

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490189 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.02.22

(22) Дата подачи заявки
2022.07.04

(51) Int. Cl. C12N 15/86 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
A61K 35/76 (2015.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 47/34 (2017.01)
A61K 47/40 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ БЕЗОБОЛОЧЕЧНОГО ВИРУСА

(31) 2021120143

(32) 2021.07.08

(33) RU

(86) PCT/RU2022/050212

(87) WO 2023/282796 2023.01.12

(88) 2023.02.16

(71) Заявитель:

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
"БИОКАД" (RU)

(72) Изобретатель:

Федоренко Лина Игоревна, Ломкова
Екатерина Александровна, Яковлев
Александр Олегович, Созонова
Александра Александровна,
Дворянкина Марина Константиновна,
Морозов Дмитрий Валентинович (RU)

(74) Представитель:

Мельчаева О.А. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к области фармацевтики, генной терапии и медицины, а именно к фармацевтическим композициям вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, в частности рекомбинантного аденоассоциированного вируса (rAAV), которые могут быть водными или лиофилизированными и которые могут быть использованы для лечения и профилактики различных заболеваний.

A1

202490189

202490189

A1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ БЕЗОБОЛОЧЕЧНОГО ВИРУСА

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области фармацевтики, генной терапии и медицины, а именно к фармацевтическим композициям вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, в частности рекомбинантного аденоассоциированного вируса (rAAV), которые могут быть использованы для лечения и профилактики различных заболеваний.

Уровень техники

Типичными представителями безоболочечных вирусов являются парвовирусы, норовирусы, а также рота- и аденовирусы.

Простые или безоболочечные вирусы состоят из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки, называемой капсидом. Капсид состоит из повторяющихся морфологических субъединиц – капсомеров. Нуклеиновая кислота и капсид взаимодействуют друг с другом, образуя нуклеокапсид. В каждом вирусе олигомеризация капсидных белков во время сборки капсида обычно приводит к определенному типу симметричной четвертичной структуры. Большинство вирусов имеют капсиды спиральной или икосаэдрической структуры (Lidmar J, Mirny L, Nelson DR. Virus shapes and buckling transitions in spherical shells. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 2003 Nov;68(5 Pt 1):051910. doi: 10.1103/PhysRevE.68.051910. Epub 2003 Nov 25. PMID: 14682823).

В отличие от безоболочечных капсид оболочечных вирусов покрыт липидной мембраной, известной как суперкапсид. Оболочка приобретает капсидом изнутриклеточной мембраны хозяина вируса; примеры включают внутреннюю ядерную мембрану, мембрану аппарата Гольджи и внешнюю мембрану клетки. Наличие липидной оболочки делает вирусы менее устойчивыми к физико-химическим воздействиям (Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD (1994). *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). p. 280).

Капсид безоболочечных вирусов выполняет функцию защиты генома при длительном хранении, а также от химических и физических стресс-воздействий, таких как УФ излучение, экстремальные значения pH или температуры, протеолитические и нуклеолитические агенты. Безоболочечные вирусы продолжительное время могут сохранять свои свойства в высушенном состоянии на различных поверхностях как

пористых, так и не пористых (Abad FX, Pintó RM, Bosch A. Survival of enteric viruses on environmental fomites. *Appl Environ Microbiol.* 1994 Oct;60(10):3704-10. doi: 10.1128/aem.60.10.3704-3710.1994. PMID: 7986043; PMCID: PMC201876).

Вирусы осуществляют стабильное внедрение своего генетического материала в геном клетки хозяина, поэтому было предложено использовать их в качестве векторов доставки генетической информации в клетки. Используются векторы на основе ретровируса, аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV), вируса простого герпеса и др. Среди указанных вирусов аденовирус и AAV относятся к безоболочечным вирусам.

Векторы на основе рекомбинантного AAV и рекомбинантного аденовируса в настоящее время являются наиболее широко используемыми и разрабатываемыми продуктами генной терапии, а также они используются в разработке вакцин.

В настоящее время генная терапия рассматривается как потенциально универсальный подход к лечению практически всего спектра заболеваний: инфекционных заболеваний, генетических заболеваний, злокачественных новообразований и т. д.

Вирусы или вирусные векторы (вирусные частицы) должны сохранять свою структурную целостность, чтобы быть инфекционными и биологически активными. Структурная целостность вирусного вектора часто нарушается в процессе приготовления вакцин или препаратов, содержащих вирусный вектор, что исключает его использование в качестве вектора доставки.

Зачастую препараты на основе вирусных векторов производят в замороженной форме, требующей температурного режима хранения ниже -20 °С, часто даже -80 °С. Лиофилизаты решают данную проблему, имея оптимальный температурный режим хранения и транспортировки 2-8 °С. Также лиофилизация широко используется для повышения стабильности различных вирусных вакцин и препаратов, содержащих вектор на основе рекомбинантного вируса.

Из уровня техники известны лиофилизированные фармацевтические композиции AAV (WO2018/128689, WO2020/014479, WO2020/214929), лиофилизированные фармацевтические композиции аденовируса (WO00/29024, WO2017/013169, WO2018/103601).

Однако лиофилизаты обычно бывают относительно дорогостоящими, поскольку требуют больших временных и материальных затрат для их производства, а также биологическая активность вирусного вектора может в определенной степени утрачиваться в процессе лиофилизации и восстановления лиофилизата. Кроме того, остаточное содержание воды (влаги) в готовом продукте существенно влияет на стабильность вирусного вектора при хранении.

Таким образом, существует потребность в стабильных фармацевтических композициях, содержащих вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, в том числе в фармацевтических композициях, позволяющих получать стабильную лиофильную лекарственную форму без потерь биологической активности вирусного вектора, а также с минимальным временем лиофилизации.

Подробное описание изобретения

Авторы данного изобретения неожиданно установили, что добавление гидроксипропил-бета-циклодекстрина повышает температуру стеклования фармацевтической композиции, содержащей вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, при лиофильной сушке, что позволяет сократить длительность процесса лиофильной сушки, снизить содержание остаточной воды в лиофилизате и, таким образом, приводит к получению лиофилизированной фармацевтической композиции, содержащей вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, которая обладает стабильностью при хранении (например, при длительном хранении). Авторы данного изобретения также неожиданно установили, что вышеуказанный состав и процесс приготовления лиофилизата позволяют длительно сохранять активность вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса в неизменном виде. Так же авторы данного изобретения неожиданно установили, что предлиофилизационный раствор (водная фармацевтическая композиция) является стабильным и может выступать в качестве готовой лекарственной формы.

Определения

Если иное не определено в настоящем документе, научные и технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, будут иметь значения, которые обычно понятны специалистам в данной области.

Кроме того, если по контексту не требуется иное, термины в единственном числе включают в себя термины во множественном числе, и термины во множественном числе включают в себя термины в единственном числе.

В настоящем описании и в последующей формуле изобретения, если контекстом не предусмотрено иное, слова «включать» и «содержать» или их вариации, такие как «включает», «включающий», «содержит» или «содержащий», следует понимать, как включение указанного целого или группы целых, но не исключение любого другого целого или группы целых.

Термин «фармацевтическая композиция» относится к композиции и/или составу, содержащему вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса в терапевтически

эффективном количестве и эксципиенты или вспомогательные вещества (носители, разбавители, наполнители, растворители и т. п.), выбор и соотношение которых зависит от их природы, способа назначения и дозировки.

Термин «водная композиция» при использовании в данном документе относится к композиции на основе воды, в качестве воды могут быть использованы: вода, вода для инъекций, физиологический раствор (0,9-1,0%-ный водный раствор хлористого натрия).

Термин «лиофилизированный», используемый в настоящем документе, относится к препарату, который был подвергнут процессу, известному в данной области техники как сушка из замороженного состояния, включающему в себя замораживание препарата и последующее удаление льда из замороженного содержимого.

Фармацевтическая композиция является «стабильной», если активный агент сохраняет свою физическую стабильность и/или химическую стабильность и/или биологическую активность в течение заявленного срока годности при температуре хранения, например, при 2-8 °С. При этом активный агент может сохранять и физическую, и химическую стабильность, и биологическую активность. Период хранения выбирается на основании результатов исследования стабильности при ускоренном и естественном хранении.

Термин «вектор» при использовании в настоящем документе означает молекулу нуклеиновой кислоты, способную транспортировать другую нуклеиновую кислоту, с которой она соединена.

Термин «длительное хранение» или «долговременная стабильность» следует понимать, как обозначение того, что фармацевтическая композиция может храниться в течение трех месяцев или более, в течение шести месяцев или более, в течение одного года или более, а также композиция может быть с минимальным сроком хранения в стабильном состоянии по меньшей мере два года. В общем, термины «длительное хранение» и «долговременная стабильность» дополнительно включают продолжительности хранения в стабильном состоянии, которые по меньшей мере сравнимы или лучше, чем срок хранения в стабильном состоянии, как правило, необходимый для доступных в настоящее время коммерческих составов без потерь в стабильности, которые могут сделать состав непригодным для определенного для него фармацевтического применения.

Термин «буферный агент» относится к кислотному или щелочному компоненту (обычно слабой кислоте или слабому основанию) буфера или буферного раствора. Буферный агент помогает поддерживать значение рН данного раствора при или около заранее определенного значения, и буферные агенты обычно выбирают для дополнения заранее определенного значения. Буферный агент может представлять собой единственное

соединение, которое приводит к желательному буферному эффекту, в особенности, если указанный буферный агент смешан с (и подходяще способен к протонному обмену с) подходящим количеством (в зависимости от заранее определенного желательного значения) его соответствующего «кислотного/щелочного конъюгата».

Термин «буфер» или «буферный раствор» относится к водному раствору, содержащему смесь кислоты (обычно слабой кислоты, такой как, например, уксусная кислота, лимонная кислота) и ее конъюгированного основания (такой как, например, ацетатной или цитратной соли, например, ацетат натрия, цитрат натрия, а также гидраты указанных солей, например, натрия ацетат тригидрат) или альтернативно смесь основания (обычно слабого основания, например, гистидина) и его конъюгированной кислоты (например, гистидина гидрохлорида или гистидина гидрохлорида моногидрата, или L-гистидина гидрохлорида (г/х) моногидрата (м/г), или L-гистидина г/х м/г, или гистидина г/х м/г). Значение pH «буферного раствора» мало изменяется при добавлении к нему небольшого количества сильного основания или сильной кислоты, а также при разбавлении и концентрировании, благодаря «буферному эффекту», обеспечиваемому «буферным агентом».

Как правило, аминокислоты представляют собой L-аминокислоты. Например, если используют гистидин и гистидина гидрохлорид моногидрат, как правило, это L-гистидин и L-гистидина гидрохлорид моногидрат. Например, если используют аргинин, то как правило, это L-аргинин. Можно также использовать эквиваленты аминокислот, например, фармацевтически приемлемые соли пролина (например, пролина гидрохлорид).

Сокращения

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ИФА – иммуноферментный анализ

ФА – функциональная активность

Сt – количество циклов

TU – единицы трансдукции

T_g – температура стеклования

Вг – вирусные геномы

GFP – ген зеленого флуоресцентного белка

FAM – краситель карбоксифлуоресцеин

ВНQ-1 – гаситель флуоресценции, применяемый при проведении ПЦР

МОI – множественность инфекции

В настоящем изобретении раскрыты стабильные фармацевтические композиции вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, в частности рекомбинантного

аденоассоциированного вируса (rAAV), которые могут быть использованы для лечения и профилактики различных заболеваний.

Разработанные составы позволяют получить лиофилизат вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, в частности rAAV, несмотря на высокое содержание в нем натрия хлорида, который необходим для стабилизации безоболочечного вируса. В лиофилизате достигается низкое содержание воды, что обеспечивает его стабильность при хранении как в долгосрочных, так и ускоренных условиях. Кроме того, разработанные составы позволяют оптимизировать процесс лиофильной сушки за счет уменьшения длительности процесса.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, содержащей:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,**
- (ii) буферный агент,**
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин,**
- (iv) поверхностно-активное вещество,**
- (v) натрия хлорид,**
- (vi) магния хлорид,**
- (vii) воду для инъекций.**

В качестве буферного агента может быть использован любой фармацевтически приемлемый буферный агент. Буферные агенты хорошо известны в данной области и включают, без ограничения, гистидин, цитрат натрия, трис(гидроксиэтил)аминометан (ТРИС), глицин, N-глицилглицин, ацетат натрия, карбонат натрия, лизин, аргинин, фосфат натрия, фосфат калия, а также их смеси.

В некоторых вариантах осуществления изобретения буферный агент представляет собой трис(гидроксиэтил)аминометан и хлористоводородную кислоту.

В некоторых вариантах осуществления изобретения трис(гидроксиэтил)аминометан содержится в концентрации 1,9 – 8,7 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения хлористоводородная кислота добавлена до pH 6,0 – 8,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения буферный агент представляет собой L-гистидин и L-аргинин.

В некоторых вариантах осуществления изобретения L-гистидин содержится в концентрации 0,4 – 10,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения L-аргинин содержится в концентрации 0,05 – 10,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 10,0 – 200,0 мг/мл.

В качестве поверхностно-активного вещества может быть использовано любое фармацевтически приемлемое поверхностно-активное вещество. Поверхностно-активные вещества хорошо известны в данной области и включают, без ограничения, полисорбат 20, полисорбат 80, различные полоксамеры и плуроники, а также их смеси.

В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 0,01 – 2,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностно-активное вещество представляет собой полоксамер 188.

В некоторых вариантах осуществления изобретения натрия хлорид содержится в концентрации 1,0 – 15,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения магния хлорид содержится в концентрации 0,05 – 1,0 мг/мл.

Магния хлорид может быть использован как в виде магния хлорида безводного, так и в виде его гидратов. В некоторых вариантах осуществления изобретения магния хлорид представляет собой магния хлорида гексагидрат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция дополнительно содержит дисахарид.

В качестве дисахарида может быть использован любой фармацевтически приемлемый дисахарид. Дисахариды хорошо известны в данной области и включают, без ограничения, трегалозу, сахарозу, а также их смеси.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дисахарид содержится в концентрации 10,0 – 200,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дисахарид представляет собой трегалозу.

Трегалоза может быть использована как в виде трегалозы безводной, так и в виде ее гидратов. В некоторых вариантах осуществления изобретения трегалоза представляет собой трегалозы дигидрат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,

- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	1,9 – 8,7 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0

 Или

L-гистидин	0,4 – 10,0 мг/мл и
L-аргинин	0,05 – 10,0 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 10,0 – 200,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество 0,01 – 2,0 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 1,0 – 15,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,05 – 1,0 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	1,9 – 8,7 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 10,0 – 200,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество 0,01 – 2,0 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 1,0 – 15,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,05 – 1,0 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения трис(гидроксиметил)аминометан содержится в концентрации 2,22 – 7,76 мг/мл, или 2,22 – 7,46, или 2,42 – 7,26 мг/мл, или 1,9 – 3,0 мг/мл, или 2,22 – 2,66 мг/мл, или 2,42 мг/мл, или 5,7 – 8,7 мг/мл, или 6,76 – 7,76 мг/мл, или 7,06 – 7,46 мг/мл, или 7,26 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения хлористоводородная кислота добавлена до pH 7,0 – 8,0, или до pH 7,3 – 7,8, или до pH 7,4 – 7,6, или до pH 7,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

L-гистидин	0,4 – 10,0 мг/мл и
------------	--------------------

	L-аргинин	0,05 – 10,0 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	10,0 – 200,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество	0,01 – 2,0 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	1,0 – 15,0 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,05 – 1,0 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения L-гистидин содержится в концентрации 2,0 – 9,24 мг/мл, или 2,58 – 8,74 мг/мл, или 2,79 – 8,37 мг/мл, или 2,0 – 3,58 мг/мл, или 2,29 – 3,08 мг/мл, или 2,58 – 3,0 мг/мл, или 2,79 мг/мл, или 6,0 – 10,0 мг/мл, или 7,5 – 9,24 мг/мл, или 8,0 – 8,74 мг/мл, или 8,37 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения L-аргинин содержится в концентрации 0,248 – 1,344 мг/мл, или 0,3 – 1,2 мг/мл, или 0,348 – 1,044 мг/мл, или 0,248 – 0,448 мг/мл, или 0,3 – 0,396 мг/мл, или 0,348 мг/мл, или 0,744 – 1,344 мг/мл, или 0,888 – 1,2 мг/мл, или 1,044 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 30,0 – 110 мг/мл, или 40,0 – 105,0 мг/мл, или 50,0 – 100,0 мг/мл, 30,0 – 70,0 мг/мл, или 40,0 – 60,0 мг/мл, или 45,0-55,0 мг/мл, или 50,0 мг/мл, или 90,0 – 200,0 мг/мл, или 90,0 – 110,0 мг/мл, или 95,0 – 105,0 мг/мл, или 100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 0,035 – 1,8 мг/мл, или 0,05 – 1,5 мг/мл, или 0,01 – 0,1 мг/мл, или 0,035 – 0,065 мг/мл, или 0,05 мг/мл, или 0,1 – 1,0 мг/мл, или 0,35 – 0,65 мг/мл, или 0,5 мг/мл, или 1,0 – 2,0 мг/мл, или 1,2 – 1,8 мг/мл, или 1,5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностно-активное вещество представляет собой полоксамер 188.

В некоторых вариантах осуществления изобретения натрия хлорид содержится в концентрации 2,5 – 14,14 мг/мл, или 3,88 – 13,64 мг/мл, или 3,0 – 13,14 мг/мл, или 4,38 – 6,5 мг/мл, или 4,5 – 6,0 мг/мл, или 1,0 – 7,0 мг/мл, или 1,0 – 6,0 мг/мл, или 2,5 – 3,5 мг/мл, или 3,0 мг/мл, или 3,88 – 4,88 мг/мл, или 4,38 мг/мл, или 4,5 мг/мл, или 5,5 – 6,5 мг/мл, или 6,0 мг/мл, или 9,0 – 15,0 мг/мл, или 12,14 – 14,14 мг/мл, или 12,64 – 13,64 мг/мл, или 13,14 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения магния хлорид содержится в концентрации 0,15 – 0,7 мг/мл, или 0,173 – 0,659 мг/мл, или 0,203 – 0,609 мг/мл, или 0,15 – 0,50 мг/мл, или 0,173 – 0,233 мг/мл, или 0,203 мг/мл, или 0,5 – 0,7 мг/мл, или 0,559 – 0,659 мг/мл, или 0,609 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения магния хлорид представляет собой магния хлорида гексагидрат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения описанная выше фармацевтическая композиция дополнительно содержит дисахарид в концентрации 10 – 200 мг/мл, или 20,0 – 150,0 мг/мл, или 25,0 – 100,0 мг/мл, или 25,0 – 50,0 мг/мл, или 20,0 – 30,0 мг/мл, или 23,0 – 27,0 мг/мл, или 25,0 мг/мл, или 30,0 – 70,0 мг/мл, или 30,0 – 36,6 мг/мл, или 32,3 – 34,3 мг/мл, или 33,3 мг/мл, или , или 45,0 – 55,0 мг/мл, или 50,0 мг/мл, или 90,0 – 200,0 мг/мл, или 100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дисахарид представляет собой трегалозу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения трегалоза представляет собой трегалозы дигидрат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до рН 6,0 – 8,0Или
 - L-гистидин 2,79 мг/мл и
 - L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до рН 6,0 – 8,0,

(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	6,0 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой	
	L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	6,0 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой	
	трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
	Или	
	L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	4,5 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и

- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
(ii) буферный агент, представляющий собой трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0,
(iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
(iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
(v) натрия хлорид 4,5 мг/мл,
(vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
(vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
(viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
(ii) буферный агент, представляющий собой L-гистидин 2,79 мг/мл и L-аргинин 0,348 мг/мл,
(iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
(iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
(v) натрия хлорид 4,5 мг/мл,
(vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
(vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
(viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0

 Или

L-гистидин	2,79 мг/мл и
L-аргинин	0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 3,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 3,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,

(ii)	буферный агент, представляющий собой	
	L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	3,0 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой	
	трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
	Или	
	L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	33,3 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	4,38 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	33,3 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой	
	трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и

	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	33,3 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	4,38 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	33,3 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой	
	L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	33,3 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	4,38 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	33,3 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой	
	трис(гидроксиметил)аминометан	7,26 мг/мл и
	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
	Или	
	L-гистидин	8,37 мг/мл и
	L-аргинин	1,044 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,

(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	1,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	13,14 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,609 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой трис(гидроксиметил)аминометан	7,26 мг/мл и
	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	1,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	13,14 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,609 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой L-гистидин	8,37 мг/мл и
	L-аргинин	1,044 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	1,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	13,14 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,609 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и

- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения трегалоза представляет собой трегалозы дигидрат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения магния хлорид представляет собой магния хлорида гексагидрат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
- | | |
|-------------------------------|-----------------|
| трис(гидроксиметил)аминометан | 2,42 мг/мл и |
| хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0 |
- Или
- | | |
|------------|--------------|
| L-гистидин | 2,79 мг/мл и |
| L-аргинин | 0,348 мг/мл, |
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорида гексагидрат 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
- | | |
|-------------------------------|------------------|
| трис(гидроксиметил)аминометан | 2,42 мг/мл и |
| хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0, |
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорида гексагидрат 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - L-гистидин 2,79 мг/мл и
 - L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорида гексагидрат 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0
 - Или
 - L-гистидин 2,79 мг/мл и
 - L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 4,5 мг/мл,
- (vi) магния хлорида гексагидрат 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,

- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 4,5 мг/мл,
- (vi) магния хлорида гексагидрат 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

L-гистидин	2,79 мг/мл и
L-аргинин	0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 4,5 мг/мл,
- (vi) магния хлорида гексагидрат 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
Или	
L-гистидин	2,79 мг/мл и

	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	3,0 мг/мл,
(vi)	магния хлорида гексагидрат	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат	50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	3,0 мг/мл,
(vi)	магния хлорида гексагидрат	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат	50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	3,0 мг/мл,

- | | | |
|--------|--|--------------|
| (vi) | магния хлорида гексагидрат | 0,203 мг/мл, |
| (vii) | воду для инъекций | до 1,0 мл и |
| (viii) | дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат | 50,0 мг/мл. |

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- | | | |
|--------|---|-----------------|
| (i) | вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, | |
| (ii) | буферный агент, представляющий собой трис(гидроксиметил)аминометан | 2,42 мг/мл и |
| | хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0 |
| | Или | |
| | L-гистидин | 2,79 мг/мл и |
| | L-аргинин | 0,348 мг/мл, |
| (iii) | гидроксипропил-бета-циклодекстрин | 33,3 мг/мл, |
| (iv) | поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 | 0,5 мг/мл, |
| (v) | натрия хлорид | 4,38 мг/мл, |
| (vi) | магния хлорида гексагидрат | 0,203 мг/мл, |
| (vii) | воду для инъекций | до 1,0 мл и |
| (viii) | дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат | 33,3 мг/мл. |

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- | | | |
|-------|---|-----------------|
| (i) | вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, | |
| (ii) | буферный агент, представляющий собой трис(гидроксиметил)аминометан | 2,42 мг/мл и |
| | хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0 |
| (iii) | гидроксипропил-бета-циклодекстрин | 33,3 мг/мл, |
| (iv) | поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 | 0,5 мг/мл, |
| (v) | натрия хлорид | 4,38 мг/мл, |
| (vi) | магния хлорида гексагидрат | 0,203 мг/мл, |
| (vii) | воду для инъекций | до 1,0 мл и |

- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат 33,3 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
(ii) буферный агент, представляющий собой
L-гистидин 2,79 мг/мл и
L-аргинин 0,348 мг/мл,
(iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 33,3 мг/мл,
(iv) поверхностно-активное вещество,
представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
(v) натрия хлорид 4,38 мг/мл,
(vi) магния хлорида гексагидрат 0,203 мг/мл,
(vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
(viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат 33,3 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
(ii) буферный агент, представляющий собой
трис(гидрокси метил)аминометан 7,26 мг/мл и
хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0
Или
L-гистидин 8,37 мг/мл и
L-аргинин 1,044 мг/мл,
(iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
(iv) поверхностно-активное вещество,
представляющее собой полоксамер 188 1,5 мг/мл,
(v) натрия хлорид 13,14 мг/мл,
(vi) магния хлорида гексагидрат 0,609 мг/мл,
(vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
(viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат 100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 7,26 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 1,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 13,14 мг/мл,
- (vi) магния хлорида гексагидрат 0,609 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат 100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - L-гистидин 8,37 мг/мл и
 - L-аргинин 1,044 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 1,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 13,14 мг/мл,
- (vi) магния хлорид гексагидрат 0,609 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозы дигидрат 100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения хлористоводородная кислота добавлена до pH 7,0 – 8,0, или до pH 7,3 – 7,8, или до pH 7,4 – 7,6, или до pH 7,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения описанные выше фармацевтические композиции являются пригодными для лиофилизации, т. е. могут выступать в качестве предлиофилизационного раствора.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, представленной в сухой форме, то есть в форме порошка или гранул для растворения в подходящем растворителе (например, воде) перед введением. Такая фармацевтическая композиция может быть получена, например, с помощью лиофилизации, т. е. процесса, известного в данной области техники как сушка из замороженного состояния, включающая в себя замораживание препарата и последующее удаление растворителя из замороженного содержимого.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к **лиофилизированной фармацевтической композиции вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, полученной лиофилизацией любой фармацевтической композиции, описанной выше.** Таким образом фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть как водными, так и лиофилизированными (лиофилизаты).

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса получена лиофилизацией фармацевтической композиции, содержащей:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 1,9 – 8,7 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0Или
 - L-гистидин 0,4 – 10,0 мг/мл и
 - L-аргинин 0,05 – 10,0 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 10,0 – 200,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество 0,01 – 2,0 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 1,0 – 15,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,05 – 1,0 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса получена лиофилизацией фармацевтической композиции, содержащей:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

	трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
	Или	
	L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	6,0 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса получена лиофилизацией фармацевтической композиции, содержащей:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

	трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
	Или	
	L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	4,5 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса получена лиофилизацией фармацевтической композиции, содержащей:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,

- | | | |
|--------|---|-----------------|
| (ii) | буферный агент, представляющий собой | |
| | трис(гидроксиметил)аминометан | 2,42 мг/мл и |
| | хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0 |
| | Или | |
| | L-гистидин | 2,79 мг/мл и |
| | L-аргинин | 0,348 мг/мл, |
| (iii) | гидроксипропил-бета-циклодекстрин | 100,0 мг/мл, |
| (iv) | поверхностно-активное вещество, | |
| | представляющее собой полоксамер 188 | 0,5 мг/мл, |
| (v) | натрия хлорид | 3,0 мг/мл, |
| (vi) | магния хлорид | 0,203 мг/мл, |
| (vii) | воду для инъекций | до 1,0 мл и |
| (viii) | дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу | 50,0 мг/мл. |

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса получена лиофилизацией фармацевтической композиции, содержащей:

- | | | |
|--------|--|-----------------|
| (i) | вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, | |
| (ii) | буферный агент, представляющий собой | |
| | трис(гидроксиметил)аминометан | 2,42 мг/мл и |
| | хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0 |
| | Или | |
| | L-гистидин | 2,79 мг/мл и |
| | L-аргинин | 0,348 мг/мл, |
| (iii) | гидроксипропил-бета-циклодекстрин | 33,3 мг/мл, |
| (iv) | поверхностно-активное вещество, | |
| | представляющее собой полоксамер 188 | 0,5 мг/мл, |
| (v) | натрия хлорид | 4,38 мг/мл, |
| (vi) | магния хлорид | 0,203 мг/мл, |
| (vii) | воду для инъекций | до 1,0 мл и |
| (viii) | дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу | 33,3 мг/мл. |

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса получена лиофилизацией фармацевтической композиции, содержащей:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 7,26 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до рН 6,0 – 8,0Или
 - L-гистидин 8,37 мг/мл и
 - L-аргинин 1,044 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 1,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 13,14 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,609 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 100,0 мг/мл.

Лиофилизаты используют для получения других лекарственных форм. Например, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий, лиофилизат для приготовления концентрата для приготовления раствора для инфузий. Лиофилизаты восстанавливают путем растворения в подходящем растворителе, чаще всего в воде для инъекций. Также лиофилизированные композиции восстанавливают сначала в необходимом объеме растворителя (чаще всего в воде), а затем дополнительно разводят в подходящем растворителе (например, 5% раствор глюкозы, 0,9% раствор хлорида натрия).

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса предназначена для приготовления раствора для инъекций.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса предназначена для приготовления раствора для внутримышечного, внутривенного или подкожного введения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса находится во флаконе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения флакон представляет собой стеклянный или полимерный флакон.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к **лиофилизированной фармацевтической композиции вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, которая после восстановления в водном растворителе содержит:**

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,**
- (ii) буферный агент,**
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин,**
- (iv) поверхностно-активное вещество,**
- (v) натрия хлорид,**
- (vi) магния хлорид,**
- (vii) воду для инъекций.**

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 1,9 – 3,0 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0
 - Или
 - L-гистидин 0,4 – 10,0 мг/мл и
 - L-аргинин 0,05 – 10,0 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 20,0 – 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество 0,01 – 1,0 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 1,0 – 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,05 – 1,0 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	1,9 – 3,0 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 20,0 – 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество 0,01 – 1,0 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 1,0 – 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,05 – 1,0 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения трис(гидроксиметил)аминометан содержится в концентрации 2,22 – 2,66 мг/мл, или 2,42 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения хлористоводородная кислота добавлена до pH 7,0 – 8,0, или до pH 7,3 – 7,8, или до pH 7,4 – 7,6, pH 7,5.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

L-гистидин	0,4 – 10,0 мг/мл и
L-аргинин	0,05 – 10,0 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 20,0 – 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество 0,01 – 1,0 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 1,0 – 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,05 – 1,0 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения L-гистидин содержится в концентрации 2,0 – 3,58 мг/мл, или 2,29 – 3,08 мг/мл, или 2,58 – 3,0 мг/мл, или 2,79 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения L-аргинин содержится в концентрации 0,248 – 0,448 мг/мл, или 0,3 – 0,396 мг/мл, или 0,348 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 30,0 – 70,0 мг/мл, или 30,0 – 36,6 мг/мл, или

33,3 мг/мл, или 40,0 – 60,0 мг/мл, или 45,0-55,0 мг/мл, или 50,0 мг/мл, или 90,0 – 100,0 мг/мл, 100,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 0,01 – 0,1 мг/мл, или 0,035 – 0,065 мг/мл, или 0,05 мг/мл, или 0,1 – 1,0 мг/мл, или 0,35 – 0,065 мг/мл, или 0,5 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностно-активное вещество представляет собой полоксамер 188.

В некоторых вариантах осуществления изобретения натрия хлорид содержится в концентрации 1,0 – 7,0 мг/мл, или 1,0 – 6,0 мг/мл, или 2,5 – 3,5 мг/мл, или 3,0 мг/мл, или 3,88 – 4,88 мг/мл, или 4,38 мг/мл, или 4,5 мг/мл, или 5,5 – 6,5 мг/мл, или 6,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения магния хлорид содержится в концентрации 0,15 – 0,50 мг/мл, или 0,173 – 0,233 мг/мл, или 0,203 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения магния хлорид представляет собой магния хлорида гексагидрат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения описанная выше фармацевтическая композиция дополнительно содержит дисахарид в концентрации 20,0 – 100,0 мг/мл, 20,0 – 30,0 мг/мл, или 23,0 – 27,0 мг/мл, или 25,0 мг/мл, или 30,0 – 70,0 мг/мл, или 30,0 – 36,6 мг/мл, или 32,3 – 34,3 мг/мл, или 33,3 мг/мл, или , или 45,0 – 55,0 мг/мл, или 50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дисахарид представляет собой трегалозу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения трегалоза представляет собой трегалозы дигидрат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0
 - Или
 - L-гистидин 2,79 мг/мл и
 - L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,

- (iv) поверхностно-активное вещество,
представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество,
представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
L-гистидин 2,79 мг/мл и
L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество,
представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до рН 6,0 – 8,0Или
 - L-гистидин 2,79 мг/мл и
 - L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 4,5 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до рН 6,0 – 8,0,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 4,5 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - L-гистидин 2,79 мг/мл и
 - L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 4,5 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 25,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0Или
 - L-гистидин 2,79 мг/мл и
 - L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полуксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 3,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и
 - хлористоводородную кислоту до рН 6,0 – 8,0,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 3,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
 - L-гистидин 2,79 мг/мл и
 - L-аргинин 0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 3,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 50,0 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
Или	
L-гистидин	2,79 мг/мл и
L-аргинин	0,348 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 33,3 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 4,38 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 33,3 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 33,3 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 4,38 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл и
- (viii) дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу 33,3 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса после восстановления в водном растворителе содержит:

- | | | |
|--------|---|--------------|
| (i) | вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, | |
| (ii) | буферный агент, представляющий собой | |
| | L-гистидин | 2,79 мг/мл и |
| | L-аргинин | 0,348 мг/мл, |
| (iii) | гидроксипропил-бета-циклодекстрин | 33,3 мг/мл, |
| (iv) | поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188 | 0,5 мг/мл, |
| (v) | натрия хлорид | 4,38 мг/мл, |
| (vi) | магния хлорид | 0,203 мг/мл, |
| (vii) | воду для инъекций | до 1,0 мл и |
| (viii) | дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу | 33,3 мг/мл. |

Описанные фармацевтические композиции подходят для доставки терапевтических агентов субъектам для лечения или профилактики различных заболеваний или расстройств. Они могут использоваться в генной терапии для лечения таких заболеваний как гемофилия А, гемофилия Б, злокачественные новообразования, спинальная мышечная атрофия и т. д., а также в разработке вакцин для профилактики, например, инфекционных заболеваний.

Фармацевтические композиции по изобретению могут содержать вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса в различной концентрации. Концентрация вирусного вектора может зависеть, например, от заболевания, для профилактики или лечения которого будут использоваться описанные выше фармацевтические композиции, а также от возраста, веса и состояния здоровья пациента, и, таким образом, может варьироваться у разных пациентов. Подходящую дозу можно регулировать по решению лечащего врача так, что ее можно вводить пациенту один раз или посредством нескольких введений.

В некоторых вариантах осуществления изобретения вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса содержится в концентрации $1,0 \cdot 10^5 - 1,0 \cdot 10^{14}$ вирусных геномов/мл, или $1,0 \cdot 10^9 - 1,0 \cdot 10^{14}$ вирусных геномов/мл, или $1,0 \cdot 10^9 - 5,0 \cdot 10^{13}$ вирусных геномов/мл, или $1,0 \cdot 10^9 - 1,0 \cdot 10^{13}$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^5$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^6$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^7$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^8$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^9$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{10}$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{11}$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{12}$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{13}$ вирусных геномов/мл, или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{14}$ вирусных геномов/мл.

В описанных выше фармацевтических композициях в качестве рекомбинантных безоболочечных вирусов могут быть использованы гAAV, рекомбинантные аденовирусы и другие типы рекомбинантных безоболочечных вирусов.

Вектор на основе рекомбинантного аденовируса может быть получен с использованием любого вида, штамма, серотипа или любой комбинации видов, штаммов или серотипов аденовируса или химерного аденовируса. Серотипы аденовируса человека включают любой из серотипов 2, 4, 5, 7, 11, 26, 34, 35, 36, 48, 49 или 50 или их комбинации, производные, модификации или псевдотипы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса представляет собой вектор на основе гAAV. Он может быть получен с использованием любого штамма, серотипа AAV (например, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15 и AAV16) или любой комбинации штаммов, серотипов (например, вектор на основе гAAV, который включает два или более серотипов); может содержать капсидный белок (капсид) AAV любого серотипа (AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15 и AAV16) или их комбинации, производные, модификации или псевдотипы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения вектор на основе гAAV содержит капсид AAV5 или AAV9.

В некоторых вариантах осуществления изобретения капсид AAV5 или AAV9 может быть модифицированным.

Вектор на основе гAAV может быть модифицирован генетически и/или химически.

Вектор на основе гAAV может быть генетически модифицирован для создания векторов на основе гAAV с измененными использованием рецептора, антигенностью, эффективностью трансдукции и/или тканевым тропизмом, а также для вставки пептидных лигандов, антител, фрагментов антител, МНС (major histocompatibility complex, главный комплекс гистосовместимости) и/или рецепторов в вирусный капсид. Например, вектор на основе гAAV может быть генетически модифицирован путем введения одной или нескольких аминокислотных мутаций, например, точечных мутаций.

Под «несколькими точечными мутациями» подразумеваются две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять точечных замен.

Особенно предпочтительные варианты включают замены (мутации), которые являются консервативными по природе, т. е. те замены, которые имеют место в семействе аминокислот, которые объединены по их боковым цепям. В частности, аминокислоты обычно делят на четыре семейства: (1) кислые – аспартат и глутамат; (2) основные – лизин,

аргинин, гистидин; (3) неполярные – аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан; и (4) незаряженные полярные – глицин, аспарагин, глутамин, цистеин, серин треонин, тирозин. Фенилаланин, триптофан и тирозин иногда классифицируют как ароматические аминокислоты. Например, достаточно обосновано предсказание о том, что выделенная замена лейцина на изолейцин или валин, аспартата на глутамат, треонина на серин или схожая консервативная замена аминокислоты на структурно родственную аминокислоту не окажет важного влияния на биологическую активность. Например, полипептид, представляющий интерес, может включать вплоть до приблизительно 5-10 консервативных или неконсервативных аминокислотных замен, при условии, что желаемая функция молекулы остается незатронутой.

Вариант точечных мутаций в последовательностях белков VP1, VP2 или VP3 AAV с помощью аминокислотных замен представляет собой замену, по меньшей мере, одного аминокислотного остатка в белке VP1, VP2 или VP3 AAV на другой аминокислотный остаток.

Консервативные замены показаны в таблице А под заголовком «предпочтительные замены».

Таблица А		
Исходный остаток	Примеры замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg(R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn(N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln(Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe(F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala

Ser(S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp(W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Норлейцин	Leu

Например, в международной заявке WO2012/145601 описаны вирионы аденоассоциированного вируса (AAV) с вариантным капсидным белком, где вирионы AAV демонстрируют большую инфекционность ретинальных клеток, когда вводятся интравитреальной инъекцией, по сравнению с AAV дикого типа. В международной заявке WO2013/158879 описан вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV) для доставки субъекту гетерологичной последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей капсидный белок VP1, который содержит одну или несколько замен лизина, где одна замена лизина представляет K137R, где упомянутая замена лизина является эффективной для ингибирования убиквитинилирования упомянутого капсидного белка, и тем самым увеличивается трансдукция упомянутого вектора AAV в клетке-мишени.

Вектор на основе гAAV может быть химически модифицирован для изменения тканевого тропизма. Также химически модифицированные векторы на основе гAAV могут проявлять измененное использование рецептора, антигенность, эффективность трансдукции и / или тканевой тропизм. Для создания химически модифицированных векторов на основе гAAV используются, например, хемоселективные реакции, которые могут быть нацелены на конкретные боковые цепи аминокислот, могут быть использованы для изменения заряда, полярности, гидрофобности и потенциала водородных связей внутри рецепторных связывающих доменов на капсидах AAV.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса по настоящему изобретению предназначена для парентерального введения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса по настоящему изобретению предназначена для внутримышечного, внутривенного или подкожного введения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения указанная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса по настоящему изобретению может быть введена внутривенно в виде инфузии.

Фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса по настоящему изобретению может быть использована после разведения. Для этого необходимое количество композиции из флакона переносят в ёмкость для инфузий, содержащую стерильный 0,9% раствор натрия хлорида или стерильный 5% раствор декстрозы. Приготовленный раствор перемешивают путем осторожного переворачивания емкости для инфузий.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект лечения или пациент является млекопитающим, предпочтительно человеческим субъектом. Вышеупомянутый субъект может быть мужского или женского пола любого возраста.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно хранить в любом подходящем для этого сосуде. Например, стеклянный или полимерный контейнер, флакон, ампула, шприц, картридж или бутылка необходимого объема. Сосуды могут снабжаться дополнительными средствами для введения, например капельницы, автоинжекторы.

Фармацевтическая композиция по данному изобретению может изготавливаться, упаковываться или широко продаваться в виде единичной стандартной дозы или множества единичных стандартных доз в виде готовой лекарственной формы. Используемый в данном документе термин «единичная стандартная доза» означает дискретное количество фармацевтической композиции, содержащей заранее определенное количество активного ингредиента. Количество активного ингредиента обычно равно дозировке активного ингредиента, который будет вводиться субъекту, или удобной части такой дозировки, например, половине или трети такой дозировки.

Фармацевтические композиции можно вводить в виде одного терапевтического средства или в комбинации с дополнительными терапевтическими средствами по мере необходимости. Таким образом, в одном варианте осуществления предлагаемые способы лечения и/или профилактики используют в комбинации с введением терапевтически эффективного количества другого активного средства. Другое активное средство можно вводить до, в течение или после введения фармацевтических композиций по настоящему изобретению. Другое активное средство можно вводить как часть предлагаемой композиции или, альтернативно, в виде отдельного состава.

Примеры

Для наилучшего понимания изобретения приводятся следующие примеры. Эти примеры приведены только в иллюстративных целях и не должны толковаться как ограничивающие сферу применения изобретения в любой форме.

Все публикации, патенты и патентные заявки, указанные в этой спецификации включены в данный документ путем отсылки. Хотя вышеупомянутое изобретение было подробно описано путем иллюстрации и примера в целях исключения двусмысленного толкования, специалистам в данной области на основе идей, раскрытых в данном изобретении, будет понятно, что могут быть внесены определенные изменения и модификации без отклонения от сущности и объема прилагаемых вариантов осуществления изобретения.

Методики

1. Определение тепловых переходов методом дифференциальной сканирующей калориметрии.

Определение тепловых переходов методом дифференциальной сканирующей калориметрии проводили на дифференциальном сканирующем калориметре DSC4000, Perkin Elmer, США, в стальных тиглях с крышками и резиновыми кольцами Perkin Elmer, США. Для испытания использовали 50 мкл образца. В качестве испытуемого раствора использовали раствор вспомогательных веществ или технологический раствор. Температурные переходы исследовали на диапазоне от (25)°С до (-85)°С с шагом в диапазоне 0,5 – 10 °С/мин. Определение температур фазовых переходов проводили с помощью программного обеспечения Pyris Series DSC 4000.

2. Определение содержания воды.

Определение содержания воды проводили методом К.Фишера согласно ГФ РФ ОФС.1.2.3.0002.15.

3. Определение концентрации вирусных геномов (гена GFP) в препарате AAV методом ПЦР.

Концентрацию гена GFP в препарате AAV определяли методом количественной полимеразной цепной реакции, используя прямой, обратный праймер и зонд, конъюгированный с красителем FAM и гасителем BHQ1. Праймеры подобраны к участку гена, кодирующему белок GFP. В ходе пробоподготовки образец сначала обрабатывали ДНКазой для того, чтобы избавиться от остаточной плазмидной ДНК, затем протеиназой для того, чтобы разрушить капсид. Для построения калибровочной прямой использовали лианеризованную плазмиду (pAAV_GFP CellBioLab). Для построения калибровочной прямой зависимости логарифма концентрации от количества циклов (Ct) использовали стандарты с шагом 10. Концентрацию вирусных геномов/мл (вг/мл) или копий/мл в препарате рассчитывали по калибровочной прямой зависимости логарифма концентрации от Ct.

4. Определение концентрации вирусных частиц методом иммуноферментного анализа.

Определение концентрации частиц вирусных векторов (капсидов аденоассоциированного вируса AAV) осуществляли с помощью иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов PROGEN AAV5 titration ELISA и PROGEN AAV9 titration ELISA.

96-луночные планшеты с высоким связыванием покрыты связывающими моноклональными мышинными антителами к капсиду AAV, распознающими конформационный эпитоп конкретного серотипа. Белки капсида AAV связываются с антителами при температурной инкубации, не связавшиеся компоненты образца удаляют с помощью многократной промывки планшета.

В качестве детектирующих антител использовали биотинилированные антитела, которые связываются с белками капсида AAV при температурной инкубации планшета. Не связавшиеся компоненты удаляют с помощью многократной промывки планшета.

Для проявления окраски наносили стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена. Стрептавидин связывается с биотином, не связавшиеся компоненты удаляли с помощью многократной промывки планшета.

В качестве хромогена выступает тетраметилбензидин. При взаимодействии пероксидазы хрена, перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина – развивается цветная реакция. Реакцию ИФА останавливали добавлением стоп раствора (1 н H₂SO₄) и измеряли оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм. Концентрацию частиц вирусных векторов в препарате определяли по калибровочному графику, построенному с использованием данных оптической плотности стандартных растворов с известной концентрацией частиц AAV.

5. Определение функциональной активности препарата на основе рекомбинантного аденоассоциированного вирусного вектора, содержащего ген GFP.

Трансдукционную активность препарата на основе рекомбинантного аденоассоциированного вирусного вектора, содержащего ген GFP, оценивали по экспрессии GFP в трансдуцированных препаратом клетках CHO-K1.

Для трансдукции в день анализа клетки CHO-K1 высевали в 24-луночные планшеты в ростовой среде с антибиотиком (СКО-среда для количественного определения) из расчёта 1×10^4 клеток на см² (19 000 клеток на лунку) и инкубировали при температуре +37 °С в атмосфере с 5% CO₂ в течение 4-8 ч для прикрепления клеток к поверхности пластика. Затем вносили в лунки с клетками испытываемые образцы в трех дозах по три повтора на

каждую. Дозировки препарата (MOI) для каждого серотипа AAV предварительно подбирали таким образом, чтобы получить после трансдукции порядка 5, 10 и 20% GFP-позитивных клеток, соответственно. Объем препарата, необходимый для трансдукции одной лунки, рассчитывали по следующей формуле:

$$V = \frac{MOI \times S \times K}{C},$$

где V – необходимый объем препарата на одну лунку (мл), S – площадь одной лунки (см²), MOI – необходимая доза препарата – множественность инфекции (*multiplicity of infection*) (вг/кл), K – плотность засева клеток в лунках (кл/см²), C – концентрация геном-содержащих капсидов в препарате (вг/мл).

Инкубировали планшеты с трансдуцированными клетками в CO₂ инкубаторе (5 % CO₂, +37 °C) в течение 2 – 3 дней. По истечении срока инкубации из лунок отбирали культуральную жидкость, промывали клетки раствором Хенкса и снимали клетки с пластика с помощью раствора TrypLE (по 150 мкл/лунку). После открепления клеток от пластика вносили в лунки раствор Хенкса (1:1 с TrypLE), собирали клетки в микропробирки на 1,5 мл и центрифугировали 5 мин при 300g. Осадок клеток ресуспендировали в 150 мкл раствора Хенкса. Вносили к каждому образцу, кроме 1 лунки изотипического контроля, по 50 мкл рабочего раствора красителя для определения жизнеспособных клеток в растворе Хенкса и инкубировали клетки 20 мин в темноте при комнатной температуре. Окрашенные клетки центрифугировали 5 минут при 300g, аккуратно отбирали надосадочную жидкость и добавляли по 100 мкл фиксирующего буфера BD Cytotfix. Клетки ресуспендировали и переносили весь объем получившейся взвеси клеток в 96-луночный планшет с V-образным дном для проточного цитометра, инкубировали планшет с клетками 20 мин в темноте при комнатной температуре. По истечении времени инкубации центрифугировали планшет 5 мин при 1200 об/мин, отбирали фиксирующий буфер и промывали клетки Stain Buffer (PBS с 0,1% Натрия азид и 0,5% БСА) по 100 мкл/лунку. Снова центрифугировали и отбирали буфер, после чего вносили по 150 мкл/лунку Stain Buffer и тщательно ресуспендировали клетки.

Анализировали клетки на проточном цитометре. Оценивали жизнеспособность клеток и экспрессию GFP. Рассчитывали для каждой дозы препарата значение ФА или TU (transduction unit)/мл по следующей формуле:

$$TU = \frac{P \times N}{V} \times D,$$

где P – количество GFP-позитивных жизнеспособных клеток в процентах, N – количество исходно посеянных клеток (N=S×K), V – объем внесенного препарата на лунку (мл), D – фактор предразведения препарата.

За конечный результат принимали среднее значение ТУ, рассчитанное по трем дозам препарата.

6. Получение составов.

Получение образцов с целевым содержанием вирусных геномов осуществляли в концентрационных ячейках Stirred Cell (Millipore) под давлением. Для этого раствор, содержащий вирусные частицы, в исходном составе помещали в емкость для диафильтрации, после чего вносили в ячейку не менее чем 10 кратный объем водного раствора с целевым составом, включающим буферные, осмотические агенты и, если необходимо, дополнительные водорастворимые стабилизаторы. По завершении процесса диафильтрации раствор концентрировали до оптической плотности, превышающей целевую, выгружали из установки, определяли точную оптическую плотность методом УФ-спектрофотометрии и концентрацию вирусных геномов методом ПЦР. Затем к образцу вносили соответствующий раствор вспомогательных веществ для получения раствора с целевым содержанием вирусных геномов.

Также получение образцов растворов, содержащих вирусные частицы, проводили в кассетах Pellicon (Millipore) в режиме тангенциального потока. Для этого раствор в исходном составе помещали в емкость для диафильтрации, после чего к системе подключали подачу не менее чем 10 кратного объема раствора с целевым составом, содержащим буферные, осмотические агенты и, если необходимо, дополнительные водорастворимые стабилизаторы. Допускается внесение концентрата осмотических агентов и водорастворимых стабилизаторов после завершения диафильтрации. По завершении процесса диафильтрации раствор концентрировали до оптической плотности, превышающей целевую, выгружали из системы и определяли точные значения оптической плотности и концентрации вирусных геномов. Затем к образцу вносили соответствующий раствор вспомогательных веществ для получения раствора с целевым содержанием вирусных геномов.

При получении составов, содержащих солибутилизаторы, концентраты поверхностно-активных веществ вносили к раствору после завершения диафильтрации и концентрирования при финальном разведении раствором вспомогательных веществ до целевого содержания вирусных геномов.

Перед асептическим наполнением в конечный контейнер (например, стеклянный или полимерный сосуд, флакон или шприц) раствор фильтровали через мембрану с размером пор 0.22 мкм.

Пример 1. Лиофилизация составов.

Проводили лиофильную сушку составов по рецепту: Заморозка - время до 300 минут, температура до -70°C . Первичная сушка - время до 4000 мин, температура до -40°C до 40°C . Вакуум от 0 мбар до 0,25 мбар. Вторичная сушка - время до 4000 мин, температуры от 0°C до 40°C . Вакуум от 0 до 0,25 мбар. На каждом из этапов – одна и более стадий.

Пример 2. Выбор составов для оптимизации режима сушки.

Оптимизация была направлена на сокращение длительности процесса лиофильной сушки, а также снижение содержания остаточной воды в лиофилизате. Для этого предложена апробация ряда составов с дальнейшей оценкой температуры стеклования.

Известно, что добавление натрия хлорида в состав способствует снижению температуры стеклования состава (Electrolyte-induced changes in glass transition temperature of freeze-concentrated solutes, *Pharmaceutical Research*, vol.12, no.5, 1995). Однако данный компонент является эффективным стабилизатором для вирусных частиц, препятствует их агрегации и не может быть исключен из состава (Pharmaceutical Development of AAV-Based Gene Therapy Products for the Eye. Gerard A. Rodrigues & Evgenyi Shalaev & Thomas K. Karami & James Cunningham & Nigel K. H. Slater & Hongwen M. Rivers, *Pharm Res* (2019) 36: 29).

Наиболее эффективный процесс сушки проходит при установке и поддержании температуры полки лиофильной установки на верхних пределах стабильности системы и продукта. Таким образом, следует задать температуру на несколько градусов ниже температуры коллапса. Коллапс определяется как процесс, при котором структуры, созданные в ходе сублимационной сушки, разрушаются при прохождении границы сублимационного раздела фаз. Это может привести не только к изменению функциональных свойств лиофилизата, но и к снижению эффективности сублимационной сушки по причине перекрытия путей испарения, в результате влага удерживается и распределяется неравномерно.

Полученная субстанция в конечном растворе вспомогательных веществ представляет собой аморфную смесь. Температура стеклования - температура, при которой не кристаллизующееся или не успевающее закристаллизоваться вещество становится твёрдым, переходя в стеклообразное состояние. Как правило, температура коллапса растворов на $1 - 3^{\circ}\text{C}$ выше температуры стеклования. Таким образом, чем выше температура стеклования, тем более высокую температуру можно установить на полках и, следовательно, ускорить процесс лиофильной сушки.

В скрининг были взяты следующие вспомогательные вещества: трис(гидроксиметил)аминометан (буферный агент, поддержание необходимого уровня pH), хлорид натрия (стабилизатор, осмолитик), хлорид магния гексагидрат (стабилизатор),

трегалозы дигидрат (стабилизатор, осмолитик, лиопротектор), полоксамер р188 (солубилизатор), поливинилпирролидон К-30 (стабилизатор), поливинилпирролидон К-90 (стабилизатор), сульфобутилэфир-бета-циклодекстрин натриевая соль (стабилизатор, лиопротектор), гидроксипропил-бета-циклодекстрин (стабилизатор, лиопротектор), L-гистидин (буферный агент, поддержание необходимого уровня рН, стабилизатор), L-аргинин (буферный агент, поддержание необходимого уровня рН, стабилизатор).

Результаты температуры стеклования исследуемых растворов вспомогательных веществ представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Температура стеклования для разных составов.

№	Фармацевтическая композиция	T _g , °C
1	Трис(гидроксиэтил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Трегалозы дигидрат - 150 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	-35,55
2	Трис(гидроксиэтил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Трегалозы дигидрат - 50 мг/мл Сульфобутилэфир-бета-циклодекстрин натриевая соль - 100 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	-37,83
3	Трис(гидроксиэтил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Сульфобутилэфир-бета-циклодекстрин натриевая соль - 150 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	-41,37
4	Трис(гидроксиэтил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Поливинилпирролидон К-30 - 150 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	-28,65
5	Трис(гидроксиэтил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Поливинилпирролидон К-90 - 60 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	-38,69
6	Трис(гидроксиэтил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Трегалозы дигидрат - 50 мг/мл	-26,37

№	Фармацевтическая композиция	T _g , °C
	Гидроксипропил-бета-циклодекстрин - 100 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	
7	Трис(гидроксиметил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Поливинилпирролидон К-90 - 60 мг/мл Трегалозы дигидрат - 90 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	-31,10
8	Трис(гидроксиметил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Гидроксипропил-бета-циклодекстрин - 150 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	-20,52
9	Трис(гидроксиметил)аминометан - 7,26 мг/мл Хлорид Натрия - 13,14 мг/мл Хлорид Магния гексагидрат - 1,22 мг/мл Трегалозы дигидрат - 50 мг/мл Полоксамер р188 - 1,5 мг/мл Кислота хлористоводородная - до рН 7,5	-37,15

Согласно полученным результатам, было обнаружено, что гидроксипропил-бета-циклодекстрин достоверно повышает температуру стеклования смеси, содержащей натрия хлорид.

Дальнейшая разработка была направлена на определение оптимального соотношения содержания трегалозы дигидрата, гидроксипропил-бета-циклодекстрина и натрия хлорида, а также оценку применимости буферного раствора на основе L-гистидина и L-аргинина для получения лиофильной формы. Исследование проводили для образцов, содержащих примерно 1×10^{11} вг/мл рекомбинантного AAV5, содержащего ген GFP, в формате полного трехфакторного эксперимента для смесей (mixture design) с двумя уровнями и тремя повторами центральной точки. В качестве количественных факторов исследовали концентрацию трегалозы дигидрата (от 0.0 до 100.0 мг/мл), натрия хлорида (от 3.0 до 12.0 мг/мл) и концентрацию гидроксипропил-бета-циклодекстрина (от 0.0 до 100.0 мг/мл). Полоксамер 188 (в диапазоне 0,05 – 2,0 мг/мл) и магния хлорид гексагидрат (в диапазоне 0,15 – 0,70 мг/мл) не оказывают статистически значимого влияния на температуру стеклования.

Результаты эксперимента представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты эксперимента для составов на основе AAV5 в концентрации 1×10^{11} вг/мл

№	Концентрация вспомогательного вещества в составе				T _g , °C
	Трегалозы дигидрат, мг/мл	Натрия хлорид, мг/мл	Гидроксипропил-бета-циклодекстрин, мг/мл	Буферный раствор, мл ¹	
10	0	3,0	0	до 1,0	-34,58
11	100,0	3,0	0	до 1,0	-35,07
12	0	12,0	0	до 1,0	-40,78
13	100,0	12,0	0	до 1,0	-43,29
14	0	3,0	100,0	до 1,0	-16,77
15	100,0	3,0	100,0	до 1,0	-25,48
16	0	12,0	100,0	до 1,0	-27,98
17	100,0	12,0	100,0	до 1,0	-29,92
18	50,0	7,5	50,0	до 1,0	-31,72
19	50,0	7,5	50,0	до 1,0	-30,88
20	50,0	7,5	50,0	до 1,0	-31,04

¹ Состав буферного раствора: L-гистидин - 2,79 мг/мл; L-аргинин - 0,348 мг/мл; хлорид магния гексагидрат - 0,203 мг/мл; полоксамер p188 – 0,5 мг/мл.

Полученные данные обрабатывали в программном обеспечении MODDE.

Согласно полученным результатам, состав № 14 (L-гистидин – 2,79 мг/мл; L-аргинин – 0,348 мг/мл; магния хлорид гексагидрат – 0,203 мг/мл; полоксамер p188 – 0,5 мг/мл; натрия хлорид – 3,0 мг/мл; гидроксипропил-бета-циклодекстрин – 100,0 мг/мл) показал максимальную температуру стеклования.

Далее была проведена оценка влияния процесса лиофильной сушки на вирусные частицы рекомбинантного AAV5 и рекомбинантного AAV9, содержащих ген GFP, установления рабочего диапазона по концентрации вирусных частиц, а также сравнительной оценки применимости буферных растворов на основе L-аргинина, L-гистидина и трис(гидрокси метил)аминометана для получения лиофильной формы. Данные представлены для композиций, перечисленных в таблице 4.

Таблица 4 – Перечень составов для проведения лиофильной сушки

Компонент	Состав 21	Состав 22	Состав 23	Состав 24	Состав 25	Состав 26
AAV5 или AAV9	1×10^{11} вг/мл	1×10^{11} вг/мл	1×10^{11} вг/мл	1×10^{11} вг/мл	1×10^{11} вг/мл	1×10^{11} вг/мл

L-гистидин	2,79 мг/мл	2,79 мг/мл	2,79 мг/мл	-	-	-
L-аргинин	0,348 мг/мл	0,348 мг/мл	0,348 мг/мл	-	-	-
Хлорид натрия	6,0 мг/мл	4,5 мг/мл	3,0 мг/мл	6,0 мг/мл	4,5 мг/мл	3,0 мг/мл
Хлорид магния гексагидрат	0,203 мг/мл	0,203 мг/мл	0,203 мг/мл	0,203 мг/мл	0,203 мг/мл	0,203 мг/мл
Трегалозы дигидрат	-	25 мг/мл	50 мг/мл	-	25 мг/мл	50 мг/мл
Гидроксипропил-бета- циклодекстрин	100 мг/мл	100 мг/мл	100 мг/мл	100 мг/мл	100 мг/мл	100 мг/мл
Полоксамер р188	0,5 мг/мл	0,5 мг/мл	0,5 мг/мл	0,5 мг/мл	0,5 мг/мл	0,5 мг/мл
Трис(гидроксиметил) аминометан	-	-	-	2,42 мг/мл	2,42 мг/мл	2,42 мг/мл
Кислота хлористоводородная	-	-	-	до рН 7,5	до рН 7,5	до рН 7,5

Результаты контроля качества лиофилизатов на основе ААV5 и ААV9 представлены в таблицах 5, 6.

Таблица 5 – Результаты контроля качества лиофилизатов на основе ААV5

№	T ^г , °C	Гидродина мический радиус, нм	Концентра ция (ПЦР), вг/мл	Концентра ция (ИФА), частиц/мл	Активность, ФА/мл	Вода, %	Время восстановления, сек
21	-21,51	10,1	2,1×10 ¹¹	2,6×10 ¹¹	5,6×10 ⁶	1,03	Менее 10
22	-20,88	9,7	2,5×10 ¹¹	3,1×10 ¹¹	6,2×10 ⁶	0,98	Менее 10
23	-21,13	10,5	2,4×10 ¹¹	2,8×10 ¹¹	5,3×10 ⁶	1,01	Менее 10
24	-21,32	11,3	1,8×10 ¹¹	2,0×10 ¹¹	3,6×10 ⁶	0,84	Менее 10
25	-20,03	9,8	3,0×10 ¹¹	3,6×10 ¹¹	7,0×10 ⁶	0,92	Менее 10
26	-20,84	10,0	3,1×10 ¹¹	3,4×10 ¹¹	6,8×10 ⁶	1,10	Менее 10

Таблица 6 – Результаты контроля качества лиофилизатов на основе ААV9

№	T ^г , °C	Гидродина мический радиус, нм	Концентра ция (ПЦР), вг/мл	Концентра ция (ИФА), частиц/ мл	Активность, ФА/мл	Вода, %	Время восстановления, сек
21	-21,92	17,3	2,6×10 ¹¹	3,0×10 ¹¹	3,5×10 ⁶	1,39	Менее 10
22	-20,76	16,9	3,4×10 ¹¹	3,9×10 ¹¹	3,0×10 ⁶	1,21	Менее 10
23	-21,64	16,7	2,9×10 ¹¹	3,2×10 ¹¹	5,1×10 ⁶	1,13	Менее 10
24	-21,12	15,6	2,5×10 ¹¹	2,9×10 ¹¹	3,9×10 ⁶	1,09	Менее 10
25	-20,25	17,1	2,9×10 ¹¹	3,3×10 ¹¹	5,0×10 ⁶	1,12	Менее 10
26	-20,66	17,3	2,7×10 ¹¹	3,2×10 ¹¹	4,3×10 ⁶	1,09	Менее 10

Показано, что все исследуемые составы пригодны для получения лиофильной лекарственной формы. Содержание воды во всех исследуемых образцах не превышает 1.4 %, время восстановления лиофилизатов не превышает 10 сек, при этом время лиофильной сушки составляет всего 48 часов. После восстановления не наблюдается падения титра и функциональной активности образцов.

Далее составы были наработаны с разным содержанием вирусных геномов. Результаты контроля качества лиофилизатов на основе AAV5 и AAV9 при разном содержании вирусных геномов представлены в таблице 7. Данные представлены для состава № 25.

Таблица 7 – Результаты контроля качества лиофилизатов на основе AAV5 и AAV9 при разном содержании вирусных геномов

№	T _г , °C	Концентрация (ПЦР), вг/мл	Концентрация (ИФА), частиц/мл	Активность, ФА/мл	Вода, %	Время восстановления, сек
AAV5						
25-1	-24,03	1,9×10 ⁹	2,2×10 ⁹	3,6×10 ⁴	1,53	Менее 10
25-2	-20,11	2,6×10 ¹²	3,0×10 ¹²	5,2×10 ⁷	1,00	Менее 10
25-3	-19,50	9,0×10 ¹³	9,4×10 ¹³	7,3×10 ⁸	0,89	Менее 10
AAV9						
25-4	-24,25	3,2×10 ⁹	3,6×10 ⁹	2,9×10 ⁴	1,33	Менее 10
25-5	-20,59	2,7×10 ¹²	3,1×10 ¹²	5,5×10 ⁷	0,98	Менее 10
25-6	-18,37	8,7×10 ¹³	9,2×10 ¹³	7,0×10 ⁹	0,87	Менее 10

Дополнительно для оценки возможности лиофилизации 3-кратно концентрированных растворов были получены предлиофилизационные композиции для AAV5 и AAV9, представленные в таблицах 8 и 9. Результаты контроля полученных образцов после восстановления лиофилизатов представлены в таблице 10.

Таблица 8 – Концентрированные составы AAV5 (№ 27) и AAV9 (№ 28) на основе трис(гидроксиметил)аминометана

Компонент	Предлиофилизационный раствор	3-кратно концентрированный предлиофилизационный раствор	Восстановленный раствор
AAV5 или AAV9	1×10 ¹¹ вг/мл	3×10 ¹¹ вг/мл	1×10 ¹¹ вг/мл
Хлорид натрия	4,38 мг/мл	13,14 мг/мл	4,38 мг/мл
Хлорид магния гексагидрат	0,203 мг/мл	0,609 мг/мл	0,203 мг/мл
Трегалозы дигидрат	33,3 мг/мл	100,0 мг/мл	33,3 мг/мл

Гидроксипропил-бета-циклодекстрин	33,3 мг/мл	100,0 мг/мл	33,3 мг/мл
Полоксамер р188	0,5 мг/мл	1,5 мг/мл	0,5 мг/мл
Трис(гидроксиметил)аминометан	2,42 мг/мл	7,26 мг/мл	2,42 мг/мл
Кислота хлористоводородная	до рН 7,5	до рН 7,5	до рН 7,5

Таблица 9 – Концентрированные составы AAV5 (№ 29) и AAV9 (№ 30) на основе L-гистидина и L-аргинина

Компонент	Предлиофилизационный раствор	3-кратно концентрированный предлиофилизационный раствор	Восстановленный раствор
AAV5 или AAV9	1×10^{11} вг/мл	3×10^{11} вг/мл	1×10^{11} вг/мл
Хлорид натрия	4,38 мг/мл	13,14 мг/мл	4,38 мг/мл
Хлорид магния гексагидрат	0,203 мг/мл	0,609 мг/мл	0,203 мг/мл
Трегалозы дигидрат	33,3 мг/мл	100,0 мг/мл	33,3 мг/мл
Гидроксипропил-бета-циклодекстрин	33,3 мг/мл	100,0 мг/мл	33,3 мг/мл
Полоксамер р188	0,5 мг/мл	1,5 мг/мл	0,5 мг/мл
L-Гистидин	2,79 мг/мл	8,37 мг/мл	2,79 мг/мл
L-аргинин	0,348 мг/мл	1,044 мг/мл	0,348 мг/мл

Таблица 10 – Результаты контроля восстановленных лиофилизатов, полученных из концентрированных предлиофилизационных растворов AAV5 и AAV9 (восстановленных в трехкратном объеме растворителя)

№	Концентрация (ПЦР), вг/мл	Концентрация (ИФА), частиц/мл	Активность, ФА/мл	Вода, %	Время восстановления, сек
AAV5					
27	$1,8 \times 10^{11}$	$2,0 \times 10^{11}$	$3,5 \times 10^6$	1,02	Менее 10
29	$2,2 \times 10^{11}$	$2,5 \times 10^{11}$	$2,9 \times 10^6$	1,24	Менее 10
AAV9					
28	$2,3 \times 10^{11}$	$2,7 \times 10^{11}$	$3,2 \times 10^6$	1,10	Менее 10
30	$1,6 \times 10^{11}$	$1,8 \times 10^{11}$	$3,1 \times 10^6$	1,16	Менее 10

Далее составы были наработаны для концентрации примерно 1×10^{11} вирусных геномов (копий) в мл (в пересчете на предлиофилизационный состав) и заложены на исследование стабильности.

Результаты исследования стабильности для состава № 25 представлены в таблицах 11, 12.

Таблица 11 – Результаты исследования стабильности лиофилизата на основе AAV5 (состав № 25)

Точка хранения	Гидродинамический радиус, нм	Концентрация (ПЦР), вг/мл	Концентрация (ИФА), частиц/мл	Активность, ФА/мл	Вода, %	Время восстановления, сек
Долгосрочное исследование стабильности (хранение при температуре 2 – 8 °С)						
1 мес	11,3	$2,6 \times 10^{11}$	$3,0 \times 10^{11}$	$6,1 \times 10^6$	0,96	Менее 10
2 мес	11,0	$2,3 \times 10^{11}$	$2,8 \times 10^{11}$	$5,5 \times 10^6$	1,27	Менее 10
3 мес	12,2	$2,7 \times 10^{11}$	$3,2 \times 10^{11}$	$4,9 \times 10^6$	1,11	Менее 10
6 мес	11,8	$2,2 \times 10^{11}$	$2,6 \times 10^{11}$	$6,3 \times 10^6$	1,08	Менее 10
Ускоренное исследование стабильности (хранение при температуре (25 ± 2) °С и относительной влажности (60 ± 5) %)						
1 мес	11,1	$2,2 \times 10^{11}$	$2,7 \times 10^{11}$	$5,8 \times 10^6$	1,00	Менее 10
2 мес	11,8	$2,7 \times 10^{11}$	$3,2 \times 10^{11}$	$4,9 \times 10^6$	1,16	Менее 10
3 мес	11,3	$1,8 \times 10^{11}$	$2,1 \times 10^{11}$	$4,5 \times 10^6$	1,33	Менее 10
6 мес	12,0	$2,3 \times 10^{11}$	$2,7 \times 10^{11}$	$5,3 \times 10^6$	1,10	Менее 10

Таблица 12 – Результаты исследования стабильности лиофилизата на основе AAV9 (состав № 25)

Точка хранения	Гидродинамический радиус, нм	Концентрация (ПЦР), вг/мл	Концентрация (ИФА), частиц/мл	Активность, ФА/мл	Вода, %	Время восстановления, сек
Долгосрочное исследование стабильности (хранение при температуре 2 – 8 °С)						
1 мес	17,0	$3,6 \times 10^{11}$	$3,9 \times 10^{11}$	$4,5 \times 10^6$	1,12	Менее 10
2 мес	17,2	$2,7 \times 10^{11}$	$3,2 \times 10^{11}$	$4,0 \times 10^6$	1,45	Менее 10
3 мес	16,6	$2,4 \times 10^{11}$	$3,0 \times 10^{11}$	$4,7 \times 10^6$	1,50	Менее 10
6 мес	17,9	$3,1 \times 10^{11}$	$3,6 \times 10^{11}$	$3,8 \times 10^6$	1,13	Менее 10
Ускоренное исследование стабильности (хранение при температуре (25 ± 2) °С и относительной влажности (60 ± 5) %)						
1 мес	17,3	$2,8 \times 10^{11}$	$3,1 \times 10^{11}$	$4,3 \times 10^6$	1,30	Менее 10
2 мес	16,7	$2,1 \times 10^{11}$	$2,6 \times 10^{11}$	$5,0 \times 10^6$	1,15	Менее 10
3 мес	16,9	$1,7 \times 10^{11}$	$2,0 \times 10^{11}$	$4,8 \times 10^6$	1,33	Менее 10
6 мес	16,2	$1,8 \times 10^{11}$	$2,2 \times 10^{11}$	$4,0 \times 10^6$	1,25	Менее 10

Таким образом, были разработаны стабильные составы лиофилизатов, характеризующиеся меньшей длительностью процесса лиофильной сушки и низким содержанием остаточной воды. Разработанные композиции могут быть применимы для аденоассоциированных и других типов безоболочечных вирусов.

Формула изобретения

1. Фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, содержащая:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,**
- (ii) буферный агент,**
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин,**
- (iv) поверхностно-активное вещество,**
- (v) натрия хлорид,**
- (vi) магния хлорид,**
- (vii) воду для инъекций.**

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где буферный агент представляет собой трис(гидроксиметил)аминометан и хлористоводородную кислоту.

3. Фармацевтическая композиция по п. 2, где трис(гидроксиметил)аминометан содержится в концентрации 1,9 – 8,7 мг/мл.

4. Фармацевтическая композиция по п. 2, где хлористоводородная кислота добавлена до pH 6,0 – 8,0.

5. Фармацевтическая композиция по п. 1, где буферный агент представляет собой L-гистидин и L-аргинин.

6. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-гистидин содержится в концентрации 0,4 – 10,0 мг/мл.

7. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-аргинин содержится в концентрации 0,05 – 10,0 мг/мл.

8. Фармацевтическая композиция по п. 1, где гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 10,0 – 200,0 мг/мл.

9. Фармацевтическая композиция по п. 1, где поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 0,01 – 2,0 мг/мл.

10. Фармацевтическая композиция по п. 1, где поверхностно-активное вещество представляет собой полоксамер 188.

11. Фармацевтическая композиция по п. 1, где натрия хлорид содержится в концентрации 1,0 – 15,0 мг/мл.

12. Фармацевтическая композиция по п. 1, где магния хлорид содержится в концентрации 0,05 – 1,0 мг/мл.

13. Фармацевтическая композиция по п. 1, где магния хлорид представляет собой магния хлорида гексагидрат.
14. Фармацевтическая композиция по п. 1, дополнительно содержащая дисахарид.
15. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид содержится в концентрации 10,0 – 200,0 мг/мл.
16. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид представляет собой трегалозу.
17. Фармацевтическая композиция по п. 16, где трегалоза представляет собой трегалозы дигидрат.
18. Фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая:
- | | |
|--|---------------------|
| (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, | |
| (ii) буферный агент, представляющий собой | |
| трис(гидроксиметил)аминометан | 1,9 – 8,7 мг/мл и |
| хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0 |
| или | |
| L-гистидин | 0,4 – 10,0 мг/мл и |
| L-аргинин | 0,05 – 10,0 мг/мл, |
| (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин | 10,0 – 200,0 мг/мл, |
| (iv) поверхностно-активное вещество | 0,01 – 2,0 мг/мл, |
| (v) натрия хлорид | 1,0 – 15,0 мг/мл, |
| (vi) магния хлорид | 0,05 – 1,0 мг/мл, |
| (vii) воду для инъекций | до 1,0 мл. |
19. Фармацевтическая композиция по п. 2, где трис(гидроксиметил)аминометан содержится в концентрации 1,9 – 3,0 мг/мл.
20. Фармацевтическая композиция по п. 2, где трис(гидроксиметил)аминометан содержится в концентрации 2,42 мг/мл.
21. Фармацевтическая композиция по п. 2, где трис(гидроксиметил)аминометан содержится в концентрации 5,7 – 8,7 мг/мл.
22. Фармацевтическая композиция по п. 2, где трис(гидроксиметил)аминометан содержится в концентрации 7,26 мг/мл.
23. Фармацевтическая композиция по п. 2, где хлористоводородная кислота добавлена до pH 7,0 – 8,0.

24. Фармацевтическая композиция по п. 2, где хлористоводородная кислота добавлена до pH 7,5.
25. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-гистидин содержится в концентрации 2,0 – 3,58 мг/мл.
26. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-гистидин содержится в концентрации 2,79 мг/мл.
27. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-гистидин содержится в концентрации 6,0 – 10,0 мг/мл.
28. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-гистидин содержится в концентрации 8,37 мг/мл.
29. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-аргинин содержится в концентрации 0,248 – 0,448 мг/мл.
30. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-аргинин содержится в концентрации 0,348 мг/мл.
31. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-аргинин содержится в концентрации 0,744 – 1,344 мг/мл.
32. Фармацевтическая композиция по п. 5, где L-аргинин содержится в концентрации 1,044 мг/мл.
33. Фармацевтическая композиция по п. 1, где гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 30,0 – 70,0 мг/мл.
34. Фармацевтическая композиция по п. 1, где гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 50,0 мг/мл.
35. Фармацевтическая композиция по п. 1, где гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 90,0 – 200,0 мг/мл.
36. Фармацевтическая композиция по п. 1, где гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 100,0 мг/мл.
37. Фармацевтическая композиция по п. 1, где поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 0,01 – 0,1 мг/мл.
38. Фармацевтическая композиция по п. 18, где поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 0,05 мг/мл.
39. Фармацевтическая композиция по п. 1, где поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 0,1 – 1,0 мг/мл.
40. Фармацевтическая композиция по п. 1, где поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 0,5 мг/мл.

41. Фармацевтическая композиция по п. 1, где поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 1,0 – 2,0 мг/мл.
42. Фармацевтическая композиция по п. 1, где поверхностно-активное вещество содержится в концентрации 1,5 мг/мл.
43. Фармацевтическая композиция по п. 1, где поверхностно-активное вещество представляет собой полоксамер 188.
44. Фармацевтическая композиция по п. 1, где натрия хлорид содержится в концентрации 1,0 – 6,0 мг/мл.
45. Фармацевтическая композиция по п. 1, где натрия хлорид содержится в концентрации 3,0 мг/мл.
46. Фармацевтическая композиция по п. 1, где натрия хлорид содержится в концентрации 4,38 мг/мл.
47. Фармацевтическая композиция по п. 1, где натрия хлорид содержится в концентрации 4,5 мг/мл.
48. Фармацевтическая композиция по п. 1, где натрия хлорид содержится в концентрации 6,0 мг/мл.
49. Фармацевтическая композиция по п. 1, где натрия хлорид содержится в концентрации 9,0 – 15,0 мг/мл.
50. Фармацевтическая композиция по п. 1, где натрия хлорид содержится в концентрации 13,14 мг/мл.
51. Фармацевтическая композиция по п. 1, где магния хлорид содержится в концентрации 0,15 – 0,50 мг/мл.
52. Фармацевтическая композиция по п. 1, где магния хлорид содержится в концентрации 0,203 мг/мл.
53. Фармацевтическая композиция по п. 1, где магния хлорид содержится в концентрации 0,5 – 0,7 мг/мл.
54. Фармацевтическая композиция по п. 1, где магния хлорид содержится в концентрации 0,609 мг/мл.
55. Фармацевтическая композиция по п. 1, где магния хлорид представляет собой магния хлорида гексагидрат.
56. Фармацевтическая композиция по п. 18, дополнительно содержащая дисахарид в концентрации 10 – 200 мг/мл.
57. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид содержится в концентрации 30,0 – 70,0 мг/мл.

58. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид содержится в концентрации 90,0 – 200,0 мг/мл.

59. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид содержится в концентрации 25,0 мг/мл.

60. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид содержится в концентрации 33,3 мг/мл.

61. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид содержится в концентрации 50,0 мг/мл.

62. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид содержится в концентрации 100,0 мг/мл.

63. Фармацевтическая композиция по п. 14, где дисахарид представляет собой трегалозу.

64. Фармацевтическая композиция по п. 63, где трегалоза представляет собой трегалозы дигидрат.

65. Фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая:

(i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,

(ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и

хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0

или

L-гистидин 2,79 мг/мл и

L-аргинин 0,348 мг/мл,

(iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 100,0 мг/мл,

(iv) поверхностно-активное вещество,

представляющее собой полоксамер 188 0,5 мг/мл,

(v) натрия хлорид 6,0 мг/мл,

(vi) магния хлорид 0,203 мг/мл,

(vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

66. Фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая:

(i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,

(ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан 2,42 мг/мл и

хлористоводородную кислоту до pH 6,0 – 8,0

- или
- | | |
|---|--------------|
| L-гистидин | 2,79 мг/мл и |
| L-аргинин | 0,348 мг/мл, |
| (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин | 100,0 мг/мл, |
| (iv) поверхностно-активное вещество,
представляющее собой полоксамер 188 | 0,5 мг/мл, |
| (v) натрия хлорид | 4,5 мг/мл, |
| (vi) магния хлорид | 0,203 мг/мл, |
| (vii) воду для инъекций | до 1,0 мл и |
| (viii) дополнительно дисахарид, представляющий
собой трегалозу | 25,0 мг/мл. |
67. Фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая:
- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
- | | |
|-------------------------------|-----------------|
| трис(гидроксиметил)аминометан | 2,42 мг/мл и |
| хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0 |
- или
- | | |
|---|--------------|
| L-гистидин | 2,79 мг/мл и |
| L-аргинин | 0,348 мг/мл, |
| (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин | 100,0 мг/мл, |
| (iv) поверхностно-активное вещество,
представляющее собой полоксамер 188 | 0,5 мг/мл, |
| (v) натрия хлорид | 3,0 мг/мл, |
| (vi) магния хлорид | 0,203 мг/мл, |
| (vii) воду для инъекций | до 1,0 мл и |
| (viii) дополнительно дисахарид, представляющий
собой трегалозу | 50,0 мг/мл. |
68. Фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая:
- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой
- | | |
|-------------------------------|-----------------|
| трис(гидроксиметил)аминометан | 2,42 мг/мл и |
| хлористоводородную кислоту | до pH 6,0 – 8,0 |
- или

	L-гистидин	2,79 мг/мл и
	L-аргинин	0,348 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	33,3 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	0,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	4,38 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,203 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	33,3 мг/мл.

69. Фармацевтическая композиция по п. 1, содержащая:

(i)	вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,	
(ii)	буферный агент, представляющий собой трис(гидроксиметил)аминометан	7,26 мг/мл и
	хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
	или	
	L-гистидин	8,37 мг/мл и
	L-аргинин	1,044 мг/мл,
(iii)	гидроксипропил-бета-циклодекстрин	100,0 мг/мл,
(iv)	поверхностно-активное вещество, представляющее собой полоксамер 188	1,5 мг/мл,
(v)	натрия хлорид	13,14 мг/мл,
(vi)	магния хлорид	0,609 мг/мл,
(vii)	воду для инъекций	до 1,0 мл и
(viii)	дополнительно дисахарид, представляющий собой трегалозу	100,0 мг/мл.

70. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 66-70, где трегалоза представляет собой трегалозы дигидрат.

71. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 65-70, где магния хлорид представляет собой магния хлорида гексагидрат.

72. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 65-70, где хлористоводородная кислота добавлена до pH 7,5.

73. Фармацевтическая композиция по п. 1, где вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса содержится в концентрации $1,0 \cdot 10^9$ – $1,0 \cdot 10^{14}$ вирусных геномов/мл.

74. Фармацевтическая композиция по п. 1, где вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса содержится в концентрации $1,0 \cdot 10^9$ – $1,0 \cdot 10^{13}$ вирусных геномов/мл.

75. Фармацевтическая композиция по п. 1, где вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса содержится в концентрации $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^9$ вирусных геномов/мл, $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{10}$ вирусных геномов/мл, $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{11}$ вирусных геномов/мл, $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{12}$ вирусных геномов/мл, $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{13}$ вирусных геномов/мл или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{14}$ вирусных геномов/мл.

76. Фармацевтическая композиция по п. 1, где вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса представляет собой вектор на основе гAAV.

77. Фармацевтическая композиция по п. 76, где вектор на основе гAAV содержит капсид AAV5 серотипа или AAV9 серотипа.

78. Фармацевтическая композиция по п. 77, где капсид AAV5 серотипа или AAV9 серотипа может быть модифицированным.

79. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-78, которая является пригодной для лиофилизации.

80. Лيوфилизируемая фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, полученная лиофилизацией фармацевтической композиции по любому из пп. 1-79.

81. Лيوфилизируемая фармацевтическая композиция по п. 80, предназначенная для приготовления раствора для инъекций.

82. Лيوфилизируемая фармацевтическая композиция по п. 80, предназначенная для приготовления раствора для внутримышечного, внутривенного или подкожного введения.

83. Лيوфилизируемая фармацевтическая композиция по п. 80, где лиофилизируемая фармацевтическая композиция находится во флаконе.

84. Лيوфилизируемая фармацевтическая композиция по п. 80, где флакон представляет собой стеклянный или полимерный флакон.

85. Лيوфилизируемая фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса, которая после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,**
- (ii) буферный агент,**
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин,**
- (iv) поверхностно-активное вещество,**
- (v) натрия хлорид,**
- (vi) магния хлорид,**
- (vii) воду для инъекций.**

86. Лиофилизированная фармацевтическая композиция вектора на основе рекомбинантного безоболочечного вируса по п. 85, которая после восстановления в водном растворителе содержит:

- (i) вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса,
- (ii) буферный агент, представляющий собой

трис(гидроксиметил)аминометан	1,9 – 3,0 мг/мл и
хлористоводородную кислоту	до pH 6,0 – 8,0
или	
L-гистидин	0,4 – 10,0 мг/мл и
L-аргинин	0,05 – 10,0 мг/мл,
- (iii) гидроксипропил-бета-циклодекстрин 20,0 – 100,0 мг/мл,
- (iv) поверхностно-активное вещество 0,01 – 1,0 мг/мл,
- (v) натрия хлорид 1,0 – 6,0 мг/мл,
- (vi) магния хлорид 0,05 – 1,0 мг/мл,
- (vii) воду для инъекций до 1,0 мл.

87. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где трис(гидроксиметил)аминометан содержится в концентрации 2,42 мг/мл.

88. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где хлористоводородная кислота добавлена до pH 7,5.

89. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где L-гистидин содержится в концентрации 2,79 мг/мл.

90. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где L-аргинин содержится в концентрации 0,348 мг/мл.

91. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 33,3 мг/мл.

92. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где гидроксипропил-бета-циклодекстрин содержится в концентрации 100,0 мг/мл.
93. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где поверхностно активное вещество содержится в концентрации 0,05 мг/мл.
94. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где поверхностно активное вещество содержится в концентрации 0,5 мг/мл.
95. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где поверхностно активное вещество представляет собой полоксамер 188.
96. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где натрия хлорид содержится в концентрации 3,0 мг/мл.
97. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где натрия хлорид содержится в концентрации 4,38 мг/мл.
98. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где натрия хлорид содержится в концентрации 4,5 мг/мл.
99. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где натрия хлорид содержится в концентрации 6,0 мг/мл.
100. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где магния хлорида содержится в концентрации 0,203 мг/мл.
101. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где магния хлорид является магния хлорида гексагидратом.
102. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, дополнительно содержащая дисахарид.
103. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 102, где дисахарид содержится в концентрации 20 – 100 мг/мл.
104. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 102, где дисахарид содержится в концентрации 25,0 мг/мл.
105. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 102, где дисахарид содержится в концентрации 33,3 мг/мл.
106. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 102, где дисахарид содержится в концентрации 50,0 мг/мл.
107. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 102, где дисахарид представляет собой трегалозу.
108. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 107, где трегалоза является трегалозы дигидратом.

109. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса содержится в концентрации $1,0 \cdot 10^9$ – $1,0 \cdot 10^{14}$ вирусных геномов/мл.

110. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса содержится в концентрации $1,0 \cdot 10^9$ – $1,0 \cdot 10^{13}$ вирусных геномов/мл.

111. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса содержится в концентрации $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{11}$ вирусных геномов/мл, $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{10}$ вирусных геномов/мл, $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{11}$ вирусных геномов/мл, $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{12}$ вирусных геномов/мл, $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{13}$ вирусных геномов/мл или $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{14}$ вирусных геномов/мл.

112. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 85, где вектор на основе рекомбинантного безоболочечного вируса представляет собой вектор на основе rAAV.

113. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 112, где вектор на основе rAAV содержит капсид AAV5 серотипа или AAV9 серотипа.

114. Лиофилизированная фармацевтическая композиция по п. 113, где капсид AAV5 серотипа или AAV9 серотипа может быть модифицированным.