света, существенно влияет на стабильность светочувствительных препаратов поскольку ускоряет реакции фотохимической деградации, оказывающие разрушающее действие на препарат. Ультрафиолетовые лучи несут больше энергии, чем видимый свет, и вызывают более сильное повреждение. По этой причине органические соединения используются в качестве светостабилизаторов в самых разных пластиковых смолах для предотвращения фотодegradации, вызванной солнечным светом и искусственным ультрафиолетовым излучением. Количество остаточного кислорода в свободном пространстве упаковки достаточно для катализа реакций фотоокисления, влияющих на отдельные компоненты фармацевтических препаратов. В настоящем изобретении свободное пространство флакона содержит инертную атмосферу, причем инертная атмосфера может представлять собой вакуум или инертный газ(ы), такие как аргон, азот и т. д.

В одном из вариантов осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1, или композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, стабильны при хранении в контейнере, который не пропускает/препятствует проникновению света. В частности, лектин SEQ ID NO. 1 стабилен при хранении в контейнере, который не пропускает/препятствует проникновению света ультрафиолетовой (УФ) и ближней видимой части спектра. Согласно более конкретному варианту осуществления изобретения лектин, предложенный настоящим изобретением, стабилен при хранении в контейнере, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм.

В одном из вариантов осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1, или композицию, содержащую лектин SEQ ID NO. 1, можно хранить в светостойком контейнере, таком как

флакон, шприц, картридж или ампула, или в непрозрачном контейнере. В частности, контейнер представляет собой контейнер темного цвета, например черного, синего, красного или янтарного цвета, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм. Контейнер может представлять собой стеклянный контейнер или контейнер, изготовленный из таких материалов, как пластмассы, например, сополимер циклических олефинов (ЦОС) или полимеры циклических олефинов (ЦОП), или многослойные пластиковые контейнеры (полиамид между двумя слоями ЦОП).

Согласно другому варианту осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1, или композицию, содержащую лектин SEQ ID NO. 1, можно хранить в контейнере, таком как флакон, шприц, картридж или ампула, причем такой контейнер не является непрозрачным. Контейнер можно хранить в защищенном от света месте, предпочтительно во вторичной упаковке, изготовленной из бумаги, картона, дерева, пластика или светонепроницаемого/светостойкого стекла. В более предпочтительном варианте вторичная упаковка представляет собой картонную коробку, пластиковую коробку или алюминиевый пакет.

В одном из вариантов осуществления изобретения, контейнер, содержащий лектин SEQ ID NO. 1 или его композицию, представляет собой герметичный контейнер. Герметичный контейнер представляет собой контейнер с герметичным уплотнением, которое не позволяет воздуху или газу попадать внутрь контейнера или выходить из него. Таким уплотнением, например, может быть резиновая пробка. Таким образом, определенные условия сохраняются в контейнере с момента уплотнения на протяжении всего срока хранения, при обращении с ним и до момента открытия для использования. Контейнер перед уплотнением может быть наполнен лектином SEQ ID NO. 1 или его композицией в виде раствора в буферном растворе или в лиофилизированной твердой форме.

В другом варианте осуществления изобретения свободное пространство контейнера содержит вакуум или инертную атмосферу. Свободное пространство представляет собой пространство в контейнере между лектином SEQ ID NO. 1 или композицией, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, и уплотнителем. В контейнере может иметь место вакуум от 0,05

мбар до 0,2 мбар. Лектин SEQ ID NO. 1 или его композиция могут быть расфасованы в контейнер в твердой форме или в форме раствора, растворенного в буферном растворе. В процессе лиофилизации композиция может быть подвергнута воздействию вакуума или инертной атмосферы при соответствующей температуре в течение периода времени, достаточного для заполнения свободного пространства вакуумом или инертной атмосферой. Тем не менее, белок в растворе может быть подвергнут процессу лиофилизации, включающему замораживание, сублимацию и сушку, причем раствор замораживают до температуры ниже $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение примерно 20–40 часов с последующей сублимацией в вакууме при давлении примерно от 0,05 до 0,2 мбар в течение до 60 часов, наконец, сушат при воздействии вакуума от примерно 0,05 до 0,2 мбар в течение до 20 часов.

Согласно варианту осуществления настоящего изобретения герметичный контейнер, содержащий лектин SEQ ID NO. 1, можно поддерживать или хранить при комнатной температуре. В частности, герметичный контейнер поддерживают или хранят при температуре в примерном диапазоне $20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности примерно 60%.

Согласно варианту осуществления изобретения герметичный контейнер, который содержит композицию согласно настоящему изобретению, содержащую лектин SEQ ID NO. 1, можно поддерживать или хранить при комнатной температуре. В частности, герметичный контейнер поддерживают или хранят при температуре в примерном диапазоне $20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности примерно 60%.

Согласно другому варианту осуществления изобретения герметичный контейнер, который содержит лектин SEQ ID NO. 1, можно поддерживать или хранить при температуре ниже комнатной. В определенном варианте осуществления изобретения температура может находиться в примерном диапазоне $0\text{--}15\text{ }^{\circ}\text{C}$. В более конкретном варианте осуществления изобретения герметичный контейнер, содержащий лектин SEQ ID NO. 1, поддерживают или хранят при температуре в примерном диапазоне $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Согласно другому варианту осуществления изобретения герметичный контейнер, содержащий композицию согласно настоящему изобретению, содержащую лектин SEQ ID NO. 1, можно поддерживать или хранить при температуре ниже комнатной. В определенном варианте осуществления изобретения температура может находиться в примерном диапазоне 0–15 °С. В более конкретном варианте осуществления изобретения герметичный контейнер, содержащий указанную композицию, поддерживают или хранят при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С.

В конкретном варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 стабилен при хранении в герметичном контейнере в соответствии с настоящим изобретением, при комнатной температуре или ниже и/или при относительной влажности примерно 60%, причем лектин стабилен в течение по меньшей мере примерно 1 месяца. Лектин в указанных условиях в указанном герметичном контейнере может оставаться стабильным в течение по меньшей мере примерно 3 месяцев, примерно 6 месяцев, примерно 9 месяцев или примерно 12 месяцев. В частности, лектин стабилен в течение по меньшей мере примерно 6 или 12 месяцев.

В более конкретном варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 стабилен при хранении в герметичном контейнере в соответствии с настоящим изобретением при комнатной температуре и/или при относительной влажности примерно 60%, причем лектин стабилен в течение по меньшей мере примерно 6 месяцев.

В конкретном варианте осуществления изобретения композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, стабильна при хранении в герметичном контейнере согласно настоящему изобретению при комнатной или более низкой температуре и/или при относительной влажности примерно 60%, причем композиция стабильна в течение по меньшей мере примерно 1 месяца. Композиция в указанных условиях в указанном герметичном контейнере может оставаться стабильной в течение по меньшей мере примерно 3 месяцев, примерно 6 месяцев, примерно 9 месяцев или примерно 12 месяцев. В частности, композиция стабильна в течение по меньшей мере примерно 6 или 12 месяцев.

В более конкретном варианте осуществления изобретения композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, стабильна при хранении в герметичном контейнере в соответствии с раскрытием настоящего изобретения при комнатной температуре и/или при относительной влажности примерно 60%, причем лектин стабилен в течение по меньшей мере примерно 6 месяцев.

В другом более конкретном варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 стабилен при хранении в герметичном контейнере в соответствии с настоящим изобретением при температуре от 2 до 8 °С, причем лектин стабилен в течение по меньшей мере примерно 12 месяцев.

В другом более конкретном варианте осуществления изобретения композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, стабильна при хранении в герметичном контейнере в соответствии с настоящим изобретением, при температуре от 2 до 8 °С, причем указанная композиция стабильна в течение по меньшей мере примерно 12 месяцев.

В одном из аспектов лектин SEQ ID NO. 1, или композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, считаются стабильными при хранении в герметичном контейнере согласно настоящему изобретению при комнатной или более низкой температуре и/или при относительной влажности примерно 60% в течение по меньшей мере 1 месяца, если они содержат менее 10%, менее 7% или менее 5% высокомолекулярных белковых примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации после такого периода хранения.

В одном из вариантов осуществления изобретения нежелательные формы последовательности с идентификационным номером: 1 могут быть результатом самоассоциации, неупорядоченной формы белков, при которой белок ассоциируется сам с собой, образуя димеры или олигомеры или агрегаты более высокого порядка. Они известны как высокомолекулярные белки. Такие примеси можно обнаружить такими способами, как жидкостная хроматография/масс-спектрометрия (ЖХ/МС), эксклюзионная хроматография с УФ-детектированием или детектором многоугольного лазерного светорассеяния (Э-УФ/МРЛС), статическое многоугольное рассеяние света с градиентом состава (ГС-МРЛС или ГС-СРС), динамическое светорассеяние (ДСР), аналитическое

ультрацентрифугирование, эквивалентное осаждению (ЭС-АУЦ), аналитическое ультрацентрифугирование по скорости осаждения (СО-АУЦ), гель-электрофорез, фракционирование в асимметричном потоке в поле-потоке (АП4), микропоточная визуализация или другой подобный способ, известный специалисту.

В одном из вариантов осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 или композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, считаются стабильными при хранении в герметичном контейнере согласно настоящему изобретению при комнатной или более низкой температуре и/или при относительной влажности примерно 60%, по меньшей мере, в течение по меньшей мере 1 месяца, если они содержат менее 10%, менее 7%, менее 5% или менее 3% высокомолекулярных белковых примесей после такого периода хранения. В частности, содержание высокомолекулярных белковых примесей составляет менее 3%.

Другие нежелательные формы последовательности с идентификационным номером: 1 образуются путем агрегации, денатурации, деградации или коагуляции белка. Большинство этих явлений возникают из-за неправильного свертывания белка, что также нежелательно. Такие формы белка известны как родственные примеси. Такие примеси могут отличаться каждый раз при производстве, обработке или хранении в неблагоприятных условиях новой серии белка.

Лектин SEQ ID NO. 1 получали и очищали способом, раскрытым в патентной заявке WO/2020/074977, в частности, с использованием условий серии 5, как указано в таблице 1 на странице 34 патентной заявки WO/2020/074977. Мет-лектин, вариант SEQ ID NO. 1, раскрытый в WO/2020/074977, присутствует в лектине SEQ ID NO. 1 в количестве примерно 2–20%. Аминокислотная последовательность мет-лектина представлена в последовательности с идентификационным номером: 2. Присутствие мет-лектина SEQ ID NO. 2 в последовательности с идентификационным номером: 1 особенно неблагоприятно, поскольку инициатор метионин очень склонен к окислению. Сера, присутствующая в метионине, окисляется с образованием родственных примесей, таких как примесные белки с формулой Ia-Ie (последовательности с идентификационным номером: 3–7).

Специалист в данной области техники понимает, что согласно руководству ICHQ6B, структурная неоднородность, присущая белкам, обусловлена процессами биосинтеза, используемыми живыми организмами для их производства; следовательно, нужный продукт может представлять собой смесь ожидаемых посттрансляционно модифицированных форм (например, гликоформ). Эти формы могут быть активными, и их присутствие может не оказывать негативного влияния на безопасность и эффективность продукта. Неоднородность может также возникнуть в процессе производства и/или хранения фармацевтической субстанции или лекарственного препарата. Поскольку неоднородность этих продуктов определяет их качество, необходимо охарактеризовать степень и профиль этой неоднородности, чтобы гарантировать единообразие от партии к партии. Если эти варианты нужного продукта обладают свойствами, сравнимыми со свойствами нужного продукта в отношении активности, эффективности и безопасности, они считаются веществами, родственными продукту. Благодаря уникальному процессу биосинтеза и молекулярным характеристикам биотехнологических и биологических продуктов, фармацевтическая субстанция может содержать несколько молекулярных образований или вариантов. Когда эти молекулярные образования возникают в результате ожидаемой посттрансляционной модификации, и они считаются частью нужного продукта. Когда варианты нужного продукта образуются в процессе производства и/или хранения и имеют свойства, сравнимые с нужным продуктом, они считаются родственными продукту веществами, а не примесями. Присутствие варианта Мет-лектина с аминокислотной последовательностью, указанной в SEQ ID NO. 2, было обнаружено в лектине SEQ ID NO. 1 в количестве примерно 2–20% по массе от лектина SEQ ID NO. 1. Соответственно, ссылка в настоящем описании на лектин SEQ ID NO. 1, композицию, содержащую лектин SEQ ID NO. 1, и готовые продукты/упаковки, содержащие лектин SEQ ID NO. 1, следует понимать как вариант, содержащий мет-лектин, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в последовательности с идентификационным номером: 2, в количестве примерно 2–20% по массе от лектина SEQ ID NO. 1.

После того, как лектин SEQ ID NO. 1 был окислен с использованием 3% перекиси водорода при комнатной температуре в течение примерно 10 мин, деградация белка превысила 14% по сравнению с контрольным образцом, что указывает на частичное окисление метионина в положениях 44 и 89 в последовательности с идентификационным номером: 1. Аналогичным образом, когда лектин SEQ ID NO. 1, содержащий примерно 12% варианта мет-лектина, подвергался воздействию света в белой части спектра с интенсивностью 1,2 миллиона люкс-часов и света в ближней ультрафиолетовой части спектра с энергией 200 ватт-часов/м² в течение 120 часов, деградация белка составила 11,74%. С другой стороны, было обнаружено, что в композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, при воздействии света, обеспечивающей общую освещенность по меньшей мере 1,2 миллиона люкс-часов и суммарную энергию в ближней ультрафиолетовой части спектра по меньшей мере 200 ватт-часов/м² в течение 120 часов, наблюдалось образование примерно 7–8% родственных примесей.

В варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 в нерегулируемых условиях может подвергаться окислению с образованием примесных белков с формулой I, где примесные белки с формулой I представляют собой комбинацию одного или нескольких белков с формулой Ia, формулой Ib, формулой Ic, формулой Id и/или формулой Ie. Образование таких примесей обусловлено присутствием варианта мет-лектина SEQ ID NO. 2.

Формула Ia:

(O)MTYKI TVRVY QTNPD AFFHP VEKTV WKYAN GGTWT ITDDQ HVLTM GGSGT SGTLR FHADN
GESFT ATFGV HNYKR WCDIV TNLAA DETGM VINQQ YYSQK NREEA RERQL SNYQV KNAKG RNFQI
VYTEA EGNDL HANLI IG

Формула Ib

(O)(O)MTYKI TVRVY QTNPD AFFHP VEKTV WKYAN GGTWT ITDDQ HVLTM GGSGT SGTLR FHADN
GESFT ATFGV HNYKR WCDIV TNLAA DETGM VINQQ YYSQK NREEA RERQL SNYQV KNAKG RNFQI
VYTEA EGNDL HANLI IG

Формула Ic

(O)MTYKI TVRVY QTNPД AFFHP VEKTV WKYAN GGTWT ITDDQ HVLTM(O) GGSGT SGTLR FHADN
GESFT ATFGV HNYKR WCDIV TNLAA DETGM VINQQ YYSQK NREEA RERQL SNYQV KNAKG RNFQI
VYTEA EGNDL HANLI IG

Формула Id

(O)(O)MTYKI TVRVY QTNPД AFFHP VEKTV WKYAN GGTWT ITDDQ HVLTM(O) GGSGT SGTLR
FHADN GESFT ATFGV HNYKR WCDIV TNLAA DETGM VINQQ YYSQK NREEA RERQL SNYQV KNAKG
RNFQI VYTEA EGNDL HANLI IG

Формула Ie

(O)(O)MTYKI TVRVY QTNPД AFFHP VEKTV WKYAN GGTWT ITDDQ HVLTM(O) GGSGT SGTLR
FHADN GESFT ATFGV HNYKR WCDIV TNLAA DETGM(O) VINQQ YYSQK NREEA RERQL SNYQV
KNAKG RNFQI VYTEA EGNDL HANLI IG

Также наблюдается значительное влияние сильнокислого или щелочного уровня pH на лектин SEQ ID NO. 1. Такая неблагоприятная среда может разрушить солевые мостики и водородные связи, образующиеся между боковыми цепями, что приведет к денатурации. Высокощелочной pH может преобразовать протонированный ион $-NH_3^+$ в нейтральную группу $-NH_2$ и немедленно инициировать гидролиз и деградацию путем расщепления аминокислот, а также боковых цепей молекул. Такие формы даже в концентрации менее 10% влияют на свойства и эффективность продукта, делая его нежелательным с фармацевтической точки зрения. Некоторые из таких форм могут оказывать негативное воздействие на субъекта, причиняя вред и долгосрочный необратимый ущерб. Поэтому желательно, чтобы лектин фармакопейного качества SEQ ID NO. 1 не содержал никаких нежелательных форм.

В варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 или композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, считаются стабильными при хранении в герметичном контейнере согласно настоящему изобретению, при комнатной или более низкой температуре и/или при относительной влажности примерно 60%, по меньшей мере, в течение по меньшей мере 1 месяца, если они содержат менее 10%, менее 7%, менее 5%, менее 3% или менее

2% родственных примесей после такого срока хранения. В частности, содержание родственных примесей составляет менее 2%.

В варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 или композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, практически не содержит примесных белков с формулой I в течение срока годности. В конкретном варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 или композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1 содержит менее 10%, менее 7%, менее 5%, менее 3% или менее 2% примесных белков с формулой I в течение срока годности. В конкретном варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 или композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1 содержит менее 2% примесных белков с формулой I в течение срока годности, причем формула I содержит белок с формулой Ia, с формулой Ib, с формулой Ic, с формулой Id или с формулой Ie по отдельности или в комбинации.

Поэтому важно защищать лектин SEQ ID NO. 1 или композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1, от окислителей, таких как воздух, окисляющие химикаты или свет. Также необходимо защищать белок и его композицию от повышенных температур, влаги и/или экстремальных кислых или щелочных условий. Чтобы продлить период сохранения стабильности и увеличить срок хранения лектина SEQ ID NO. 1 или композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, важно поддерживать температуру, влажность, pH и/или ограничивать воздействие световых волн во время подготовки, хранения и обработки, чтобы чистота продукта оставалась постоянной и фармацевтически приемлемой на протяжении всего срока годности. Критические свойства, такие как количественное определение, содержание родственных примесей и высокомолекулярных белков, важны с точки зрения безопасности и эффективности композиции и должны поддерживаться на протяжении всего срока годности композиции.

В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предложен стабильный лектин SEQ ID NO. 1, содержащий менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении по меньшей мере в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °C и относительной влажности примерно 60%; причем лектин хранят в герметичном контейнере, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной

волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу.

В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предложена композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1 и стабилизатор, причем композиция содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении по меньшей мере в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °С и относительной влажности примерно 60%; причем композицию хранят в герметичном контейнере, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу.

В другом конкретном варианте осуществления настоящего изобретение позволяет получить лектин SEQ ID NO. 1, содержащий менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении по меньшей мере в течение примерно 1 года при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С; причем лектин хранят в герметичном контейнере, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит по меньшей мере 90% о/о инертного газа или вакуума. В качестве инертного газа можно использовать гелий, азот, аргон или любой другой соответствующий газ, известный в данной области техники.

В другом конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предложена композиция, содержащая рекомбинантный лектин SEQ ID NO. 1 и стабилизатор, причем композиция содержит менее 5% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации при хранении по меньшей мере в течение примерно 1 года при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С, причем лектин хранят в герметичном контейнере, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу.

В более конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предложена лиофилизированная композиция, содержащая:

а) лектин SEQ ID NO. 1 и

б) стабилизатор, состоящий в основном из аминокислоты или ее соли, поверхностно-активного вещества, сахара или углевода или их комбинации,

причем композиция, помещенная в герметичный контейнер, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 250 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит по меньшей мере 90% о/о инертного газа или вакуума, остается стабильной по меньшей мере в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °С и относительной влажности примерно 60%,

и причем по истечении этого периода композиция содержит менее 3% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

В другом более конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предложена лиофилизированная композиция, содержащая:

а) лектин SEQ ID NO. 1 и

б) стабилизатор, состоящий в основном из аминокислоты или ее соли, поверхностно-активного вещества, сахара или углевода или их комбинации,

причем композиция, помещенная в герметичный контейнер, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 250 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит по меньшей мере 90% о/о инертного газа или вакуума, остается стабильной, по меньшей мере, в течение примерно 1 года при температуре примерно 2–8 °С,

и причем по истечении этого периода композиция содержит менее 3% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения предложена стабильная лиофилизированная композиция для парентерального введения, содержащая:

- a) от примерно 0,01% м/о до примерно 2% м/о лектина SEQ ID NO. 1,
- b) от примерно 0,04% м/о до примерно 0,8% м/о полисорбата 80,
- c) от примерно 0,08% м/о до примерно 1,6% м/о L-аргинина хлористоводородной кислоты,
- d) от примерно 0,09% м/о до примерно 19,2% м/о сахарозы и
- e) от примерно 0,09% м/о до примерно 20% м/о маннита,

причем композиция, помещенная в герметичный контейнер, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 250 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит по меньшей мере 90% о/о инертного газа или вакуума, остается стабильной по меньшей мере в течение примерно 6 месяцев при температуре в примерном диапазоне 20–25 °С и относительной влажности примерно 60%,

и причем по истечении этого периода композиция содержит менее 3% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

В другом наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретения предложена стабильная лиофилизированная композиция для парентерального введения, содержащая:

- a) от примерно 0,01% м/о до примерно 2% м/о лектина SEQ ID NO. 1,
- b) от примерно 0,04% м/о до примерно 0,8% м/о полисорбата 80,
- c) от примерно 0,08% м/о до примерно 1,6% м/о L-аргинина хлористоводородной кислоты,
- d) от примерно 0,09% м/о до примерно 19,2% м/о сахарозы и
- e) от примерно 0,09% м/о до примерно 20% м/о маннита

причем композиция, помещенная в герметичный контейнер, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном

диапазоне от 250 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит по меньшей мере 90% о/о инертного газа или вакуума, остается стабильной по меньшей мере в течение периода примерно 1 года при температуре примерно 2–8 °С, и причем по истечении этого периода композиция содержит менее 3% высокомолекулярных примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

Композиция, предложенная настоящим изобретением, может дополнительно содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества. Такие вспомогательные вещества могут представлять собой полимеры, такие как полиэтиленгликоли (ПЭГ), декстран, гидрокسيэтилкрахмал (ГЭТА) или ПЭГ-4000 или их комбинацию; и белок, такой как человеческий сывороточный альбумин или желатин или их комбинацию.

Композиции, предложенные настоящим изобретением, могут дополнительно содержать консерванты, такие как бензиловый спирт, м-крезол, метилпарабен, фенол или их комбинацию; модификатор тоничности, такой как натрия хлорид, декстроза, калия хлорид, кальция хлорид, сахароза, маннит или их комбинация; хелатирующий агент, такой как этилендиаминтетрауксусная кислота; антиоксидант, такой как аскорбиновая кислота, и/или криопротектор, такой как маннит, этиленгликоль, глицерин, сахароза, трегалоза и/или декстроза.

Следует понимать, что примеры вспомогательных веществ, упомянутых здесь, предназначены для иллюстрации и понимания изобретения и никоим образом не ограничивают изобретение.

Композиция согласно настоящему изобретению может представлять собой жидкое вещество на водной основе или твердое вещество. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция может представлять собой жидкость, суспензию, порошок, стерильный порошок или лиофилизированную лекарственную форму. Лиофилизированная лекарственная форма может быть восстановлена стерильной водой для инъекций (ВДИ) и/или любым соответствующим фармацевтически приемлемым разбавителем или смесью таких разбавителей для получения необходимой

концентрации, как известно специалисту в данной области техники. Композиция пригодна для однократного или многократного приема. Специалисту в данной области техники известно, что тип дозирования зависит от различных факторов, таких как рост и масса тела, площадь поверхности тела, возраст, пол или общее состояние здоровья пациента, а также от вводимого препарата, в частности, от продолжительности и типа введения, а также от приема других лекарственных средств, которые можно назначать одновременно с приемом этого препарата.

Композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены человеку в соответствующей дозировке. Введение может быть осуществлено местно, энтерально или парентерально, например, внутривенно, внутривнутрибрюшинно, подкожно, внутримышечно, локально, интраназально, внутрибронхиально или внутрикожно, или через катетер в определенной точке артерии. В конкретном варианте осуществления изобретения композиции, предложенные настоящим изобретением, можно вводить парентерально.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения предложен способ повышения стабильности лектина SEQ ID NO. 1 или композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, причем способ содержит следующие этапы: хранение лектина SEQ ID NO. 1 или композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, в герметичном контейнере, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и свободное пространство в котором содержит вакуум или инертную атмосферу.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения стабильность лектина SEQ ID NO. 1 улучшена на срок по меньшей мере 1 месяца, по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев. Повышение стабильности лектина означает, что белок сохраняет фармацевтически приемлемое качество в течение более длительного периода, его срок годности значительно увеличивается, и в течение таких более длительных периодов стабильности образование примесей находится ниже допустимых пределов.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения стабильность композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1 улучшена на срок по меньшей мере 1 месяца, по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев. Повышение стабильности композиции означает, что композиция сохраняет фармацевтически приемлемое качество в течение более длительного периода, его срок годности значительно увеличивается, и в течение таких более длительных периодов стабильности образование примесей находится ниже допустимых пределов.

Примеси, образующиеся в лектине SEQ ID NO. 1, предпочтительно представляют собой высокомолекулярные белки или родственные примеси. В варианте осуществления изобретения лектин SEQ ID NO. 1 считается стабильным в течение определенного периода, если в конце этого периода он содержит не более 5% высокомолекулярных белковых примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

Примеси, образующиеся в указанной композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, предпочтительно представляют собой высокомолекулярные белки или родственные примеси. В одном из вариантов осуществления изобретения композиция, содержащая лектин SEQ ID NO. 1 считается стабильным в течение определенного периода, если в конце этого периода он содержит не более 5% высокомолекулярных белковых примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

В конкретном варианте осуществления изобретения стабильность лектина SEQ ID NO. 1 или его композиции можно улучшить на срок по меньшей мере примерно 6 месяцев путем хранения герметичного контейнера, содержащего последовательность с идентификационным номером: 1 или ее композицию, при комнатной температуре и относительной влажности примерно 60%. В более конкретном варианте осуществления изобретения стабильность лектина или его композиции можно улучшить на срок примерно 6 месяцев при хранении такого герметичного контейнера при температуре в примерном диапазоне 20–25 °C и относительной влажности примерно 60%.

В другом конкретном варианте осуществления изобретения стабильность лектина SEQ ID NO. 1, или его композиции можно улучшить на срок примерно 12 месяцев путем хранения герметичного контейнера, содержащего последовательность с идентификационным номером: 1, или ее композиции при температуре ниже комнатной. В более конкретном варианте осуществления изобретения стабильность лектина или его композиции можно улучшить на срок примерно 12 месяцев при хранении такого герметичного контейнера при температуре в примерном диапазоне 2–8 °С.

Авторы настоящего изобретения смогли значительно улучшить стабильность лектина SEQ ID NO. 1 при хранении его в вакууме или в инертной атмосфере в герметичном непрозрачном контейнере. Воздействие на последовательность с идентификационным номером: 1 света в ультрафиолетовой части спектра приводило к образованию примесей до уровня 11,74% и снижению значения количественного определения с 98,61% до 86,87%. Тогда как воздействие ультрафиолетового света на последовательность с идентификационным номером: 1 при хранении в непрозрачном контейнере, обернутом алюминиевой фольгой, приводило к образованию примесей до уровня 1,55% и снижению значения количественного определения всего лишь с 98,61% до 97,06%. Аналогичным образом, авторы настоящего изобретения смогли значительно улучшить стабильность композиции, содержащего лектин SEQ ID NO. 1, храня его в вакууме или в инертной атмосфере в герметичном непрозрачном контейнере янтарного цвета. Прямое воздействие света в ультрафиолетовой части спектра на указанную композицию приводило к образованию примесей до уровня 7,56%, тогда как не прямое воздействие во флаконе с этикеткой приводило к образованию примесей до уровня 5%. В композиции, подвергшейся прямому и косвенному воздействию, так же снизилось значение количественного определения композиции с 99% до 89,9% и 93,4% соответственно. Воздействие света в ультрафиолетовой части спектра на композицию, содержащую последовательность с идентификационным номером: 1, при хранении в контейнере янтарного цвета не приводило к образованию примесей или снижению значения количественного определения.

Долгосрочная стабильность композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, в соответствии с настоящим изобретением была значительно улучшена путем хранения его в вакууме или инертной атмосфере в герметичном непрозрачном контейнере янтарного цвета. В композиции, содержащий лектин SEQ ID NO. 1, при хранении в течение 6 месяцев при 25 °C/60% относительной влажности в прозрачном флаконе, образование примесей составило до 3,60% для суммы примесей по сравнению с композицией, хранившейся во флаконе янтарного цвета, в котором образование примесей составило до 1,48% для суммы примесей. (на 2,12% меньше по сравнению с прозрачным флаконом).

Значения количественного определения композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, при хранении в прозрачном флаконе снижаются со 100,2% до 96,7% через шесть месяцев. Тем не менее, в композиции, хранившейся во флаконе янтарного цвета, препятствующем проникновению света с длиной волны от 100 до 500 нм, было обнаружено минимальное изменение значения количественного определения от 101,1% (исходное) до 98,6% (через шесть месяцев) в течение 6 месяцев.

Аналогичным образом, авторы настоящего изобретения смогли значительно улучшить стабильность композиции, содержащего лектин SEQ ID NO. 1, храня его в вакууме или инертной атмосфере в герметичном непрозрачном контейнере янтарного цвета. Исследования фотостабильности указанной композиции в прозрачном флаконе без этикетки показали образование примесей до уровня 1,69%, а с этикеткой - до уровня 1,09%. Исследования фотостабильности указанной композиции во флаконе янтарного цвета без этикетки показали образование примесей до уровня 0,20%, а с этикеткой - до уровня 0,20%.

В одном из вариантов осуществления изобретения исследования фотостабильности лектина SEQ ID NO. 1 в прозрачном флаконе без этикетки показали образование примесей до уровня 10,21%, с этикеткой – до уровня 10,91%. Результаты указанного исследования, проведенного на лектине SEQ ID NO. 1, хранившемся во флаконе янтарного цвета, показали нулевое содержание примесей, что свидетельствует о том, что лектин SEQ ID NO. 1 и его композиция чувствительны к свету, и упаковка продукта во флакон янтарного цвета помогает контролировать критические характеристики, такие как количественное

определение, содержание родственных примесей и высокомолекулярных белков, которые важны с точки зрения безопасности и эффективности композиции.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения предложен герметичный контейнер, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, содержит лектин SEQ ID NO. 1 и свободное пространство, причем свободное пространство содержит вакуум или инертную атмосферу.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения предложен герметичный контейнер, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, причем контейнер содержит композицию, содержащую лектин SEQ ID NO. 1 и свободное пространство, причем свободное пространство содержит вакуум или инертную атмосферу.

В другом варианте осуществления изобретения предложен способ упаковки лектина SEQ ID NO. 1 или фармацевтической композиции, содержащей лектин SEQ ID NO. 1, причем способ содержит следующие этапы:

- a) помещение лектина или его композиции в контейнер, который не пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм, и
- b) герметизация контейнера таким образом, чтобы лектин SEQ ID NO. 1 или его композиция оставались в контакте с вакуумом или инертной атмосферой.

В одном из вариантов осуществления изобретения контейнер, содержащий лектин или его композицию, представляет собой герметичный контейнер. Герметичный контейнер представляет собой контейнер с герметичным уплотнением, которое не позволяет воздуху или газу проходить внутрь и выходить из контейнера. Таким образом, определенные условия сохраняются в контейнере с момента уплотнения на протяжении всего срока хранения, при обращении с ним и до момента открытия для использования. В конкретном варианте осуществления изобретения способ упаковки предусматривает помещение лектина или его композиции в герметичный контейнер, который не

пропускает/препятствует проникновению световых волн с длиной волны в примерном диапазоне от 100 до 500 нм.

В другом варианте осуществления изобретения лектин или его композиция в герметичном контейнере находятся в контакте с вакуумом. В таком контейнере вакуум образуют способом, известным специалисту в данной области техники; или белок или его композицию в контейнере лиофилизируют и удаляют влагу в вакууме или инертной атмосфере, причем лектин или его композицию в виде раствора замораживают до температуры ниже $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение примерно 20–40 часов с последующей сублимацией в вакууме от примерно 0,05–0,2 мбар в течение до 60 часов, после чего сушат в вакууме примерно 0,05–0,2 мбар в течение до 20 часов.

В одном из вариантов осуществления изобретения способ упаковки может дополнительно предусматривать вторичную упаковку, причем герметичный контейнер, который содержит последовательность с идентификационным номером: 1, помещают во вторичную упаковку. Вторичная упаковка может быть изготовлена из бумаги, картона, дерева, пластика или стекла, не пропускающего/препятствующего проникновению света. В более предпочтительном варианте вторичная упаковка представляет собой картонную коробку, пластиковую коробку или алюминиевый пакет.

Согласно аспекту предложен способ изготовления стабильной лиофилизированной композиции, содержащей

- a) лектин SEQ ID NO. 1 и
- b) стабилизатор, состоящий в основном из аминокислоты или ее соли, поверхностно-активного вещества, сахара или углевода или их комбинации,

причем способ содержит этап изготовления лекарственной формы под воздействием света с длиной волны более примерно 500 нм.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предложен способ получения стабильной лиофилизированной композиции, содержащей смесь буферного раствора лектина SEQ ID NO. 1 с буферным раствором одного или нескольких стабилизаторов под воздействием света с длиной волны с примерным диапазоном от 500 нм до 589 нм или, в частности, под воздействием натриевой лампы. Процесс проводят при комнатной температуре. Композиция в виде раствора может быть лиофилирована. Лيوфилизацию можно проводить либо в лотке, либо в герметичном контейнере в соответствии с настоящим изобретением.

Примеры:

Примеры предназначены только для демонстрации и иллюстрации сущности изобретения. Они никоим образом не ограничивают объем изобретения.

Анализ образцов проводился способом ВЭЖХ. Использовали систему ВЭЖХ с УФ-детектированием с колонкой C4, 3,5 мкм, 150 x 4,6 мм (Производитель: Kromasil или эквивалентную). В качестве подвижных фаз использовали смесь 1 мл трифторуксусной кислоты и 1000 мл воды очищенной или 1 мл трифторуксусной кислоты и 1000 мл ацетонитрила. Специалист в данной области техники хорошо осведомлен о других способах, инструментах и методиках анализа образцов белка. Способ ВЭЖХ можно варьировать в зависимости от потребностей эксперимента и мнения специалиста. Использование механизмов, оборудования, приборов и способов анализа, описанных в данном документе, никоим образом не ограничивают объем изобретения.

Лектин SEQ ID NO. 1 был получен способом, раскрытым в патентной заявке WO/2020/074977.

Пример 1: Лекарственная форма рекомбинантного белка

Ингредиенты	Композиция в мг/мл [после растворения лиофилизированной композиции в 1 мл стерильной воды для инъекций]
Последовательность с идентификационным номером. 1	2,50
Трис	1,31
NaCl	1,90
Полисорбат 80	1
L-аргинина гидрохлорид	2
Сахароза	24
Маннит	72
Хлористоводородная кислота	необходимое количество для получения требуемого уровня pH

Вышеупомянутая лекарственная форма изготовлена с помощью следующего процесса, причем на каждом этапе осуществлялось воздействие натриевой лампой:

- a) Исходный раствор полисорбата 80 (10% м/о) изготовили в воде для инъекций. Требуемое количество полисорбата 80 перенесли из этого исходного раствора и добавили к ВДИ.
- b) Исходный раствор белка SEQ ID NO. 1 изготовили в TBS (трис-буферный физиологический раствор) и поместили в стеклянный стакан;

- c) необходимое количество раствора белка SEQ ID NO. 1 с этапа b) добавили к необходимому количеству раствора этапа a) при температуре 22–25 °С и тщательно перемешали до получения прозрачного бесцветного раствора;
- d) необходимое количество L-аргинина гидрохлорид добавили к раствору этапа c) и тщательно перемешали до гомогенного растворения;
- e) необходимое количество сахарозы добавили к раствору этапа d) и тщательно перемешали до гомогенного растворения;
- f) к раствору этапа e) добавили необходимое количество маннита и перемешали до получения прозрачного бесцветного раствора;
- g) объем серии довели до 80% от размера серии с использованием воды для инъекций (ВДИ);
- h) pH раствора на этапе g) довели до 7,4–8,5 с использованием 0,05N HCl (pH доводят до значения от 7,4 до 8,5 с помощью 0,05N NaOH, если раствор на этапе g) является кислым);
- i) ВДИ добавили к раствору на этапе h) для доведения размера серии и отфильтровали через фильтр из полиэфирсульфона (ПЭС) с размером пор 0,2 микрона;
- j) серию расфасовали во флаконы (герметичный контейнер) и подвергли лиофилизации. Лиофилизация по своей сути предполагает применение вакуума на этапах первичной и вторичной сушки. После завершения вторичной сушки флаконы герметично закрыли при воздействии вакуума, следовательно, свободное пространство во флаконах представляет собой вакуум.
- k) Флаконы с лиофилизированным продуктом хранили при комнатной температуре или температуре 2–8 °С.

Пример 2: Исследование фотостабильности лекарственной формы примера 1

Исследование фотостабильности проводилось в соответствии с рекомендациями ICH Q1B, причем продукт был упакован в два типа контейнеров (флаконы из прозрачного и янтарного стекла) согласно четырем различным спецификациям, как показано ниже:

1. Флакон, завернутый в алюминиевую фольгу, в качестве контрольного образца
2. Флакон без этикетки

3. Флакон с этикеткой

4. Флакон с этикеткой во вторичной упаковке из картона.

Все вышеуказанные упаковки подвергались воздействию света, обеспечивающего общую освещенность по меньшей мере 1,2 миллиона люкс-часов и суммарную энергию в ближней ультрафиолетовой части спектра по меньшей мере 200 ватт-часов/м² в течение 120 часов. Через 120 часов образцы анализировали способом ВЭЖХ. Полученные результаты представлены в таблицах 1–2.

Таблица 1. Данные о фотостабильности лиофилизированной композиции (лекарственного препарата) в прозрачном флаконе					
Подробная информация		Флакон, завернутый в алюминиевую фольгу	Флакон без этикетки	Флакон с этикеткой	Флакон с этикеткой во вторичной упаковке из картона
pH		7,693	7,688	7,692	7,701
Количественное определение (90–110%)		99,0	89,9	93,4	98,2
Примеси в виде высокомолекулярных белков (не более 2%)		0,38	0,18	0,05	0,27
RS	% макс. содержания единичной неизвестной примеси (не более 2%)	0,05	7,56	4,96	0,05
	% содержания суммы примесей (не более 5%)	0,05	7,56	5,01	0,05

Таблица 2. Данные о фотостабильности лиофилизированной композиции (лекарственного препарата) во флаконе из янтарного стекла					
Подробная информация		Флакон, завернутый в алюминиевую фольгу	Флакон без этикетки	Флакон с этикеткой	Флакон с этикеткой во вторичной упаковке из картона
pH		7,787	7,674	7,560	7,727
Количественное определение (90–110%)		98,8	98,5	95,8	97,8
Примеси в виде высокомолекулярных белков (не более 2%)		0,37	0,37	0,41	0,44
RS	% макс. содержания единичной неизвестной примеси (не более 2%)	0,11	0,10	0,09	0,10
	% содержания суммы примесей (не более 5%)	0,19	0,17	0,17	0,18

Заключение: Прямое воздействие ультрафиолетового света на композицию привело к образованию примесей до уровня 7,56%, тогда как не прямое воздействие во флаконе с этикеткой приводило к образованию примесей до уровня 5%. В композиции, подвергшейся прямому и не прямому воздействию, также было обнаружено снижение значения количественного определения композиции с 99% до 89,9% и до 93,4% соответственно. Воздействие ультрафиолетового света на композицию, содержащую последовательность с идентификационным номером: 1, при хранении в контейнере янтарного цвета (который не пропускает свет с длиной волны от 100 до 500 нм) не приводило к образованию примесей или не приводило к снижению результатов количественного определения.

Пример 3: Исследования стабильности лекарственной формы примера 1

Лиофилизированную лекарственную форму примера 1 хранили в прозрачном флаконе (прозрачный лиофилизированный флакон 5 мл размером 20 мм, тип I, производства Шотт согласно требованиям Фарм. США) и во флаконе янтарного цвета (лиофилизированный флакон 5 мл янтарного цвета размером 20 мм, тип I, производства Шотт согласно требованиям Фарм. США) при температуре 25 ± 2 °С и относительной влажности $60 \pm 5\%$ и при температуре 2–8 °С. Образцы, отобранные из обоих флаконов, анализировали способом ВЭЖХ через 6 месяцев для оценки их стабильности.

Таблица 3. Данные долгосрочного и ускоренного исследования стабильности при 25 °С и относительной влажности 60%									
		Лекарственный препарат в прозрачном флаконе				Лекарственный препарат во флаконе янтарного цвета			
Показатель	Начальное состояние	25 °С / отн. влажность 60%			Начальное состояние	25 °С / отн. влажность 60%			
		1 мес.	3 мес.	6 мес.		1 мес.	3 мес.	6 мес.	
Внешний вид		*	*	*	*	*	*	*	*
рН		7,76	7,97	7,92	7,84	8,11	7,87	7,88	7,93
Количественное определение		100,2	97,5	98,1	96,7	101,1	99,8	100,5	98,6
Высокомолекулярные белки		0,27	0,78	1,31	1,33	0	0,08	0,21	0,52
RS	Максимальное содержание единичной примеси	0,49	0,58	0,89	1	0,44	0,59	0,49	0,58
	Сумма примесей	1,45	1,97	2,64	3,60	0,87	0,92	1,30	1,48
*: белый лиофилизированный порошок									

Заключение:

[См: фиг. 1, 2, 3 и 4]

Долгосрочные и ускоренные исследования стабильности композиции лектина SEQ ID NO. 1, хранившейся в прозрачном флаконе и флаконе янтарного цвета в течение 6 месяцев при 25 °С/относительной влажности 60%, показали образование суммы примесей на уровне до 3,60% и 1,48% соответственно. Результаты количественного определения не менялись в течение 6 месяцев при хранении во флаконе янтарного цвета. С другой стороны, значение количественного определения при хранении в прозрачных флаконах снизилось с 100,2% до 96,7% за 6 месяцев. Содержание высокомолекулярных белков во флаконе янтарного цвета было намного ниже по сравнению с прозрачным флаконом.

Пример 4: Исследования стабильности лекарственной формы примера 1

Таблица 4. Долгосрочное и ускоренное исследование стабильности при 2–8 °С											
		Лекарственный препарат в прозрачном флаконе				Лекарственный препарат во флаконе янтарного цвета					
Показатель	Начальное состояние	2–8 °С				Начальное состояние	2–8 °С				
		1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.		1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.	
Внешний вид	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
рН	7,76	ND	7,93	7,77	7,82	8,11	7,91	7,76	7,97	7,74	
Количественное определение	100,2	99,2	100,4	99,6	100,7	101,1	103	100,3	100	100,1	
Высокомолекулярные белки	0,27	0,33	0,54	0,55	0,67	0	0,17	0,10	0,08	0,06	
RS	Максимальное содержание едини	0,49	0,47	0,53	0,46	0,73	0,44	0,59	0,50	0,53	0,44

	чной примеси										
	Сумма примесей	1,45	1,45	1,50	1,87	2,30	0,87	0,95	0,95	1,03	0,95
*: белый лиофилизированный порошок											

Заключение:

[См. фиг. 5, 6, 7 и 8]

Заключение: Данные долгосрочных и ускоренных исследований стабильности показали, что хранение в прозрачном флаконе и флаконе янтарного цвета с этикеткой в вторичной упаковке из картона обеспечивает сохранение стабильности. Лектин SEQ ID NO. 1 оставался стабильным при хранении в обоих контейнерах. Критические характеристики, такие как количественное определение, содержание родственных примесей и высокомолекулярных белков, в большей степени контролируются во флаконе янтарного цвета, чем в прозрачном, что очевидно согласно данным о светочувствительности лектина SEQ ID NO. 1 и его лиофилизированной композиции. Хранение препарата во флаконе янтарного цвета помогает предотвратить воздействие света на лектин SEQ ID NO. 1 и повышает стабильность лекарственного препарата. Это помогает контролировать критические характеристики, такие как количественное определение, содержание родственных примесей и высокомолекулярных белков, которые важны с точки зрения безопасности и эффективности композиции.

Пример 5: Исследования форсированной деградации лектина SEQ ID NO. 1

Пример 5а: Дегградация под воздействием света:

Лектин SEQ ID NO. 1, разбавленный разбавителем, содержащим буферный раствор трис-25 мМ, рН 8,0, подвергли воздействию света в белой части спектра с интенсивностью 1,2 миллиона люкс-часов и света в ближней ультрафиолетовой части спектра с энергией 200 ватт-часов/м² в течение 120 часов при температуре 25 ± 2°C. В другом эксперименте до проведения воздействия образец был обернут алюминиевой фольгой. В качестве

контрольного образца анализировали образец, который не подвергался воздействию света. При анализе образцов через 120 часов воздействия были получены следующие результаты:

Таблица 5. Контрольный образец					
ОВ	ОВУ	% площади пика	Чистота пика	Холостой образец	% деградации по сравнению с контрольным образцом
19,747	1,000	98,61	Пик чистый	Пик отсутствует	Н/П
20,040	1,015	0,92	Пик с примесями		
20,260	1,026	0,47	Пик с примесями		

Таблица 6. Анализ деградации образца, хранящегося во флаконе янтарного цвета, обернутом алюминиевой фольгой, под воздействием света					
ОВ	ОВУ	% площади пика	Чистота пика	Холостой образец	% деградации по сравнению с контрольным образцом
19,340	0,980	0,04	Пик с примесями	Пик отсутствует	1,55

19,733	1,000	97,06	Пик чистый		
19,933	1,010	1,13	Пик с примесями		
20,027	1,015	0,92	Пик с примесями		
20,253	1,026	0,84	Пик с примесями		

Таблица 7. Анализ деградации образца, не обернутого алюминиевой фольгой, под воздействием света					
ОВ	ОВУ	% площади пика	Чистота пика	Холостой образец	% деградации по сравнению с контрольным образцом
19,573	0,992	12,65	Пик с	Пик не обнаружен	11,74
19,727	1,000	86,87	Пик		
20,007	1,014	0,32	Пик с		
20,213	1,025	0,15	Пик с		

Заключение: Воздействие на последовательность с идентификационным номером: 1 света в ультрафиолетовой части спектра приводило к образованию примесей до уровня 11,74% и снижению значения количественного определения с 98,61% до 86,87%. Тогда как воздействие ультрафиолетового света на последовательность с идентификационным номером: 1 при хранении в непрозрачном контейнере, обернутом алюминиевой фольгой, приводило к образованию примесей до уровня 1,55% и снижению значения количественного определения всего лишь с 98,61% до 97,06%.

Лектин SEQ ID NO. 1, содержащий примерно 12% варианта мет-лектина, подвергли воздействию света в белой части спектра с интенсивностью 1,2 миллиона люкс-часов и света в ближней ультрафиолетовой части спектра с энергией 200 ватт-часов/м² в течение 120 часов, причем деградация белка составила 11,74%, что указывает на фотокаталитическое окисление инициатора метионина.

Пример 5b. Окислительная деградация:

К 400 мкл раствора образца, содержащего 10 мг/мл последовательности с идентификационным номером: 1 в разбавителе, содержащем трис-25 мМ буферный раствор, рН 8,0, добавили 800 мкл 3% раствора перекиси водорода. Образец инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут и нейтрализовали раствором 30,1 мг метионина в 800 мкл разбавителя. Контрольный раствор, использованный для анализа, содержал 400 мкл раствора образца, содержащего 10 мг/мл последовательности с идентификационным номером: 1 и 1600 мкл разбавителя. Результаты в сравнении с контрольным образцом приведены ниже:

Таблица 8 Контрольный образец					
ОВ	ОВУ	% площади пика	Чистота пика	Холостой образец	% деградации по сравнению с контрольным образцом
18,873	0,981	0,07	Пик с примесями	Пик отсутствует	Н/П
19,240	1,000	98,50	Пик чистый		
19,493	1,013	0,88	Пик с примесями		
19,613	1,019	0,34	Пик с		

			примесями		
19,820	1,030	0,21	Пик с примесями		

Таблица 9. Анализ окислительной деградации образца

ОВ	ОВУ	% площади	Чистота пика	Холостой образец	% деградации по сравнению с
17,473	0,908	0,25	Пик с примесями	Пик отсутствует	14,13
17,553	0,912	0,26	Пик с примесями		
18,607	0,967	0,47	Пик с примесями		
18,747	0,974	0,68	Пик с примесями		
18,953	0,985	1,48	Пик с примесями		
19,153	0,995	6,05	Пик с примесями		
19,240	1,000	84,37	Пик чистый		
19,427	1,010	4,44	Пик с примесями		
19,753	1,027	1,82	Пик с примесями		
20,220	1,051	0,2	Пик с примесями		

Заключение:

Лектин SEQ ID NO. 1 был подвергнут окислению с использованием 3% перекиси водорода при комнатной температуре в течение примерно 10 мин, деградация белка составила 14% по сравнению с контролем, что указывает на частичное окисление метионина в положениях 44 и 89 в последовательности с идентификационным номером: 1.

Пример 6: Исследования фотостабильности фармацевтической субстанции и лекарственного препарата

Исследования фотостабильности проводились на фармацевтической субстанции и лекарственном препарате, упакованных в прозрачные флаконы и светостойкие стеклянные флаконы янтарного цвета.

Таблица 10. Фотостабильность изготовленной фармацевтической субстанции, помещенной в прозрачные флаконы и светостойкие флаконы янтарного цвета.									
Показатель		Фармацевтическая субстанция в прозрачных флаконах				Фармацевтическая субстанция во флаконах янтарного цвета			
		Флакон, завернутый в алюминиевую фольгу	Без этикетки	С этикеткой	Этикетка + упаковка из картона	Флакон, завернутый в алюминиевую фольгу	Без этикетки	С этикеткой	Этикетка + упаковка из картона
Описание		*	*	*	*	*	*	*	*
R S	% содержания суммы примесей	0	10,21	10,91	0	0	0	0	0
	* : прозрачный бесцветный раствор								

Заключение: Исследование фотостабильности лектина SEQ ID NO. 1, хранившегося в прозрачном флаконе без этикетки, показало образование примесей до уровня 10,21%, а во флаконе с этикеткой до уровня 10,91%. Исследование фотостабильности лектина SEQ ID NO. 1, хранившегося в светостойком флаконе янтарного цвета, показало образование примесей на уровне 0% как с этикеткой, так и без нее.

Таблица 11. Фотостабильность изготовленного препарата, помещенного в прозрачные флаконы и флаконы янтарного цвета.

Показатель		Лекарственный препарат в прозрачном флаконе					Лекарственный препарат во флаконе янтарного цвета				
		Начальное состояние	Флакон, завернутый в алюминиевую фольгу	Без этикетки	С этикеткой	Этикетка + упаковка из картона	Начальное состояние	Флакон, завернутый в алюминиевую фольгу	Без этикетки	С этикеткой	Этикетка + упаковка из картона
Описание		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
RS	% содержания суммы примесей	0,16	0,17	1,69	1,09	0,21	0,17	0,19	0,20	0,20	0,21

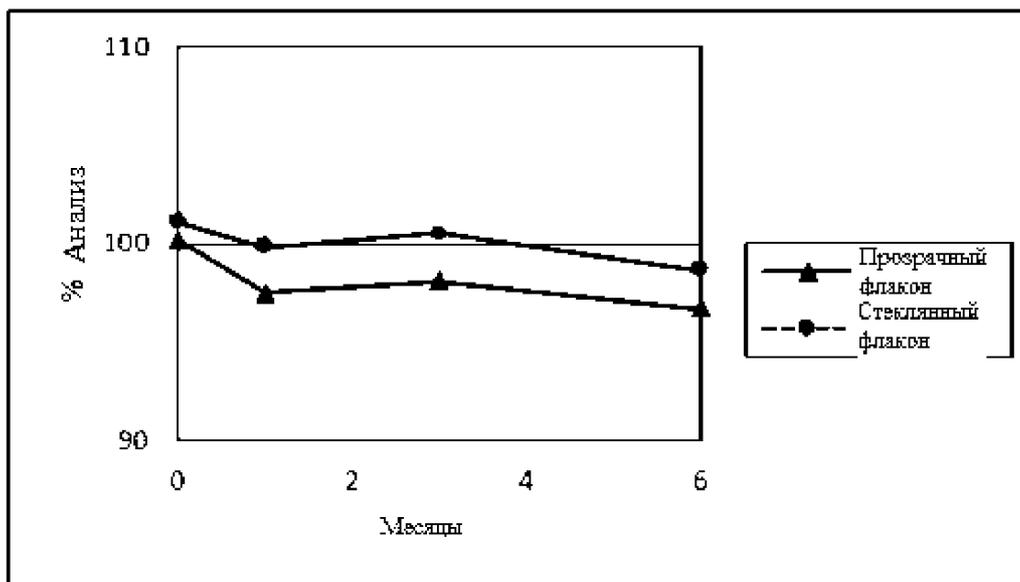
*: белый лиофилизированный порошок

Заключение: Исследование фотостабильности композиции в прозрачном флаконе без этикетки показало образование примесей до 1,69%, а с этикеткой — до 1,09%. Исследование фотостабильности указанной композиции в светостойком флаконе янтарного цвета без этикетки показало образование примесей до 0,20% и 0,20% с этикеткой, что свидетельствует о том, что лектин SEQ ID NO. 1 светочувствителен, и хранение продукта в светостойком флаконе янтарного цвета помогает контролировать такие критические характеристики как количественное определение, содержание родственных примесей и высокомолекулярных белков, которые важны с точки зрения безопасности и эффективности состава.

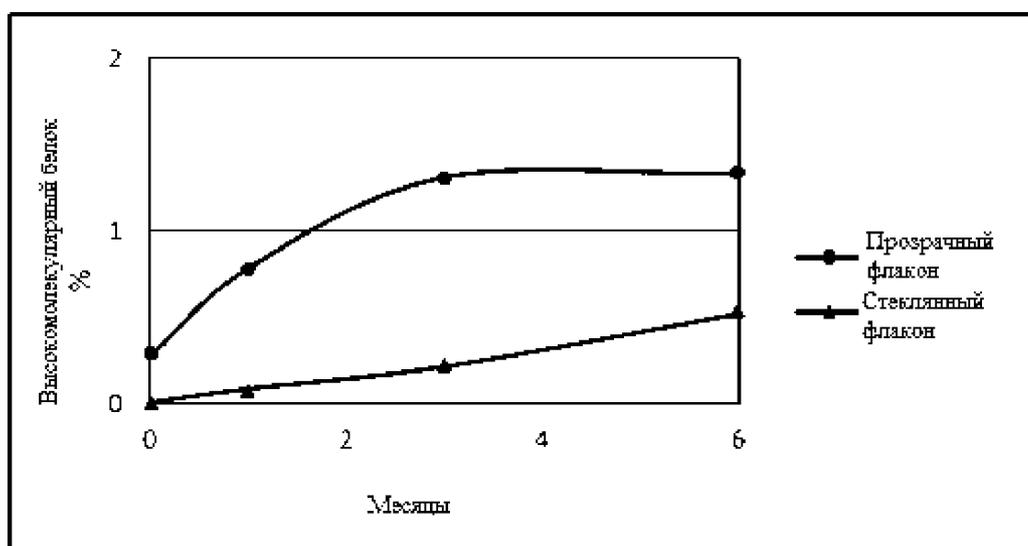
Формула изобретения:

1. Светостойкий контейнер, содержащий фармацевтическую композицию, причем фармацевтическая композиция содержит лектин и стабилизирующее вещество(вещества).
2. Контейнер по п. 1, в котором контейнер не пропускает световые волны с длиной волны от 100 до 500 нм.
3. Контейнер по п. 1, в котором свободное пространство контейнера содержит инертную атмосферу или вакуум.
4. Контейнер по п. 1, в котором контейнер представляет собой флакон, шприц, картридж или ампулу.
5. Контейнер по п. 1, в котором композиция при хранении в течение 6 месяцев при температуре от 20 до 25 °С и относительной влажности 60% содержит менее 5% высокомолекулярных белковых примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.
6. Контейнер по п. 1, в котором композиция при хранении в течение 1 года при температуре 2–8 °С содержит менее 5% высокомолекулярных белковых примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.
7. Контейнер по п. 1, в котором
 - a. фармацевтическая композиция содержит лектин и стабилизирующее вещество(вещества);
 - b. контейнер не пропускает световые волны с длиной волны от 100 до 500 нм; свободное пространство контейнера содержит инертную атмосферу или вакуум;
 - c. контейнер представляет собой флакон, шприц, картридж или ампулу.
 - d. композиция при хранении в течение 6 месяцев содержит менее 5% высокомолекулярных белковых примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.

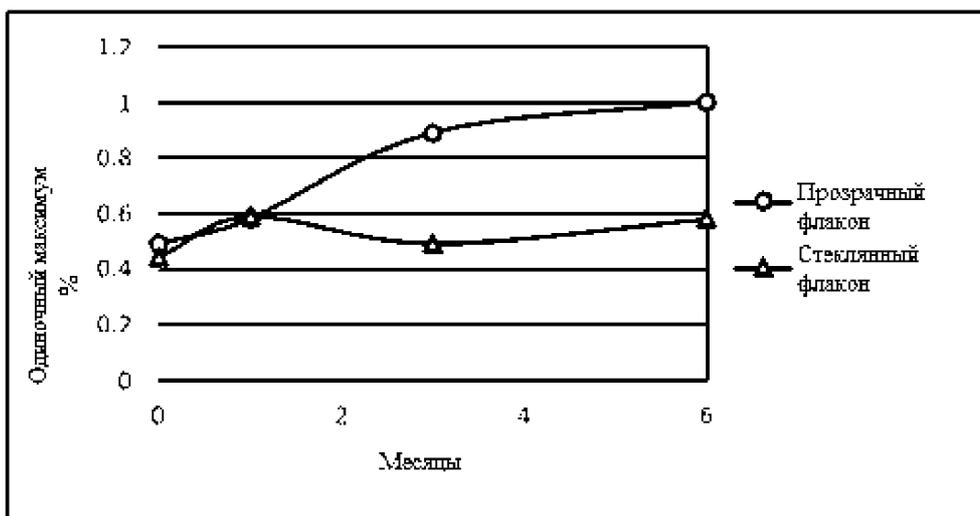
8. Композиция по п. 1, в которой лектин представляет собой рекомбинантный лектин SEQ ID NO. 1.
9. Композиция по п. 1, в которой стабилизирующее вещество(вещества) содержит аминокислоту или ее соль; поверхностно-активное вещество; сахар или углевод; или их комбинацию.
10. Композиция по п. 1, в которой композиция содержит
 - a. от 0,01% м/о до 2% м/о лектина SEQ ID NO. 1;
 - b. от 0,04% м/о до 0,8% м/о полисорбата 80;
 - c. от 0,08% м/о до 1,6% м/о L-аргинина хлористоводородной кислоты
 - d. от 0,09% м/о до 19,2% м/о сахарозы и
 - e. от 0,09% до 20% м/о маннита.
11. Способ стабилизации композиции лектина, предусматривающий помещение композиции, содержащей лектин и стабилизирующее вещество(вещества), в контейнер, который не пропускает световые волны с длиной волны от 100 до 500 нм; а свободное пространство контейнера содержит инертную атмосферу или вакуум.
12. Способ по п. 10, в котором
 - a. лектин представляет собой рекомбинантный лектин SEQ ID NO. 1.
 - b. стабилизирующее вещество(вещества) содержит аминокислоту или ее соль; поверхностно-активное вещество; сахар или углевод; или их комбинацию.
13. Способ по п. 10, в котором композиция при хранении в течение 6 месяцев содержит менее 5% высокомолекулярных белковых примесей или родственных примесей по отдельности или в комбинации.



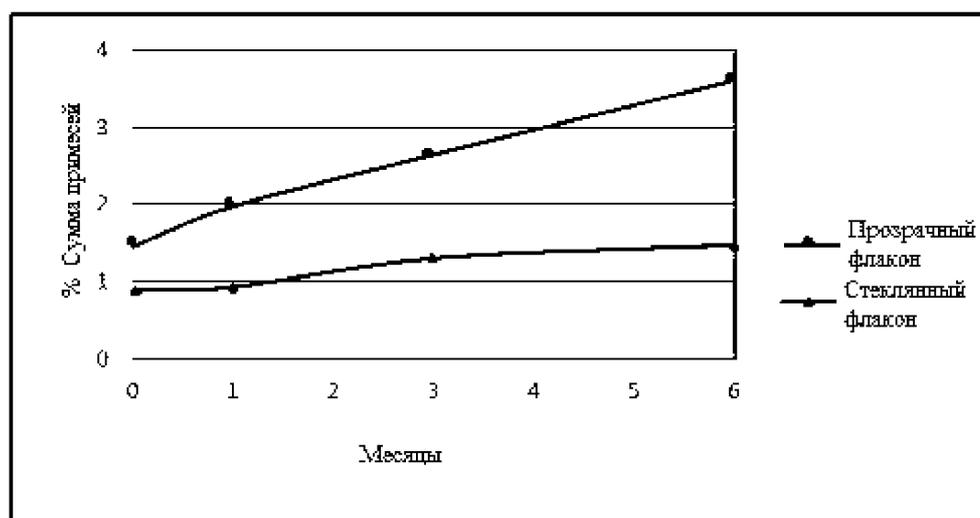
Фиг. 1



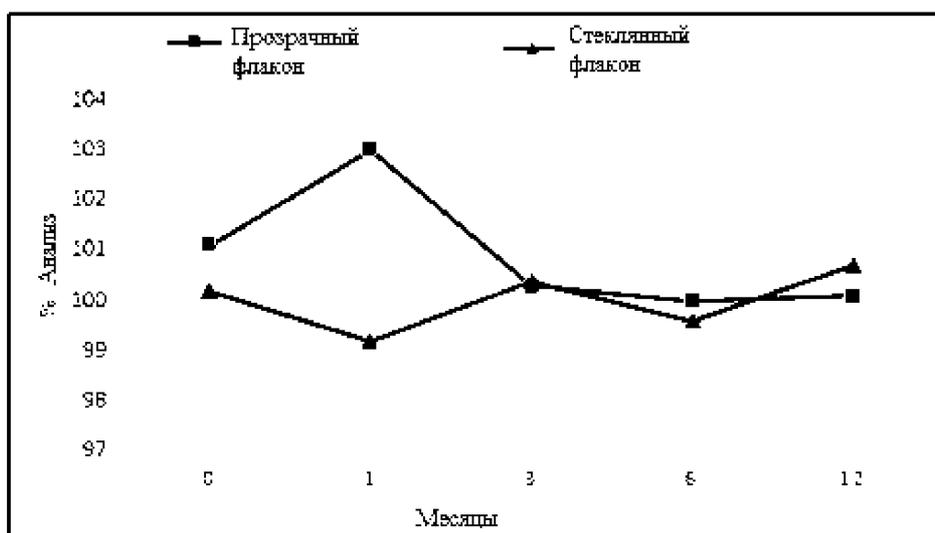
Фиг. 2



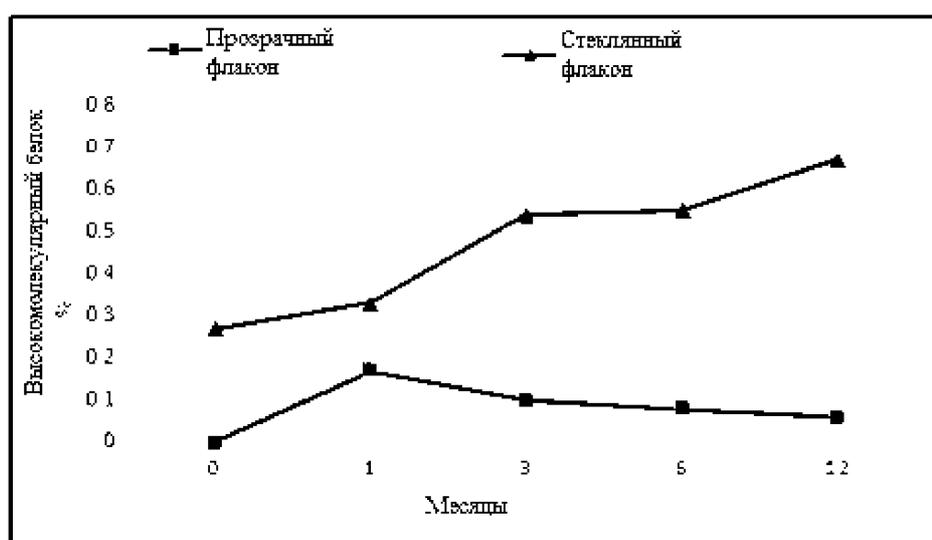
Фиг. 3



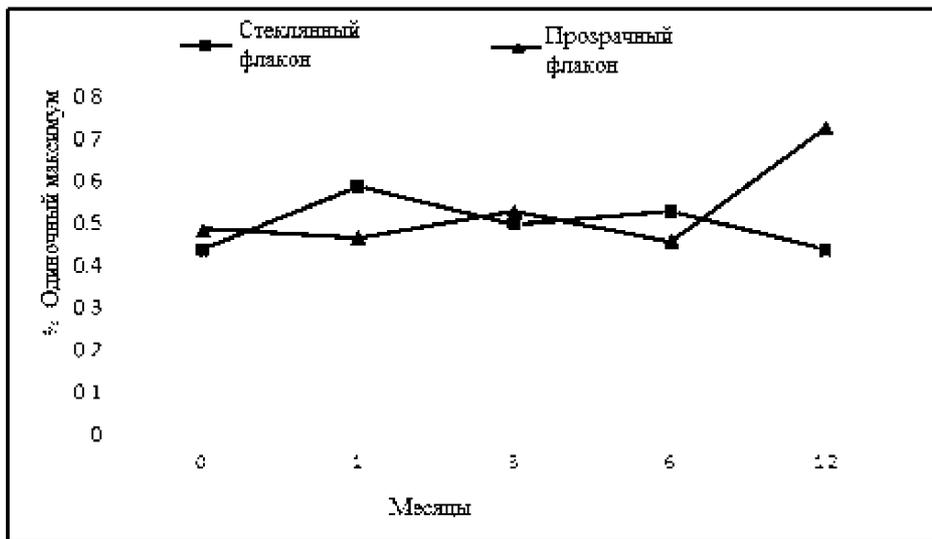
Фиг. 4



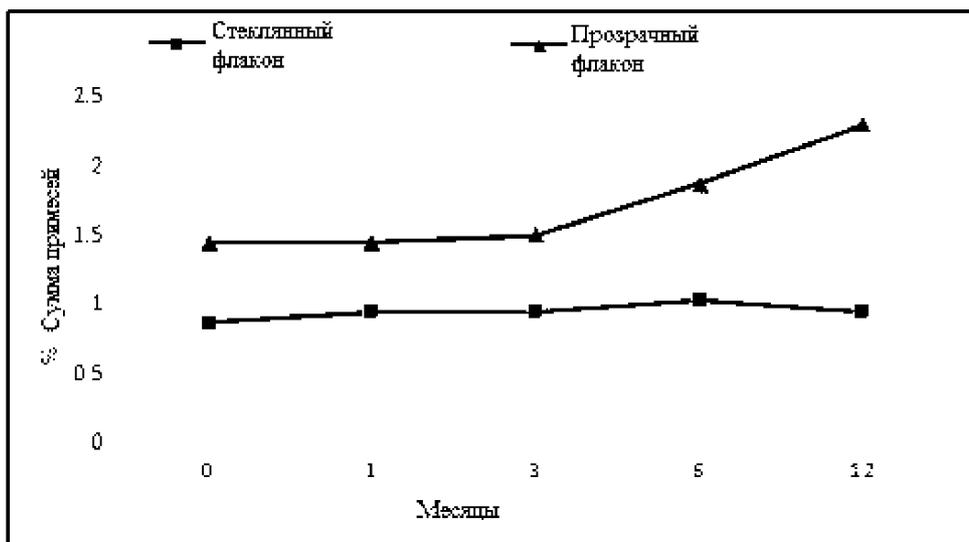
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8