

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202490953** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2024.07.29**

(22) Дата подачи заявки  
**2022.10.14**

(51) Int. Cl. *A61K 9/19* (2006.01)  
*A61K 47/02* (2006.01)  
*A61K 47/18* (2006.01)  
*A61K 47/26* (2006.01)  
*A61P 7/04* (2006.01)  
*A61K 47/10* (2006.01)

---

(54) **СОСТАВЫ НА ОСНОВЕ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ ФАКТОР VIII, И  
ВАРИАНТЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) **63/256,432**

(32) **2021.10.15**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/078097**

(87) **WO 2023/064886 2023.04.20**

(71) Заявитель:

**БАЙОВЕРТИВ ТЕРАПЬЮТИКС  
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Карлэйдж Тайлер, Молдин Рэндалл,  
Маккой Тимоти Р., Тази Лубна  
Мзалак (US)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) Настоящее изобретение предусматривает фармацевтические композиции на основе химерного белка, содержащего полипептид, представляющий собой фактор VIII (FVIII), и полипептид, представляющий собой фактор фон Виллебранда (VWF). Также раскрыты фармацевтические наборы и способы применения раскрытых фармацевтических композиций для лечения гемофилии А.

**A1**

**202490953**

**202490953**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580681EA/042

### СОСТАВЫ НА ОСНОВЕ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ ФАКТОР VIII, И ВАРИАНТЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

#### РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 63/256432, поданной 15 октября 2021 г., содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

#### ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

[0002] Содержание перечня последовательностей, поданного в электронном виде в формате файла XML (название: SA9-483PC\_SL\_ST26.xml; размер: 55697 байт; создан: 4 октября 2022 г.), включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

#### ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Гемофилия А представляет собой нарушение свертываемости крови, вызванное дефектами гена, кодирующего фактор коагуляции VIII (FVIII), и поражает 1-2 из 10000 новорожденных мальчиков. Graw *et al.*, *Nat. Rev. Genet.* 6(6): 488-501 (2005). Пациентов, страдающих гемофилией А, можно подвергать лечению посредством инфузий FVIII, очищенного из плазмы крови, или FVIII, полученного рекомбинантным путем. Известно, что многие коммерчески доступные продукты FVIII характеризуются периодом полужизни приблизительно 8-12 часов, что требует частого внутривенного введения пациентам. См. Weiner M.A. and Cairo, M.S., *Pediatric Hematology Secrets*, Lee, M.T., 12. *Disorders of Coagulation*, Elsevier Health Sciences, 2001; Lillicrap, D. *Thromb. Res.* 122 Suppl 4:S2-8 (2008). Кроме того, был опробован ряд подходов для продления периода полужизни FVIII. Например, разрабатываемые подходы для продления периода полужизни факторов свертывания крови включают пегилирование, гликопегилирование и конъюгирование с альбумином. См. Dumont *et al.*, *Blood.* 119(13): 3024-3030 (2012). Достоверные результаты были продемонстрированы у людей, например, сообщалось, что rFVIII<sub>Fc</sub> улучшает период полужизни вплоть до ~1,7 раза по сравнению с ADVATE<sup>®</sup> у пациентов с гемофилией А. См. Powell *et al.*, *Blood.* 119(13): 3031-3037 (2012). Следовательно, увеличения периода полужизни, несмотря на незначительные улучшения, указывают на присутствие других факторов, ограничивающих период полужизни, таких как выведение с помощью VWF. Pipe *et al.*, *Blood.* 128(16):2007-2016 (2016)).

[0004] Эфанесоктоког-альфа (также известный как Efa и BIVV001) представляет собой слитый белок, предназначенный для отделения рекомбинантного фактора свертывания крови VIII от VWF в кровотоке. Химерный белок содержит один белок, представляющий собой рекомбинантный фактор VIII, слитый с димерным Fc, домен D'D3 VWF и два полипептида ELNN. Chhabra *et al.* *Blood* 135(17): 1484-1496 (2020). В одном раннем исследовании с участием пациентов с тяжелой формой гемофилии А однократная

внутривенная инъекция эфанесоктокога-альфа приводила к устойчивым высоким уровням активности фактора VIII, период полужизни которого вплоть до четыре-кратно превышал период полужизни, ассоциированный с рекомбинантным фактором VIII. См. Konkle et al., *NEJM*. 383:1018-27 (2020).

[0005] Однако сохраняется потребность в улучшенных фармацевтических композициях.

#### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Настоящее изобретение относится, среди прочего, к фармацевтическим композициям, содержащим белок, представляющий собой фактор VIII ("FVIII"), наборам, содержащим такие фармацевтические композиции, а также терапевтическим способам и вариантам применения таких фармацевтических композиций.

[0007] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит химерный белок или белок, который содержит первую полипептидную цепь, которая содержит белок FVIII или его часть, и первую константную область иммуноглобулина ("Ig") или ее часть, и вторую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор фон Виллебранда ("VWF"), и вторую константную область Ig или ее часть. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит (i) белок FVIII, содержащий полипептид FVIII, полипептид ELNN, встроенный в домен В (например, заменяющий по меньшей мере часть домена В) полипептида FVIII, и первую Fc-область; и (ii) белок VWF, содержащий фрагмент VWF (например, фрагмент, содержащий домены D'D3 VWF, при этом данный фрагмент может содержать мутации), второй полипептид ELNN, расщепляемый тромбином линкер (такой как линкер a2) и вторую область Fc. В некоторых вариантах осуществления химерный белок, раскрытый в данном документе, представляет собой гетеродимер FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc.

[0008] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит: (a) белок FVIII; (b) от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 7,5% (вес/об.) сахарозы; (c) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина; (d) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина; (e) от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция и (f) от приблизительно 0,01% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.) полоксамера. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит: (a) белок FVIII; (b) от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 7,5% (вес/об.) сахарозы; (c) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ L-гистидина; (d) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ L-аргинина; (e) от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция и (f) от приблизительно 0,01% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.) полоксамера. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит: (a) белок, представляющий собой фактор VIII ("FVIII"); (b) от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 7,5% (вес/об.) сахарозы; (c) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ L-гистидина; (d) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ L-аргинина-HCl; (e) от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ

дигидрата хлорида кальция и (f) от приблизительно 0,008% (вес/об.) до приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера.

[0009] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит приблизительно 250 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит приблизительно 250 мМ L-аргинина-HCl. В некоторых вариантах осуществления полоксамер представляет собой полоксамер 188 (полоксамер 188, который также известен как P188). Полоксамер 188 хорошо известен из уровня техники.

[0010] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

(a) химерный белок, содержащий первую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор VIII ("FVIII"), и первую константную область иммуноглобулина ("Ig") или ее часть, и вторую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор фон Виллебранда ("VWF"), и вторую константную область Ig или ее часть;

(b) от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 7,5% (вес/об.) сахарозы;

(c) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина;

(d) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина;

(e) от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция и

(f) от приблизительно 0,01% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.) полоксамера 188.

[0011] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 250 МЕ, 500 МЕ, 1000 МЕ, 2000 МЕ, 3000 МЕ или 4000 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит более чем приблизительно 250 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит более чем приблизительно 300 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит более чем приблизительно 500 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере приблизительно 500 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит более чем приблизительно 85 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит более чем приблизительно 100 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит более чем приблизительно 200 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере приблизительно 200 МЕ/мл химерного белка.

[0012] В некоторых вариантах осуществления первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 1, и вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, при этом первая полипептидная цепь и вторая полипептидная цепь ковалентно связаны двумя дисульфидными связями между C-



доменами в первой и второй полипептидных цепях. В некоторых вариантах осуществления химерный белок представляет собой эфанесоктоког-альфа.

[0013] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полоксамер 188 (P188). В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,01% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.) полоксамера 188.

[0014] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина;
- (c) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина;
- (d) от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция и
- (e) от приблизительно 0,01% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.)

полоксамера 188.

[0015] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 1%, 2% или 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ аргинина;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и
- (e) приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

[0016] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ L-гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и
- (e) приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

[0017] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 2% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ L-гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ L-аргинина-HCl;

- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и
- (e) приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

[0018] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 1% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ L-гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ L-аргинина-НСl;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и
- (e) приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

[0019] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 40 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) от 0,4 мг/мл до 0,9 мг/мл хлорида кальция и
- (e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188.

[0020] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0021] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 22,45 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0022] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 22,45 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0023] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;

- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0024] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0025] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 40 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) от 0,5 мг/мл до 0,9 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл поллоксамера 188.

[0026] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 50 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл поллоксамера 188.

[0027] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 20 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл поллоксамера 188.

[0028] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 20 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) приблизительно 0,6 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл поллоксамера 188.

[0029] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта

фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 20 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 43,6 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

[0030] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 43,6 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,6 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

[0031] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

[0032] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,6 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

[0033] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 43,6 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

[0034] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 43,6 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,6 мг/мл хлорида кальция и

(е) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

[0035] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 50 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) от 0,7 мг/мл до 0,9 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188.

[0036] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 50 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) от 0,4 мг/мл до 0,8 мг/мл хлорида кальция и
- (e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188.

[0037] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 40 мг/мл до 60 мг/мл L-аргинина;
- (d) от 0,7 мг/мл до 0,9 мг/мл хлорида кальция и
- (e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188.

[0038] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 40 мг/мл до 60 мг/мл L-аргинина;
- (d) от 0,4 мг/мл до 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188.

[0039] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0040] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 22,45 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;

- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полуксамера 188.

[0041] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 22,45 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полуксамера 188.

[0042] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 22,45 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полуксамера 188.

[0043] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 22,45 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полуксамера 188.

[0044] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полуксамера 188.

[0045] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полуксамера 188.

[0046] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полуксамера 188.

[0047] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полуксамера 188.

[0048] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция в соответствии с любым из раскрытых вариантов осуществления, которая дополнительно характеризуется рН, составляющим от приблизительно 6,5 до приблизительно 7,5. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,0. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 6,8. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция не содержит NaCl. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция содержит менее 8,8 мг/мл хлорида натрия (NaCl). В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция содержит L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция содержит L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция содержит аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0049] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция в соответствии с любым из раскрытых вариантов осуществления, где фармацевтическая композиция характеризуется концентрацией химерного белка, составляющей от приблизительно 0,8 до приблизительно 1,2 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция содержит от 75 МЕ/мл до 2000 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция характеризуется осмоляльностью, составляющей от приблизительно 525 до приблизительно 725 мОсм/кг. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция характеризуется осмоляльностью,

составляющей от приблизительно 500 до приблизительно 650 мОсм/кг. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция характеризуется осмоляльностью, составляющей от приблизительно 600 до приблизительно 650 мОсм/кг. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция характеризуется мутностью, составляющей менее приблизительно 7 нефелометрических единиц мутности (NTU).

[0050] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыт способ хранения фармацевтической композиции, включающий поддержание фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе, при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию хранят при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию хранят при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию хранят при температуре приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 или 12 месяцев.

[0051] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция хранилась при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция хранилась при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция хранилась при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода по меньшей мере приблизительно 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция хранилась при температуре приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 или 12 месяцев.

[0052] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 2-5 раз. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 2 раза. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута



оттаиванию 3 раза. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 4 раза. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 5 раз.

[0053] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,5 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,5 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2 мг/мл химерного белка.

[0054] Также в данном документе раскрыт способ лечения гемофилии А у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят самостоятельно. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят внутривенно в дозе, составляющей от приблизительно 20 МЕ/кг до приблизительно 70 МЕ/кг. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят внутривенно в дозе, составляющей приблизительно 50 МЕ/кг. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят внутривенно один раз в 7-10 дней. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят внутривенно один раз в неделю.

[0055] Также в данном документе раскрыт фармацевтический набор, содержащий:  
(i) первый контейнер, который содержит лиофилизированную фармацевтическую композицию, содержащую:

(a) химерный белок, содержащий первую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор VIII ("FVIII"), или его часть, и первую константную область иммуноглобулина ("Ig") или ее часть, и вторую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор фон Виллебранда ("VWF"), и вторую константную область Ig или ее часть;

(b) от приблизительно 10 мг до приблизительно 200 мг сахарозы;

(c) от приблизительно 2,5 мг до приблизительно 7,5 мг гистидина;

- (d) от приблизительно 140 мг до приблизительно 200 мг аргинина;
- (e) от приблизительно 1,5 мг до приблизительно 5 мг хлорида кальция и
- (f) от приблизительно 1 мг до приблизительно 10 мг поллоксамера 188, и
- (ii) второй контейнер, содержащий стерильную воду.

[0056] В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит первую полипептидную цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 1, и вторую полипептидную цепь, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, при этом первая полипептидная цепь и вторая полипептидная цепь ковалентно связаны двумя дисульфидными связями между Fc-доменами в первой и второй полипептидных цепях.

[0057] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор, раскрытый в данном документе, содержит лиофилизированную фармацевтическую композицию, содержащую:

- (a) от приблизительно 10 мг до приблизительно 200 мг сахарозы;
- (b) от приблизительно 2,5 мг до приблизительно 7,5 мг гистидина;
- (c) от приблизительно 140 мг до приблизительно 200 мг аргинина;
- (d) от приблизительно 1,5 мг до приблизительно 5 мг хлорида кальция и
- (e) от приблизительно 1 мг до приблизительно 10 мг поллоксамера 188.

[0058] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит лиофилизированную фармацевтическую композицию, которая не содержит NaCl. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит менее 8,8 мг/мл хлорида натрия (NaCl). В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0059] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит лиофилизированную фармацевтическую композицию, содержащую:

- (a) приблизительно 33,7 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,2 мг L-гистидина;
- (c) приблизительно 177,3 мг L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 2,5 мг хлорида кальция и
- (e) приблизительно 3,4 мг поллоксамера 188.

[0060] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит лиофилизированную фармацевтическую композицию, содержащую:

- (a) приблизительно 67,3 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,2 мг L-гистидина;

- (с) приблизительно 177,3 мг L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 2,5 мг хлорида кальция и
- (е) приблизительно 3,4 мг поллоксамера 188.

[0061] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит лиофилизированную фармацевтическую композицию, содержащую:

- (a) приблизительно 67,3 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,2 мг L-гистидина;
- (с) приблизительно 146,6 мг L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 2,5 мг хлорида кальция и
- (е) приблизительно 3,4 мг поллоксамера 188.

[0062] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит лиофилизированную фармацевтическую композицию, содержащую:

- (a) приблизительно 168,3 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,2 мг L-гистидина;
- (с) приблизительно 177,3 мг L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 2,5 мг хлорида кальция и
- (е) приблизительно 3,4 мг поллоксамера 188.

[0063] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит лиофилизированную фармацевтическую композицию, характеризующуюся содержанием влаги менее 2%. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция характеризуется содержанием влаги менее 1,8%. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция характеризуется содержанием влаги менее 1,6%. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция находится в виде лиофилизированной массы. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная масса является белой. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная масса характеризуется значением менее Y4 по цветовой шкале Европейской Фармакопеи. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция представляет собой порошок.

[0064] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит первый контейнер, содержащий от 100 МЕ до 10000 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит 250 МЕ, 500 МЕ, 1000 МЕ, 2000 МЕ, 3000 МЕ или 4000 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит более чем приблизительно 250 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит более чем приблизительно 300 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит более чем приблизительно 500 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит по меньшей мере приблизительно 500 МЕ химерного белка.

[0065] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор

дополнительно содержит инструкции по объединению лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды лиофилизированная фармацевтическая композиция восстанавливается за 7-12 секунд.

[0066] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция предусматривает второй контейнер, содержащий стерилизованную воду в объеме, достаточном для получения при объединении с лиофилизированным порошком первого контейнера раствора, содержащего:

[0067] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды осмоляльность полученного в результате раствора составляет от приблизительно 525 до приблизительно 725 мОсм/кг. В некоторых вариантах осуществления раскрытая в данном документе фармацевтическая композиция характеризуется осмоляльностью, составляющей от приблизительно 500 до приблизительно 650 мОсм/кг. В некоторых вариантах осуществления осмоляльность полученного в результате раствора составляет от приблизительно 600 до приблизительно 650 мОсм/кг. В некоторых вариантах осуществления рН полученного в результате раствора составляет от приблизительно 6,5 до приблизительно 7,5. В некоторых вариантах осуществления рН полученного в результате раствора составляет приблизительно 7,0. В некоторых вариантах осуществления рН полученного в результате раствора составляет приблизительно 6,8. В некоторых вариантах осуществления мутность полученного в результате раствора составляет менее приблизительно 7 нефелометрических единиц мутности (NTU). В некоторых вариантах осуществления концентрация белка в полученном в результате раствора составляет от приблизительно 0,8 до приблизительно 1,2 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления менее 3% белка является агрегированным.

[0068] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит второй контейнер, содержащий стерилизованную воду в объеме, достаточном для получения при объединении с лиофилизированной фармацевтической композицией первого контейнера раствора, содержащего:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 40 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) от 0,5 мг/мл до 0,9 мг/мл хлорида кальция и
- (e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полксамера 188.

[0069] В некоторых вариантах осуществления фармацевтического набора, раскрытого в данном документе, при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;

(с) от 40 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина-НСl;

(d) от 0,5 мг/мл до 0,9 мг/мл хлорида кальция и

(е) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188.

[0070] В некоторых вариантах осуществления фармацевтического набора, раскрытого в данном документе, при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) 11,23 мг/мл сахарозы;

(b) 1,74 мг/мл L-гистидина;

(с) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;

(d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и

(е) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0071] В некоторых вариантах осуществления фармацевтического набора, раскрытого в данном документе, при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) 22,45 мг/мл сахарозы;

(b) 1,74 мг/мл L-гистидина;

(с) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;

(d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и

(е) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0072] В некоторых вариантах осуществления фармацевтического набора, раскрытого в данном документе, при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) 22,45 мг/мл сахарозы;

(b) 1,74 мг/мл L-гистидина;

(с) 48,88 мг/мл L-аргинина;

(d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и

(е) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0073] В некоторых вариантах осуществления фармацевтического набора, раскрытого в данном документе, при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) 56,12 мг/мл сахарозы;

(b) 1,74 мг/мл L-гистидина;

(с) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;

(d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и

(е) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0074] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит второй контейнер, содержащий от приблизительно 2 до приблизительно 5 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит второй контейнер, содержащий приблизительно 3 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит второй контейнер, содержащий

приблизительно 3,3 мл стерильной воды.

[0075] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранят при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранят при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранят при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранят при температуре приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 или 12 месяцев.

[0076] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранился при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранился при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранился при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранился при температуре приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 или 12 месяцев.

[0077] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит первый контейнер, который представляет собой стеклянный флакон, содержащий резиновую пробку. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор содержит второй контейнер, который представляет собой корпус шприца. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода находится в корпусе шприца. В некоторых вариантах осуществления корпус шприца ассоциирован с поршнем. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор дополнительно содержит адаптер для присоединения стеклянного флакона к корпусу шприца. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор дополнительно содержит систему для инфузии, ассоциированную с иглой, предназначенной для присоединения к корпусу шприца, подходящего для внутривенной инфузии.

[0078] Также в данном документе раскрыт способ лечения гемофилии А у субъекта, нуждающегося в этом, включающий объединение лиофилизированной

фармацевтической композиции и стерильной воды из фармацевтического набора в соответствии с любым из вариантов осуществления, раскрытых в данном документе, и введение субъекту эффективного количества полученной в результате комбинации (т. е. раствора). В некоторых вариантах осуществления субъект объединяет лиофилизированную фармацевтическую композицию и стерильную воду из набора. В некоторых вариантах осуществления комбинация вводится субъектом самостоятельно.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0079] На фиг. 1 представлено схематическое изображение эфанесоктокога-альфа, иллюстративного гетеродимера FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc. FVIII: фактор VIII; VWF: фактор фон Виллебранда; A1, A2, A3, C1, C2: домены FVIII; D'D3: домены VWF; Fc: Fc-область константной области иммуноглобулина.

[0080] На фиг. 2 показаны уровни агрегации (%HMWS) с течением времени (часы) при условиях комнатной температуры (RT)/комнатного освещения (RL) для композиций на основе лекарственного вещества (DS), представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), содержащих либо 0,05% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и либо 1%, либо 5% (вес/об.) сахарозы. Также представлены значения скорости изменения уровней агрегации (наклон) (% в час).

[0081] На фиг. 3 показаны уровни агрегации (%HMWS) с течением времени (часы) при температуре 2-8<sup>0</sup> С для композиций на основе лекарственного вещества (DS), представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), содержащих либо 0,05% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и либо 1%, либо 5% (вес/об.) сахарозы. Также представлены значения скорости изменения уровней агрегации (наклон) (% в час).

[0082] На фиг. 4 показаны уровни агрегации (%HMWS) для композиций на основе лекарственного вещества (DS), представляющего собой эфанесоктоког-альфа, полученных в текучем состоянии путем разбавления до 4000 МЕ нерасфасованного лекарственного продукта через 7 часов и содержащих либо 0,05% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и либо 1%, либо 5% (вес/об.) сахарозы. Образцы хранили при RT и тестировали через 0, 5, 7, 25, 43 и 55 часов. Образцы также тестировали после лиофилизации (после лиофил.).

[0083] На фиг. 5 показано исследование стабильности при хранении в замороженном состоянии, в ходе которого измеряли уровни агрегации (%HMWS) для композиций на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), содержащих 0,05% (вес/об.) PS80 в качестве поверхностно-активного вещества. Композиции, содержащие 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, выдерживали при температурах заморозания (-80<sup>0</sup> С или -30<sup>0</sup> С). Моментами времени, в которые осуществляли измерения, являлись: до замораживания, начало эксперимента (T0), один месяц (T1M), 3 месяца (T3M) и 6 месяцев (T6M).

[0084] На фиг. 6 показано исследование стабильности при хранении в замороженном состоянии, в ходе которого измеряли уровни агрегации (%HMWS) для

композиций на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества. Композиции, содержащие 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, выдерживали при температурах заморзания ( $-80^{\circ}\text{C}$  или  $-30^{\circ}\text{C}$ ). Моментами времени, в которые осуществляли измерения, являются: до замораживания, начало эксперимента ( $T_0$ ), один месяц ( $T_{1M}$ ), 3 месяца ( $T_{3M}$ ) и 6 месяцев ( $T_{6M}$ ).

[0085] На фиг. 7 показаны результаты анализа композиций на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), посредством тестирования частиц с использованием высокоточного счетчика частиц в жидкости (НІАС). Композиции на основе DS, содержащие 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, хранили при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  и оценивали в следующие моменты времени: до замораживания, начало эксперимента ( $T_0$ ), один месяц ( $T_{1M}$ ), 3 месяца ( $T_{3M}$ ) и 6 месяцев ( $T_{6M}$ ). Результаты для частиц размером  $\geq 10$  мкм показаны на фиг. 7А. Результаты для частиц размером  $\geq 25$  мкм показаны на фиг. 7В.

[0086] На фиг. 8 показаны уровни агрегации (%HMWS) для композиций на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyo DP), содержащего 250 МЕ эфанесоктокога-альфа, и содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества. Тестировали композиции на основе Lyo DP, содержащие 1% или 5% вес/об. сахарозы. Образцы выдерживали при температуре  $5^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$  или  $40^{\circ}\text{C}$  и тестировали в момент времени  $T_0$ , через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца и 6 месяцев. Результаты показаны на фиг. 8А ( $5^{\circ}\text{C}$ ), фиг. 8В ( $30^{\circ}\text{C}$ ) и фиг. 8С ( $40^{\circ}\text{C}$ ).

[0087] На фиг. 9 показаны уровни агрегации (%HMWS) для композиций на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyo DP), содержащего 4000 МЕ эфанесоктокога-альфа, и содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества. Тестировали композиции на основе Lyo DP, содержащие 1% или 5% вес/об. сахарозы. Образцы выдерживали при температуре  $5^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$  или  $40^{\circ}\text{C}$  и тестировали в момент времени  $T_0$ , через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца и 6 месяцев. Результаты показаны на фиг. 9А ( $5^{\circ}\text{C}$ ), фиг. 9В ( $30^{\circ}\text{C}$ ) и фиг. 9С ( $40^{\circ}\text{C}$ ).

[0088] На фиг. 10 показаны уровни агрегации (%HMWS) для композиций на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), до (перед замораживанием) и после стрессового воздействия в виде замораживания/оттаивания (F/T) при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  или  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение 5 циклов (5X) (не менее чем 24 часа, оттаивание при комнатной температуре). На фиг. 10 показаны результаты для композиций на основе DS, содержащих 0,05% (вес/об.) PS80 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы.

[0089] На фиг. 11 показаны уровни агрегации (%HMWS) для композиций на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), до (перед замораживанием) и после стрессового воздействия в виде замораживания/оттаивания (F/T) при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  или  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение 5 циклов (5X) (не менее чем 24 часа, оттаивание при комнатной температуре). На фиг. 11 показаны результаты для композиций на основе DS, содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы.



[0090] На фиг. 12 показан анализ концентрации белка посредством определения A280 (поглощения при 280 нм) при различных концентрациях сахарозы в композициях на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), после стрессового воздействия в виде F/T. Образцы анализировали до (перед замораживанием) и после осуществления 1, 3 или 5 циклов F/T. Результаты для композиций на основе DS, содержащих 0,05% (вес/об.) PS80 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, показаны на фиг. 12А. Результаты для композиций на основе DS, содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, показаны на фиг. 12В.

[0091] На фиг. 13 показан анализ pH после стрессового воздействия в виде F/T для композиций на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, содержащих либо 0,05% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы. pH измеряли после осуществления 0, 1, 3 или 5 циклов F/T.

[0092] На фиг. 14 показаны температура стеклования ( $T_g$ ) и остаточное содержание влаги (%) в начале эксперимента ( $T_0$ ) для композиций на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyо DP), содержащего 250 МЕ эфанесоктокога-альфа. Тестировали композиции на основе Lyо DP, содержащие либо 0,05% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы.

[0093] На фиг. 15 показаны температура стеклования ( $T_g$ ) и остаточное содержание влаги (%) в начале эксперимента ( $T_0$ ) для композиций на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyо DP), содержащего 4000 МЕ эфанесоктокога-альфа. Тестировали композиции на основе Lyо DP, содержащие либо 0,05% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы.

[0094] На фиг. 16 показана температура стеклования ( $T_g$ ) для композиций на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyо DP), содержащего 4000 МЕ или 250 МЕ эфанесоктокога-альфа, и содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и либо 5%, либо 1% (вес/об.) сахарозы. Образцы выдерживали при температуре 5° С, 30° С или 40° С и тестировали в момент времени  $T_0$ , через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца и 6 месяцев. Результаты показаны на фиг. 16А (5° С), фиг. 16В (30° С) и фиг. 16С (40° С).

[0095] На фиг. 17 показана температура стеклования ( $T_g$ ) для жидких композиций на основе нерасфасованного лекарственного продукта (BDP), содержащего 250 МЕ или 4000 МЕ эфанесоктокога-альфа, и содержащих либо 0,05% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы.

[0096] На фиг. 18 показано остаточное содержание влаги (%) в композициях на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyо DP), содержащего 4000 МЕ или 250 МЕ эфанесоктокога-альфа. Тестировали композиции на основе Lyо DP, содержащие 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 1% или 5% (вес/об.) сахарозы. Образцы выдерживали при температуре 5° С, 30° С или

40° С и тестировали в момент времени T<sub>0</sub>, через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца и 6 месяцев. Результаты показаны на фиг. 18А (5° С), фиг. 18В (30° С) и фиг. 18С (40° С).

[0097] На фиг. 19 показаны уровни агрегации (%HMWS) после стрессового воздействия в виде замораживания/оттаивания (F/T) для композиций на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа (концентрация: >2 мг/мл), содержащих повышенные концентрации аргинина (Arg). В тестируемых композициях концентрация аргинина составляла 100, 125, 150, 175, 200 и 250 мМ. В каждом столбце представлены повторные инъекции из того же флакона после оттаивания в течение 30 минут при RT. Измеряемые временные точки представляли собой момент времени сразу после оттаивания, а также моменты времени через 40, 80, 120 и 160 минут после оттаивания.

[0098] На фиг. 20 показана средняя концентрация (нг/мл) эфанесоктокога-альфа с течением времени, определенная с помощью ELISA после однократной болюсной IV-инъекции композиции, содержащей либо PS80, либо P188. Среда-носитель 1: 10 мМ L-гистидина, 250 мМ аргинин-HCl, 5 мМ хлорида кальция, 5% сахарозы (вес/об.), 0,05% полисорбата 80. Среда-носитель 2: 10 мМ L-гистидина, 250 мМ аргинин-HCl, 5 мМ хлорида кальция, 5% сахарозы (вес/об.), 0,1% полуксамера-188

[0099] На фиг. 21 показана средняя активность в отношении FVIII (мМЕ/мл) для эфанесоктокога-альфа с течением времени, определенная с помощью хромогенного анализа после однократной болюсной IV-инъекции композиции, содержащей либо PS80, либо P188. Среда-носитель 1: 10 мМ L-гистидина, 250 мМ аргинин-HCl, 5 мМ хлорида кальция, 5% сахарозы (вес/об.), 0,05% полисорбата 80. Среда-носитель 2: 10 мМ L-гистидина, 250 мМ аргинин-HCl, 5 мМ хлорида кальция, 5% сахарозы (вес/об.), 0,1% полуксамера 188.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0100] Настоящее изобретение направлено, среди прочего, на составы (включая водные и лиофилизированные составы, а также родственные наборы), содержащие белки FVIII. В некоторых вариантах осуществления белок FVIII представляет собой химерный белок FVIII, такой как эфанесоктоког-альфа, содержащий два полипептида, т. е. первый полипептид, содержащий белок FVIII, который содержит вставку первой полипептидной последовательности ELNN, слитой с первой Fc-областью, и второй полипептид, содержащий белок VWF, слитый со второй константной областью Ig посредством второй полипептидной последовательности ELNN, при этом первая полипептидная последовательность ELNN содержит приблизительно 288 аминокислот, и вторая полипептидная последовательность ELNN содержит приблизительно 144 аминокислоты, и при этом первая константная область Ig и вторая константная область Ig ковалентно связаны между собой дисульфидными связями.

[0101] Настоящее изобретение предусматривает составы (включая водные и лиофилизированные составы, а также соответствующие наборы) для химерного белка химерного белка, содержащего: (i) полипептид, представляющий собой фактор VIII (FVIII), и (ii) фрагмент фактора фон Виллебранда (VWF), содержащий домен D' VWF и

домен D3 VWF. В данный документ включены композиции, которые могут быть лиофилизированы, а также композиции, образуемые при восстановлении лиофилизированных составов разбавителем. Также предусмотрены терапевтические способы и варианты применения.

#### I. Определения

[0102] Следует отметить, что форма единственного числа объекта относится к одному или нескольким таким объектам; например, под "нуклеотидной последовательностью" понимают одну или несколько нуклеотидных последовательностей. В связи с этим формы единственного числа, термины "один или несколько" и "по меньшей мере один" могут использоваться в данном документе взаимозаменяемо.

[0103] Кроме того, "и/или" при использовании в данном документе следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим или без него. Таким образом, подразумевается, что термин "и/или", используемый в данном документе в таком выражении, как "А и/или В", включает "А и В", "А или В", "А" (отдельно) и "В" (отдельно). Аналогично, подразумевается, что термин "и/или", используемый в таком выражении, как "А, В и/или С", охватывает каждый из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно) и С (отдельно).

[0104] Следует понимать, что во всех случаях, когда аспекты описываются в данном документе с формулировкой "содержащий", также предусмотрены другие аналогичные аспекты, описываемые терминами "состоящий из" и/или "состоящий по сути из".

[0105] Если не определено иное, то все используемые в данном документе технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно понимает средний специалист в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Например, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press и Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press могут обеспечить специалиста общим словарем, содержащим многие термины используемые в настоящем изобретении.

[0106] Единицы измерения, приставки и символы обозначены в их форме, принятой согласно Международной системе единиц (SI). Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Если не указано иное, аминокислотные последовательности записаны слева направо в направлении от amino- к карбокси-концу. Приведенные в данном документе заголовки не являются ограничением различных аспектов настоящего изобретения. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определяются посредством ссылки на настоящее описание во всей его полноте.

[0107] Термин "приблизительно" используется в данном документе в значении

примерно, порядка, около или ориентировочно. Если термин "приблизительно" используется в сочетании с числовым диапазоном, то он модифицирует данный диапазон, расширяя границы выше и ниже изложенных числовых значений. В целом, термин "приблизительно" может модифицировать числовое значение, делая его большим или меньшим заявленного значения, с отклонением, например, на 10 процентов, вверх или вниз (выше или ниже). В некоторых вариантах осуществления термин обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 10\%$ ,  $\pm 5\%$ ,  $\pm 4\%$ ,  $\pm 3\%$ ,  $\pm 2\%$ ,  $\pm 1\%$ ,  $\pm 0,9\%$ ,  $\pm 0,8\%$ ,  $\pm 0,7\%$ ,  $\pm 0,6\%$ ,  $\pm 0,5\%$ ,  $\pm 0,4\%$ ,  $\pm 0,3\%$ ,  $\pm 0,2\%$ ,  $\pm 0,1\%$ ,  $\pm 0,05\%$  или  $\pm 0,01\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 10\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 5\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 4\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 3\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 2\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 1\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,9\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,8\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,7\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,6\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,5\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,4\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,3\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,1\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,05\%$ . В некоторых вариантах осуществления "приблизительно" обозначает отклонение от указанного числового значения на  $\pm 0,01\%$ .

[0108] В зависимости от контекста термины "полинуклеотид" или "нуклеотид" могут охватывать единственное число, нуклеиновая кислота, а также множественное число, нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой выделенную молекулу нуклеиновой кислоты или конструкцию, например информационную РНК (mRNA) или плазмидную ДНК (pDNA). В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит традиционную сложную фосфодиэфирную связь. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит нетрадиционную связь (например, амидную связь, такую как обнаруженная в пептидных

нуклеиновых кислот (PNA)). Термин "нуклеиновая кислота" может относиться к любому одному или нескольким сегментам нуклеиновой кислоты, например фрагментам ДНК или РНК, присутствующим в полинуклеотиде. Под "выделенными" нуклеиновой кислотой или полинуклеотидом подразумевается молекула нуклеиновой кислоты, ДНК или РНК, которая была извлечена из ее нативного окружения. Например, рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий полипептидный фактор VIII, который содержится в векторе, в рамках настоящего изобретения считают выделенным. Дополнительные примеры выделенного полинуклеотида включают рекомбинантные полинуклеотиды, содержащиеся в гетерологичных клетках-хозяевах или очищенные (частично или по существу) от других полинуклеотидов в растворе. Выделенные молекулы РНК включают РНК-транскрипты полинуклеотидов по настоящему изобретению, полученные *in vivo* или *in vitro*. Выделенные полинуклеотиды или нуклеиновые кислоты в соответствии с настоящим изобретением дополнительно включают такие молекулы, полученные путем синтеза. Кроме того, полинуклеотид или нуклеиновая кислота могут содержать регуляторные элементы, такие как промоторы, энхансеры, сайты связывания рибосом или сигналы терминации транскрипции.

[0109] Определенные белки, секретируемые клетками млекопитающих, ассоциированы с секреторным сигнальным пептидом, отщепляющимся от зрелого белка после начала экспорта растущей белковой цепи через гранулярный эндоплазматический ретикулум. Средним специалистам в данной области известно, что сигнальные полипептиды обычно слиты с N-концом полипептида и отщепляются от полного или "полноразмерного" полипептида с образованием секретируемой или "зрелой" формы полипептида. В некоторых вариантах осуществления применяют нативный сигнальный пептид или функциональное производное такой последовательности, которое сохраняет способность к управлению секрецией полипептида, функционально ассоциированного с ним. В качестве альтернативы можно применять гетерологичный сигнальный пептид млекопитающего, например, тканевой активатор плазминогена (ТРА) человека или сигнальный пептид  $\beta$ -глюкуронидазы мыши или его функциональное производное.

[0110] Подразумевается, что используемый в данном документе термин "полипептид" охватывает "полипептид" в единственном числе, а также "полипептиды" во множественном числе и относится к молекуле, состоящей из мономеров (аминокислот), линейно соединенных амидными связями (также известными как пептидные связи). Термин "полипептид" относится к любой цепи или цепям из двух или более аминокислот и не относится к конкретной длине продукта. Таким образом, пептиды, дипептиды, трипептиды, олигопептиды, "белок", "аминокислотная цепь" или любой другой термин, используемый для обозначения цепи или цепей из двух или более аминокислот, включены в определение "полипептида", и термин "полипептид" можно использовать вместо любого из этих терминов или взаимозаменяемо с любым из них. Также подразумевается, что термин "полипептид" относится к продуктам постэкспрессионных модификаций полипептида, включая без ограничения гликозилирование, ацетилирование,

фосфорилирование, амидирование, дериватизацию с помощью известных защитных/блокирующих групп, протеолитическое расщепление или модификацию с помощью аминокислот, не встречающихся в природе. Полипептид может происходить из природного биологического источника или быть получен с помощью рекомбинантной технологии, но не обязательно быть получен в результате трансляции определенной последовательности нуклеиновой кислоты. Он может быть получен любым способом, в том числе путем химического синтеза.

[0111] "Выделенный" полипептид или его фрагмент, вариант или производное относится к полипептиду, который не находится в своем естественном окружении. Никакой конкретный уровень очистки не требуется. Например, выделенный полипептид может быть просто извлечен из его нативной или природной среды. Полученные рекомбинантным путем полипептиды и белки, экспрессирующиеся в клетках-хозяевах, считаются выделенными для целей настоящего изобретения, как и нативные или рекомбинантные полипептиды, которые были отделены, фракционированы или частично или в значительной степени очищены с помощью любой подходящей методики.

[0112] Также в настоящее изобретение включены фрагменты или варианты полипептидов и любая их комбинация. Термины "фрагмент" или "вариант" в отношении связывающих доменов полипептидов или связывающих молекул по настоящему изобретению включают любые полипептиды, которые сохраняют по меньшей мере некоторые из свойств эталонного полипептида (например, аффинность связывания с FcRn для FcRn-связывающего домена или варианта Fc, активность коагуляции для варианта FVIII или активность связывания FVIII для фрагмента VWF). Фрагменты полипептидов включают фрагменты, полученные посредством протеолиза, а также фрагменты, полученные посредством делеции, в дополнение к конкретным фрагментам антитела, обсуждаемым в данном документе в другом месте, но не включают встречающийся в природе полноразмерный полипептид (или зрелый полипептид). Варианты связывающих доменов полипептидов или связывающих молекул по настоящему изобретению включают фрагменты, описанные выше, а также полипептиды с аминокислотными последовательностями, измененными в результате аминокислотных замен, делеций или вставок. Варианты могут быть встречающимися в природе или не встречающимися в природе. Не встречающиеся в природе варианты можно получить с помощью известных из уровня техники методик мутагенеза. Варианты полипептидов могут содержать консервативные или неконсервативные аминокислотные замены, делеции или добавления.

[0113] Термин "белок VWF", используемый в данном документе, означает любой фрагмент VWF, который взаимодействует с FVIII и сохраняет одно или несколько свойств, которыми полноразмерный VWF обычно наделяет FVIII, например предупреждение преждевременной активации FVIIIa, предупреждение преждевременного протеолиза, предупреждение выведения, предупреждение ассоциации с фосфолипидными мембранами, что могло бы привести к преждевременному выведению, предупреждение связывания с рецепторами, опосредующими выведение FVIII, которые могут связывать

"голый" FVIII, но не FVIII, связанный с VWF, и/или стабилизацию взаимодействий тяжелой цепи и легкой цепи FVIII. Фрагмент VWF, упоминаемый в данном документе, представляет собой полипептид VWF, имеющий меньший размер, чем полноразмерный белок VWF, при этом фрагмент VWF сохраняет способность взаимодействовать и/или связываться с FVIII. В некоторых вариантах осуществления белок VWF представляет собой фрагмент (который может быть мутирован) полноразмерного VWF, который связывается с белком FVIII таким образом, что белок FVIII характеризуется пониженным связыванием с полноразмерным VWF (например, эндогенным VWF в организме субъекта) или отсутствием связывания с ним.

[0114] "Консервативная аминокислотная замена" представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток замещается аминокислотным остатком, имеющим сходную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих сходные боковые цепи, были определены в уровне техники, включая основные боковые цепи (например, лизин, аргинин, гистидин), кислые боковые цепи (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Таким образом, если аминокислота в полипептиде замещается другой аминокислотой из того же семейства боковых цепей, то замена считается консервативной. В некоторых вариантах осуществления нить из аминокислот можно подвергнуть консервативному замещению сходной в структурном отношении нитью, которая отличается порядком расположения и/или составом представителей семейства боковых цепей.

[0115] Как известно из уровня техники, "идентичность последовательностей" между двумя полипептидами определяется путем сравнения аминокислотной последовательности одного полипептида с последовательностью второго полипептида. Аналогичным образом, "идентичность последовательностей" двух полинуклеотидов определяют путем сравнения нуклеотидной последовательности одного полинуклеотида с последовательностью второго полинуклеотида. Термины "на % идентичный", "% идентичность" или подобные термины предназначены в частности для обозначения процентного содержания нуклеотидов или аминокислот (в зависимости от конкретного случая), которые идентичны при оптимальном выравнивании в сравниваемых последовательностях. Указанное процентное содержание является чисто статистическим, и при этом различия между двумя последовательностями могут обязательно быть случайным образом распределенными по всей длине сравниваемых последовательностей. Сравнение двух последовательностей обычно осуществляют путем сравнения последовательностей после оптимального выравнивания относительно сегмента или "окна сравнения" с целью идентификации локальных областей соответствующих последовательностей. Например, оптимальное выравнивание для сравнения можно

осуществлять вручную или с использованием алгоритма локальной гомологии согласно Smith and Waterman, 1981, *Ads App. Math.* 2, 482, с использованием алгоритма локальной гомологии согласно Neddleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48, 443, с использованием алгоритма поиска по сходству Pearson and Lipman, 1988, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88, 2444, или с использованием компьютерных программ, в которых используются указанные алгоритмы (GAP, BESTFIT, FASTA, BLAST P, BLAST N и TFASTA в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Мэдисон, Висконсин, США). В некоторых вариантах осуществления процент идентичности двух последовательностей определяют с использованием алгоритма BLASTN или BLASTP, доступного на веб-сайте Национального центра биотехнологической информации США (NCBI) (например, по адресу [blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE\\_TYPE=BlastSearch&BLAST\\_SPEC=blast2seq&LINK\\_LOC=align2seq](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=blast2seq&LINK_LOC=align2seq)). В некоторых вариантах осуществления параметры алгоритма, используемые для алгоритма BLASTN на веб-сайте NCBI, включают: (i) ожидаемое пороговое значение, установленное на 10; (ii) длину слова, установленную на 28; (iii) максимальное число совпадений в диапазоне запроса, установленное на 0; (iv) баллы совпадения/несовпадения, установленные на 1, -2; (v) штрафы за введение гэпа, установленные на "Линейный"; и (vi) используемый фильтр для областей низкой сложности. В некоторых вариантах осуществления параметры алгоритма, используемые для алгоритма BLASTP на веб-сайте NCBI, включают: (i) ожидаемое пороговое значение, установленное на 10; (ii) длину слова, установленную на 3; (iii) максимальное число совпадений в диапазоне запроса, установленное на 0; (iv) матрицу, установленную на BLOSUM62; (v) штрафы за введение гэпа, установленные на "Наличие": 11, "Расширение": 1; и (vi) условную композиционную корректировку матрицы замен. При обсуждении в данном документе можно определить, является ли какой-либо конкретный полипептид на по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% идентичным другому полипептиду, с применением способов и компьютерных программ/программного обеспечения, известных в данной области техники, таких как, без ограничения, программа BESTFIT (Wisconsin Sequence Analysis Package, версия 8 для Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Мэдисон, Висконсин 53711). В BESTFIT используется алгоритм поиска локальной гомологии Смита-Уотермана, *Advances in Applied Mathematics* 2: 482-489 (1981), для нахождения наилучшего сегмента гомологии между двумя последовательностями. При использовании BESTFIT или любой другой программы выравнивания последовательностей для определения того, является ли конкретная последовательность, например, на 95% идентичной эталонной последовательности согласно настоящему изобретению, параметры, разумеется, устанавливаются так, что процент идентичности рассчитывается по полной длине эталонной полипептидной последовательности, и допускаются гэпы в гомологии в количестве до 5% от общего числа аминокислот в эталонной последовательности.



[0116] Используемая в данном документе "соответствующая аминокислота" или "эквивалентная аминокислота" в последовательности VWF или последовательности белка FVIII идентифицируются путем выравнивания для максимального увеличения идентичности или сходства между первой последовательностью VWF или FVIII и второй последовательностью VWF или FVIII. Номер, используемый для идентификации эквивалентной аминокислоты во второй последовательности VWF или FVIII, соответствует номеру, используемому для идентификации соответствующей аминокислоты в первой последовательности VWF или FVIII.

[0117] Используемый в данном документе термин "сайт вставки" относится к положению в полипептиде FVIII или его фрагменте, варианте или производном, которое находится непосредственно ниже положения, в которое может быть вставлен компонент, обеспечивающий продление периода полужизни, или гетерологичный компонент. "Сайт вставки" указан в виде числа, при этом число является номером аминокислоты в зрелом нативном FVIII (SEQ ID NO: 9), которому соответствует сайт вставки, который располагается непосредственно за положением вставки в направлении С-конца. Например, выражение "содержит полипептид ELNN в сайте вставки, который соответствует аминокислоте 1656 из последовательности под SEQ ID NO: 9" указывает на то, что гетерологичный компонент расположен между двумя аминокислотами, соответствующими аминокислоте 1656 и аминокислоте 1657 в SEQ ID NO: 9.

[0118] Используемое в данном документе выражение "непосредственно ниже аминокислоты" относится к положению сразу возле концевой карбоксильной группы аминокислоты. Например, сайт вставки непосредственно ниже аминокислоты 745, соответствующей таковой в зрелом белке FVIII дикого типа (SEQ ID NO: 9), означает, что сайт вставки находится между аминокислотой 745 и аминокислотой 746, соответствующими таковым в зрелом белке FVIII дикого типа. Аналогично, выражение "непосредственно выше аминокислоты" относится к положению сразу после концевой аминокислоты.

[0119] Используемое в данном документе выражение "между двумя аминокислотами сайта вставки" относится к положению, в котором полипептид ELNN или любой другой полипептид вставлен между двумя соседними аминокислотами. Таким образом, выражения "вставлен непосредственно ниже аминокислоты" и "вставлен между двумя аминокислотами сайта вставки" используются в качестве синонимов выражения "вставлен в сайт вставки".

[0120] Термины "вставленный", "вставлен", "вставленный в" или грамматически родственные термины, используемые в данном документе в отношении вставок полипептида ELNN в FVIII, относятся к положению полипептида ELNN в химерном белке относительно аналогичного положения в нативном зрелом FVIII человека. Используемые в данном документе термины относятся к характеристикам рекомбинантного полипептида FVIII относительно нативного зрелого FVIII человека и не указывают, не подразумевают или не предполагают никаких способов или процесса, посредством которых был получен

химерный белок. Например, в отношении химерного белка, представленного в данном документе, выражение "полипептид ELNN вставлен непосредственно ниже остатка 745 полипептида FVIII" означает, что химерный белок содержит полипептид ELNN непосредственно ниже аминокислоты, которая соответствует аминокислоте 745 в нативном зрелом FVIII человека, например, ограничен аминокислотами, соответствующими аминокислотам 745 и 746 нативного зрелого FVIII человека (без необходимости присутствия аминокислоты, соответствующей аминокислоте 746 нативного зрелого FVIII человека), и не означает порядок или способ получения, в соответствии с которым был сконструирован химерный белок.

[0121] Используемые в данном документе термины "полипептид ELNN" и "ELNN" являются синонимичными и относятся к полипептидам увеличенной длины с не встречающимися в природе по существу неповторяющимися последовательностями, которые состоят главным образом из небольших гидрофильных аминокислот, при этом последовательность характеризуется низкой степенью образования вторичной или третичной структуры в физиологических условиях или отсутствием таковой. ELNN могут придавать определенные требуемые фармакокинетические, физико-химические и фармацевтические свойства, будучи соединенными с белком VWF или последовательностью FVIII по настоящему изобретению с образованием химерного полипептида. Такие необходимые свойства включают без ограничения улучшенные фармакокинетические параметры и характеристики растворимости. Используемые в данном документе термины "полипептид ELNN" и "ELNN" конкретным образом исключают антитела или фрагменты антител, такие как одноцепочечные антитела или Fc-фрагменты легкой цепи или тяжелой цепи. Полипептиды ELNN известны из уровня техники, и неограничивающие описания и примеры полипептидов ELNN, известных как полипептиды XTEN<sup>®</sup>, доступны в Schellenberger et al., (2009) *Nat Biotechnol* 27(12):1186-90; Brandl et al., (2020) *Journal of Controlled Release* 327:186-197 и Radon et al., (2021) *Advanced Functional Materials* 31, 2101633 (страницы 1-33), полные содержания каждой из которых включены в данный документ посредством ссылки.

[0122] "Слитый" или "химерный" белок содержит первую аминокислотную последовательность, соединенную со второй аминокислотной последовательностью, с которой она в естественных условиях не соединена в природе. Аминокислотные последовательности, которые в обычных условиях существуют в отдельных белках, могут быть объединены в слитом полипептиде, или аминокислотные последовательности, которые в обычных условиях существуют в одном и том же белке, могут быть размещены в новом порядке в слитом полипептиде, например, при слиянии домена фактора VIII по настоящему изобретению с Fc-доменом Ig. Слитый белок создают, например, путем химического синтеза или путем создания и трансляции полинуклеотида, в котором области пептида кодируются в необходимом взаиморасположении. Химерный белок может дополнительно содержать вторую аминокислотную последовательность, ассоциированную с первой аминокислотной последовательностью посредством

ковалентной непептидной связи или нековалентной связи.

[0123] В отношении последовательностей термин "соединенный", используемый в данном документе, относится к первой аминокислотной последовательности или нуклеотидной последовательности, ковалентно или нековалентно присоединенной соответственно ко второй аминокислотной последовательности или нуклеотидной последовательности. Первая аминокислотная или нуклеотидная последовательность может быть непосредственно присоединена ко второй аминокислотной или нуклеотидной последовательности или объединена с ней, или, в качестве альтернативы, промежуточная последовательность может ковалентно присоединять первую последовательность ко второй последовательности. Независимо от контекста, термин "соединенный" означает не только слияние первой аминокислотной последовательности со второй аминокислотной последовательностью на С-конце или N-конце, но также включает вставку всей первой аминокислотной последовательности (или второй аминокислотной последовательности) между любыми двумя аминокислотами во второй аминокислотной последовательности (или соответственно в первой аминокислотной последовательности). В некоторых вариантах осуществления первая аминокислотная последовательность может быть соединена со второй аминокислотной последовательностью с помощью пептидной связи или линкера. Первая нуклеотидная последовательность может быть соединена со второй нуклеотидной последовательностью с помощью фосфодиэфирной связи или линкера. Линкер может представлять собой пептид или полипептид (в случае полипептидных цепей), или нуклеотид или цепь нуклеотидов (в случае цепей нуклеотидов), или любой химический компонент (как в случае полипептидных, так и полинуклеотидных цепей). Термин "соединенный" может также обозначаться дефисом (-).

[0124] В отношении двух полипептидов термин "ассоциированный с" относится к одной или нескольким ковалентным или нековалентным связям, образованным между первым полипептидом и вторым полипептидом. В некоторых вариантах осуществления термин "ассоциированный с" означает ковалентную непептидную связь или нековалентную связь. Эта связь может быть обозначена двоеточием, т. е. (:). В некоторых вариантах осуществления это означает любую ковалентную связь, за исключением пептидной связи. Например, аминокислота цистеин содержит тиольную группу, которая может образовывать дисульфидную связь или мостик с тиольной группой во втором цистеиновом остатке. В большинстве встречающихся в природе молекул IgG области СН1 и СL связаны дисульфидной связью, а две тяжелые цепи связаны двумя дисульфидными связями в положениях, соответствующих 239 и 242 согласно системе нумерации по Kabat (положения 226 или 229, система нумерации EU). Примеры ковалентных связей включают без ограничения пептидную связь, металлическую связь, водородную связь, дисульфидную связь, сигма-связь, пи-связь, дельта-связь, гликозидную связь, агостическую связь, банановую связь, диполярную связь, обратную донорно-акцепторную Рi-связь, двойную связь, тройную связь, четверную связь, пятерную связь, шестерную связь, конъюгирование, гиперконъюгирование, ароматичность, гаптичность или

антисвязывание. Неограничивающие примеры нековалентной связи включают ионную связь (например, катионную пи-связь или солевую связь), металлическую связь, водородную связь (например, диводородную связь, диводородный комплекс, низкобарьерную водородную связь или симметричную водородную связь), силу Ван-дер-Ваальса, лондоновскую дисперсионную силу, механическую связь, галогенную связь, ауروفильность, интеркаляцию, стэкинг, энтропийную силу или химическую полярность. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько ковалентных связей между первой аминокислотной цепью и второй аминокислотной цепью представляют собой две дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько ковалентных связей между первой аминокислотной цепью и второй аминокислотной цепью представляют собой две дисульфидные связи между первой Fc-частью первой аминокислотной цепи и второй Fc-частью второй аминокислотной цепи, при этом две дисульфидные связи возникают в шарнирной области двух Fc-частей.

[0125] В других вариантах осуществления полипептид содержит сайт ферментативного расщепления, расщепляемый ферментом, который активируется во время каскада свертывания крови, так что расщепление таких сайтов происходит в месте образования сгустка. Примеры таких сайтов включают, например, сайты, распознаваемые тромбином, фактором XIa или фактором Xa. SEQ ID NO: 9 SEQ ID NO: 15 Другие сайты ферментативного расщепления известны из уровня техники и описаны в данном документе в другом месте. Следует понимать, что в конструкциях, которые содержат более одного сайта процессинга или расщепления, такие сайты могут быть одинаковыми или разными. Используемый в данном документе термин "период полужизни" относится к биологическому периоду полужизни конкретного полипептида *in vivo*. Период полужизни можно выразить в виде времени, требуемого для выведения из кровотока и/или других тканей животного половины количества, введенного субъекту. В некоторых вариантах осуществления, если кривую выведения данного полипептида строят в виде функции времени, кривая обычно является двухфазной с быстрой  $\alpha$ -фазой и более длинной  $\beta$ -фазой. Обычно  $\alpha$ -фаза отображает уравнивание содержания введенного полипептида Fc между внутри- и внесосудистым пространством и частично определяется размером полипептида. Обычно  $\beta$ -фаза отображает катаболизм полипептида во внутрисосудистом пространстве. В некоторых вариантах осуществления FVIII и химерные белки, содержащие FVIII, являются монофазными и, таким образом, характеризуются отсутствием альфа-фазы и наличием только отдельной бета-фазы. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления термин "период полужизни", используемый в данном документе, относится к периоду полужизни полипептида в  $\beta$ -фазе. У человека типичный период полужизни в бета-фазе для антитела человека составляет 21 день. В некоторых вариантах осуществления период полужизни выражается в виде период полужизни в конечной фазе.

[0126] В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется гемофилия А. В некоторых вариантах осуществления гемофилия А представляет собой тяжелую форму

гемофилии А.

[0127] Используемые в данном документе "вводить" или "введение" относятся к доставке субъекту композиции, описанной в данном документе, например химерного белка. Композицию, например химерный белок, можно вводить субъекту с применением способов, известных в данной области техники. В частности, композицию можно вводить внутривенно, подкожно, внутримышечно, внутрикожно или через любую поверхность слизистой оболочки, например перорально, сублингвально, трансбуккально, назально, ректально, вагинально или легочным путем. В некоторых вариантах осуществления введение является внутривенным. В некоторых вариантах осуществления введение является подкожным. В некоторых вариантах осуществления введение представляет собой самостоятельное введение. В некоторых вариантах осуществления родитель вводит химерный белок ребенку. В некоторых вариантах осуществления химерный белок вводит субъекту медицинский работник, такой как врач, санитар или медсестра.

[0128] Используемый в данном документе термин "доза" относится к однократному введению композиции субъекту. Однократная доза может быть введена сразу, например, в виде болюса, или в течение определенного периода времени, например, путем внутривенной инфузии. Термин "несколько доз" означает более одной дозы, например, более чем одно введение.

[0129] Если речь идет о совместном введении более чем одной композиции, доза композиции А может вводиться одновременно с дозой композиции В. В качестве альтернативы дозу композиции А можно вводить до или после введения дозы композиции В. В некоторых вариантах осуществления композиция А и композиция В объединены в один состав.

[0130] Используемый в данном документе термин "интервал" или "интервал между введениями доз" относится к количеству времени, которое проходит между первой дозой композиции А и последующей дозой той же композиции, вводимой субъекту. Интервал между введениями доз может относиться к времени, которое проходит между первой дозой и второй дозой, или интервал между введениями доз может относиться к количеству времени, которое проходит между несколькими дозами.

[0131] Термин "частота введения доз", используемый в данном документе, относится к количеству доз, вводимых в расчете на конкретный интервал между введениями доз. Например, частота введения доз может быть записана как один раз в неделю, один раз в две недели и т. д. Следовательно, интервал между введениями доз, составляющий 7 дней, также может быть записан как интервал между введениями доз один раз в 7 дней, или каждую неделю, или один раз в неделю.

[0132] Используемый в данном документе термин "профилактическое лечение" относится к введению средства терапии для лечения гемофилии А, где такое лечение предназначено для предупреждения или снижения тяжести одного или нескольких симптомов гемофилии А, например эпизодов кровотечения, например, одного или нескольких эпизодов спонтанного кровотечения, и/или повреждения суставов. См.

Jimenez-Yuste et al., *Blood Transfus.* 12(3):314-19 (2014). Для предупреждения или снижения тяжести таких симптомов, например, эпизодов кровотечения и прогрессирования заболевания суставов, пациенты с гемофилией А могут получать регулярные инфузии фактора свертывания крови в рамках режима профилактического лечения. Основой такого профилактического лечения является наблюдение, что пациенты с гемофилией с уровнем фактора свертывания крови, например, FVIII, составляющим 1% или больше, редко испытывают эпизоды спонтанного кровотечения и имеют меньше сопутствующих заболеваний, связанных с гемофилией, по сравнению с пациентами с тяжелой формой гемофилии. См., например, Coppola A. et al, *Semin. Thromb. Hemost.* 38(1): 79-94 (2012) Практикующие врачи, лечащие таких пациентов с гемофилией, предположили, что поддержание уровней фактора при около 1% с помощью регулярных инфузий потенциально может снизить риск симптомов гемофилии, в том числе эпизодов кровотечения и повреждения суставов. См. там же. Последующие исследования подтвердили эти преимущества у педиатрических пациентов с гемофилией, получающих профилактическое лечение с помощью фактора свертывания крови, что делает профилактическое лечение целью для людей с тяжелой формой гемофилии. См. там же.

[0133] "Профилактическое" лечение также может относиться к превентивному введению субъекту композиции, описанной в данном документе, например белка (такого как химерный белок), с целью контроля частоты возникновения или тяжести одного или нескольких симптомов гемофилии А, например, эпизодов кровотечения, управления ими, их предупреждения или снижения. В некоторых вариантах осуществления профилактическое лечение фактором свертывания крови, например FVIII, используется для лечения субъектов с тяжелой формой гемофилии А. В некоторых вариантах осуществления профилактическое лечение относится к введению композиции, раскрытой в данном документе, субъекту, нуждающемуся в этом, для снижения частоты возникновения одного или нескольких симптомов гемофилии А. Профилактическое лечение может предусматривать введение нескольких доз. Несколько доз, используемых при профилактическом лечении, обычно вводятся с определенными интервалами между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления среднегодовая частота кровотечений может быть снижена до менее 10, менее 9, менее 8, менее 7, менее 6, менее 5, менее 4, менее 3, менее 2 или менее 1.

[0134] Термин "лечение по необходимости" или "эпизодическое лечение" относится к введению "по мере необходимости" химерной молекулы в ответ на симптомы гемофилии А, например эпизод кровотечения, или перед началом деятельности, которая может вызвать кровотечение. В некоторых аспектах лечение по необходимости можно назначить субъекту, когда кровотечение началось, например после травмы, или если ожидается кровотечение, например перед хирургическим вмешательством. В некоторых аспектах лечение по необходимости можно назначить перед началом действий, которые увеличивают риск кровотечения, таких как контактные виды спорта. В некоторых вариантах осуществления лечение по необходимости назначается в виде однократной

дозы. В некоторых вариантах осуществления лечение по необходимости назначают в виде первой дозы, за которой следует одна или несколько дополнительных доз. Если химерный белок вводят по необходимости, то одну или несколько дополнительных доз можно вводить через по меньшей мере приблизительно 12 часов, по меньшей мере приблизительно 24 часа, по меньшей мере приблизительно 36 часов, по меньшей мере приблизительно 48 часов, по меньшей мере приблизительно 60 часов, по меньшей мере приблизительно 72 часа, по меньшей мере приблизительно 84 часа, по меньшей мере приблизительно 96 часов, по меньшей мере приблизительно 108 часов или по меньшей мере приблизительно 120 часов после введения первой дозы. Однако следует отметить, что интервал между введениями доз, ассоциированный с лечением по необходимости, не совпадает с интервалом между введениями доз, используемым для профилактического лечения.

[0135] В некоторых вариантах осуществления субъект, нуждающийся в общем гемостатическом средстве, переносит или вскоре перенесет хирургическое вмешательство. Химерный белок по настоящему изобретению можно вводить до или после хирургического вмешательства. Химерный белок по настоящему изобретению можно также вводить во время или после хирургического вмешательства для контроля эпизода острого кровотечения. Если химерный белок вводят до хирургического вмешательства, то введение можно выполнять за по меньшей мере приблизительно 1 час, по меньшей мере приблизительно 2 часа, по меньшей мере приблизительно 4 часа, по меньшей мере приблизительно 8 часов, по меньшей мере приблизительно 12 часов, по меньшей мере приблизительно 24 часа, по меньшей мере приблизительно 36 часов, по меньшей мере приблизительно 48 часов или по меньшей мере приблизительно 72 часа до хирургического вмешательства. Если химерный белок вводят после хирургического вмешательства, то введение можно выполнять через по меньшей мере приблизительно 1 час, по меньшей мере приблизительно 2 часа, по меньшей мере приблизительно 4 часа, по меньшей мере приблизительно 8 часов, по меньшей мере приблизительно 12 часов, по меньшей мере приблизительно 24 часа, по меньшей мере приблизительно 36 часов, по меньшей мере приблизительно 48 часов или по меньшей мере приблизительно 72 часа после хирургического вмешательства. Хирургическое вмешательство может включать без ограничения трансплантацию печени, резекцию печени, стоматологические процедуры или трансплантацию стволовых клеток.

[0136] Используемые в данном документе "лечить", "лечение", "осуществление лечения" относятся, например, к снижению тяжести заболевания или состояния; снижению продолжительности течения заболевания; уменьшению интенсивности одного или нескольких симптомов, ассоциированных с заболеванием или состоянием; обеспечению благоприятных эффектов у субъекта с заболеванием или состоянием, при этом не обязательно с излечением заболевания или состояния, или профилактике одного или нескольких симптомов, ассоциированных с заболеванием или состоянием. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение

предусматривают поддержание у субъекта остаточного уровня содержания FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 1 МЕ/дл, 2 МЕ/дл, 3 МЕ/дл, 4 МЕ/дл, 5 МЕ/дл, 6 МЕ/дл, 7 МЕ/дл, 8 МЕ/дл, 9 МЕ/дл, 10 МЕ/дл, 11 МЕ/дл, 12 МЕ/дл, 13 МЕ/дл, 14 МЕ/дл, 15 МЕ/дл, 16 МЕ/дл, 17 МЕ/дл, 18 МЕ/дл, 19 МЕ/дл или 20 МЕ/дл путем введения химерного белка по настоящему изобретению. Используемый в данном документе "остаточный уровень" у пациента с гемофилией А представляет собой измеренное значение наиболее низкой концентрации, достигаемой с помощью терапии фактором свертывания крови, например, терапии посредством FVIII, перед введением следующей дозы. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание остаточного уровня FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 1 МЕ/дл, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание остаточного уровня FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 3 МЕ/дл, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание остаточного уровня FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 5 МЕ/дл, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание остаточного уровня FVIII, составляющего от приблизительно 1 до приблизительно 20 МЕ/дл, от приблизительно 2 до приблизительно 20 МЕ/дл, от приблизительно 3 до приблизительно 20 МЕ/дл, от приблизительно 4 до приблизительно 20 МЕ/дл, от приблизительно 5 до приблизительно 20 МЕ/дл, от приблизительно 6 до приблизительно 20 МЕ/дл, от приблизительно 7 до приблизительно 20 МЕ/дл, от приблизительно 8 до приблизительно 20 МЕ/дл, от приблизительно 9 до приблизительно 20 МЕ/дл или от приблизительно 10 до приблизительно 20 МЕ/дл, в течение интервала между введениями доз.

[0137] В некоторых вариантах осуществления лечение или осуществление лечения заболевания или состояния предусматривает поддержание активности FVIII у субъекта на уровне, сравнимом с по меньшей мере приблизительно 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% или 20% активности FVIII у субъекта, не страдающего гемофилией, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 1%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 2%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 3%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 4%, в интервале между введениями доз. В некоторых



вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 5%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 6%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 7%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 8%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 9%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления осуществление лечения или лечение означает поддержание уровня активности FVIII, составляющего по меньшей мере приблизительно 10%, в интервале между введениями доз. В некоторых вариантах осуществления минимальный остаточный уровень, требуемый для лечения, может быть измерен посредством одного или нескольких известных способов (например, анализов с использованием активированного частичного тромбопластинового времени (aPTT) или хромогенных анализов, которые хорошо известны из уровня техники) и может быть скорректирован (увеличен или уменьшен) для каждого человека. Неограничивающие примеры анализов для измерения минимального уровня раскрыты в публикации заявки США № 20190375822, которая включена в данный документ посредством ссылки в своем полном объеме.

## II. Химерные белки

[0138] В одном аспекте настоящее изобретение направлено на фармацевтические композиции, содержащие химерный белок или белок, который содержит первую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор VIII ("FVIII"), или его часть, и первую константную область иммуноглобулина ("Ig") или ее часть, и вторую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор фон Виллебранда ("VWF"), и вторую константную область Ig или ее часть. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит: (i) белок FVIII, содержащий полипептид FVIII, полипептид ELNN, вставленный в домен В полипептида FVIII, и первую Fc-область; и (ii) белок VWF, содержащий фрагмент VWF, вторую последовательность полипептида ELNN, линкер a2 и вторую Fc-область. В некоторых вариантах осуществления химерный белок, раскрытый в данном документе, представляет собой гетеродимер FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc.

[0139] В некоторых вариантах осуществления химерный белок представляет собой эфанесоктоког-альфа. Эфанесоктоког-альфа, также известный как "BIVV001", "эфанесоктокогум-альфа", "rFVIII-Fc-VWF-ELNN" и "rFVIII-Fc-VWF-XTEN", описан в Chhabra et al. *Blood* 135(17): 1484-1496 (2020), полное содержание которого включено в

данный документ посредством ссылки в его полном объеме. Схематическое изображение эфанесоктокога-альфа в качестве иллюстративного гетеродимера FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc представлено на фиг. 1.

[0140] Эфанесоктоког-альфа представляет собой крупный белок (свыше 300 кДа), состоящий из нескольких частей в каждой из двух полипептидных цепей, которые ассоциированы посредством ковалентных связей и нековалентных взаимодействий. Белок характеризуется тенденцией к агрегации при определенных условиях, что может снизить стабильность составов, если вспомогательное вещество, такое как L-аргинин, не выбрано и не присутствует в количестве, достаточном для уменьшения агрегации. Например, агрегацию можно уменьшить путем добавления высоких уровней L-аргинина (например, приблизительно 250 мМ).

[0141] Дополнительную информацию об эфанесоктокоге-альфа можно найти в International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances (INN) WHO Drug Information, 2019, Vol. 33, No. 4, p.828-30. В некоторых вариантах осуществления химерный белок представляет собой гетеродимер FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc, содержащий: (i) первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1; и (ii) второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит (i) первый полипептид и (ii) второй полипептид, которые ковалентно связаны посредством одной или нескольких дисульфидных связей (например, двух дисульфидных связей). В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, кодируемый последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, кодируемый последовательностью нуклеиновой кислоты под SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления эфанесоктоког-альфа характеризуется активностью, составляющей по меньшей мере 1600 МЕ/мг. В некоторых вариантах осуществления эфанесоктоког-альфа характеризуется активностью, составляющей по меньшей мере 1700 МЕ/мг. В некоторых вариантах осуществления эфанесоктоког-альфа характеризуется активностью, составляющей по меньшей мере 1800 МЕ/мг. В некоторых вариантах осуществления эфанесоктоког-альфа характеризуется активностью, составляющей по меньшей мере 1900 МЕ/мг. В некоторых вариантах осуществления эфанесоктоког-альфа характеризуется активностью, составляющей от 1600 МЕ/мг до 2000 МЕ/мг.

[0142] В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, содержащий один или несколько дисульфидных мостиков в одном или нескольких из следующих местоположений: остатки 153-179, 248-329, 528-554, 630-711, 1220-1246, 1287-1291, 1409-1557, 1562-1714, 1761-1821 и/или 1867-1925 из последовательности под SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, содержащий один или несколько дисульфидных мостиков в каждом из следующих местоположений:

остатки 153-179, 248-329, 528-554, 630-711, 1220-1246, 1287-1291, 1409-1557, 1562-1714, 1761-1821 и 1867-1925 из последовательности под SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, содержащий один или несколько остатков Cys-SH, в остатках 310, 692 и/или 1388 из последовательности под SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, содержащий остатки Cys-SH, в каждом из остатков 310, 692 и/или 1388 из последовательности под SEQ ID NO: 1.

[0143] В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, содержащий один или несколько сайтов N-гликозилирования в остатках N41, N239, N1198, N1506 и/или N1797 из последовательности под SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, содержащий один или несколько сайтов O-гликозилирования в остатках 746-1036 из последовательности под SEQ ID NO: 1 и/или остатках Ser и Thr в линкерных пептидах. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок FVIII, содержащий один или несколько сайтов Tug-сульфатирования в остатках 346, 718, 719, 723, 729, 1052 и/или 1068 из последовательности под SEQ ID NO: 1.

[0144] В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, содержащий один или несколько дисульфидных мостиков в одном или нескольких из следующих местоположений: остатки 4-45, 13-41, 25-36, 29-64, 47-58, 66-88, 83-100, 86-95, 104-233, 126-268, 135-230, 151-158, 283-326, 297-321, 308-348, 328-334, 338-363, 367-410, 386-406, 390-402, 394-433, 414-427, 436-464, 459-474, 462-471, 698-758 и/или 804-862 из последовательности под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, содержащий один или несколько дисульфидных мостиков в каждом из следующих местоположений: остатки 4-45, 13-41, 25-36, 29-64, 47-58, 66-88, 83-100, 86-95, 104-233, 126-268, 135-230, 151-158, 283-326, 297-321, 308-348, 328-334, 338-363, 367-410, 386-406, 390-402, 394-433, 414-427, 436-464, 459-474, 462-471, 698-758 и/или 804-862 из последовательности под SEQ ID NO: 2.

[0145] В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, содержащий один или несколько сайтов N-гликозилирования в остатках N94, N384, N734 из последовательности под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, содержащий один или несколько сайтов O-гликозилирования в остатках 478-625 из последовательности под SEQ ID NO: 2 и/или остатках Ser и Thr в линкерных пептидах. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, содержащий один или несколько сайтов Tug-сульфатирования в остатках 632, 633, 637 и/или 643 из последовательности под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления белок VWF содержит фрагмент VWF, содержащий домен D1, D2, D' и/или D3 VWF. В одном варианте осуществления фрагмент VWF содержит область D1D2 VWF, содержащую аминокислотную последовательность

под SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления белок VWF дополнительно содержит последовательность сигнального пептида VWF. В одном варианте осуществления сигнальный пептид VWF содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19. В одном конкретном варианте осуществления белок VWF содержит сигнальный пептид VWF, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19, область D1D2 VWF, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20, домен D' VWF, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21, домен D3 VWF, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 22; полипептидную последовательность ELNN, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 14 (AE144\_5A); линкер a2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; и/или Fc-область, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 23.

[0146] В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит: (i) белок FVIII, содержащий полипептид FVIII, первую последовательность полипептида ELNN и первую Fc-область; и (ii) фрагмент VWF, содержащий домен D' VWF и домен D3 VWF, вторую полипептидную последовательность ELNN, линкер a2 FVIII и вторую Fc-область; где: белок FVIII характеризуется наличием делеции аминокислот 746-1648, соответствующей зрелому FVIII; первая последовательность полипептида ELNN вставлена в полипептид FVIII непосредственно ниже аминокислоты 745, соответствующей зрелому FVIII; первая полипептидная последовательность ELNN содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или приблизительно 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью AE288 (SEQ ID NO: 9); первая Fc-область слита с С-концом полипептида FVIII; вторая полипептидная последовательность ELNN слита с С-концом фрагмента VWF; вторая полипептидная последовательность ELNN содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или приблизительно 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью AE144\_5A (SEQ ID NO: 14); линкер a2 слит с С-концом полипептида ELNN; линкер a2 содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере

приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или приблизительно 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 9; вторая Fc-область слита с C-концом линкера a2; и первая Fc-область ковалентно связана со второй Fc-областью посредством дисульфидной связи (например, двух дисульфидных связей).

[0147] В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит две полипептидные последовательности - первую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95% или 100% идентичную аминокислотной последовательности, приведенной под SEQ ID NO: 1; и вторую полипептидную последовательность, содержащую фрагмент VWF, содержащий домен D' VWF и домен D3 VWF, и Fc-область. В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит две полипептидные последовательности - первую полипептидную последовательность, содержащую полипептид FVIII и Fc-область; и вторую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95% или 100% идентичную аминокислотной последовательности, приведенной под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит две полипептидные последовательности - первую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95% или 100% идентичную аминокислотной последовательности, приведенной под SEQ ID NO: 1, и вторую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95% или 100% идентичную аминокислотной последовательности, приведенной под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит две полипептидные последовательности - первую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную под SEQ ID NO: 7, и вторую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит две полипептидные последовательности - первую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную под SEQ ID NO: 1, и вторую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную под SEQ ID NO: 2, где первая полипептидная последовательность и вторая полипептидная последовательность соединены друг с

другом посредством дисульфидной связи. В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит две полипептидные последовательности - первую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную под SEQ ID NO: 1, и вторую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную под SEQ ID NO: 2, где первая полипептидная последовательность и вторая полипептидная последовательность соединены друг с другом посредством двух дисульфидных связей. В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит две полипептидные последовательности - первую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную под SEQ ID NO: 1, и вторую полипептидную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную под SEQ ID NO: 2, где первая полипептидная последовательность содержит первую Fc-часть, где вторая полипептидная последовательность содержит вторую Fc-часть, где первая Fc-часть и вторая Fc-часть соединены друг с другом посредством двух дисульфидных связей в шарнирной области.

[0148] В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит белок FVIII, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95% или 100% идентичную SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 1; и белок VWF, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере приблизительно 80%, 90%, 95% или 100% идентичную SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 5.

[0149] В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит: (i) белок FVIII, содержащий первый фрагмент полипептида FVIII, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17; первую последовательность полипептида ELNN, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 9 (AE288); второй фрагмент полипептида FVIII, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18; и первую Fc-область, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 23; и (ii) белок VWF, содержащий: домен D' VWF, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21; домен D3 VWF, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 22; вторую последовательность полипептида ELNN, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 14 (AE144\_5A); линкер a2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; и вторую Fc-область, которая содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 23, и где первая Fc-область ковалентно соединена со второй Fc-областью посредством дисульфидной связи (например, двух дисульфидных связей).

[0150] В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит белок FVIII, содержащий полипептид FVIII, первую

полипептидную последовательность ELNN, первую Fc-область, и белок VWF, содержащий домен D' VWF, домен D3 VWF, вторую полипептидную последовательность ELNN, линкер a2 FVIII и вторую Fc-область, где полипептид FVIII содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 17, первая полипептидная последовательность ELNN содержит аминокислотную последовательность AE288 (SEQ ID NO: 9) и слита с С-концом SEQ ID NO: 17, полипептид FVIII дополнительно содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18; первая Fc-область содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 23 и слита с С-концом SEQ ID NO: 18; домен D' VWF содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21; домен D3 VWF содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 214, вторая полипептидная последовательность ELNN содержит аминокислотную последовательность AE144\_5A (SEQ ID NO: 14) и слита с С-концом домена D3 VWF; линкер a2 содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15 и слит с С-концом второй полипептидной последовательности ELNN; вторая Fc-область содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 23 и слита с С-концом линкера a2; и при этом первая Fc-область ковалентно связана со второй Fc-областью с помощью дисульфидной связи.

[0151] В некоторых вариантах осуществления химерный белок по настоящему изобретению содержит белок FVIII, содержащий сигнальный пептид FVIII, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, содержащий сигнальный пептид VWF, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит белок VWF, содержащий домен D1D2 VWF, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0152] В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3; и второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 7; и второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1; и второй полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2.

[0153] В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит один или несколько дисульфидных мостиков между первым полипептидом и вторым полипептидом. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит два дисульфидных мостика между первым полипептидом и вторым полипептидом. В некоторых вариантах осуществления химерный белок содержит первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1; и второй

полипептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, где химерный белок содержит дисульфидный мостик между остатком 1726 из последовательности под SEQ ID NO: 1 и остатком 663 из последовательности под SEQ ID NO: 2 и дисульфидный мостик между остатком 1729 из последовательности под SEQ ID NO: 1 и остатком 666 из последовательности под SEQ ID NO: 2.

#### IV. Фармацевтические композиции

[0154] В одном аспекте настоящее изобретение направлено на фармацевтические композиции на основе химерного белка, которые составлены для улучшения стабильности белка. В некоторых вариантах осуществления раскрытые фармацевтические композиции демонстрируют увеличенную стабильность, определенную на основании анализа путем визуального осмотра, концентрации белка, стабильности pH, образования высокомолекулярных частиц (HMWS) и/или изменения мутности. Анализ этих свойств стабильности можно выполнять с использованием общепринятых методик, включая эксклюзионную хроматографию (SEC), обращенно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию (RP-HPLC) и многие другие.

[0155] Фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, содержат определенное количество химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется концентрацией химерного белка, составляющей от приблизительно 0,8 до приблизительно 1,2 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется концентрацией химерного белка, составляющей приблизительно 0,8 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется концентрацией химерного белка, составляющей приблизительно 0,9 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется концентрацией химерного белка, составляющей приблизительно 1,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется концентрацией химерного белка, составляющей приблизительно 1,1 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется концентрацией химерного белка, составляющей приблизительно 1,2 мг/мл.

[0156] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 75 МЕ/мл до приблизительно 2000 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 75 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 100 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 150 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 200 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 250 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 300 МЕ/мл химерного белка. В





химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1300 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1350 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1400 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1450 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1500 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1550 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1600 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1650 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1700 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1750 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1800 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1850 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1900 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1950 МЕ/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2000 МЕ/мл химерного белка.

[0158] Фармацевтические композиции, содержащие химерный белок по настоящему изобретению, также содержат подходящий фармацевтически приемлемый носитель. Например, они могут содержать вспомогательные вещества и/или вспомогательные средства, которые обеспечивают повышенную стабильность химерного белка или способствуют переработке активных соединений в препараты, предназначенные для доставки к месту действия.

[0159] В одном аспекте в данном документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие определенное количество химерного белка вместе с раскрытыми вспомогательными веществами. Фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, содержат, как раскрыто, различные концентрации указанных вспомогательных веществ, и эти концентрации могут быть выражены различными путями. Например, концентрация данного вспомогательного вещества может быть выражена в виде молярной концентрации (например, М или мМ), в виде процентного значения веса/объема (например, грамм на 100 мл разбавителя) или в виде миллиграмм на миллилитр (мг/мл). Фармацевтические композиции, предусмотренные в данном документе, могут содержать определенные количества различных вспомогательных веществ при уровне точности в диапазоне от примерных, например, концентраций,

выраженных только до одной значащей цифры (например, приблизительно 0,1% (вес/об.)), или с большей точностью, например с точностью до 2, 3, 4, 5 или 6 значащих цифр (например, приблизительно 3,88 мг/мл с точностью до трех значащих цифр). Необходимый уровень точности может варьировать в зависимости от, например, требований конкретного регулирующего органа или производственного процесса.

[0160] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от 1% (вес/об.) до 4% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от 2% (вес/об.) до 5% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от 4% (вес/об.) до 8% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 1,5% (вес/об.) до приблизительно 2,5% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 5% (вес/об.) до приблизительно 7,5% (вес/об.) сахарозы.

[0161] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,0% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,1% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,2% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,3% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,4% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,5% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,6% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,7% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,8% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,9% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,0% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,1% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,2% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,3% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,4% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,5% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,6% (вес/об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления





приблизительно 8% (вес/об.) сахарозы.

[0162] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 33,67 мг сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 67,34 мг сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 168,35 мг сахарозы. В некоторых вариантах осуществления количество сахарозы может изменяться на не более чем 10% от конкретного количества. В некоторых вариантах осуществления количество сахарозы может изменяться на не более чем 5% от конкретного количества. В некоторых вариантах осуществления количество сахарозы может изменяться на не более чем 1% от конкретного количества. В некоторых вариантах осуществления конкретное количество сахарозы составляет 33,67 мг, 67,34 мг или 168,35 мг.

[0163] Фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, могут включать буфер. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, включают определенные количества или концентрации гистидина. В некоторых вариантах осуществления гистидин, включенный в фармацевтическую композицию, представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина.

[0164] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 5,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 6 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 6,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 7 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 7,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 8 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 8,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 9 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 9,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 10 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 10,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 11 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 11,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 12 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления

фармацевтическая композиция содержит приблизительно 12,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 13 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 13,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 14 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 14,5 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 15 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин.

[0165] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, включают определенные количества или концентрации аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гидрохлорид аргинина (HCl). В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl.

[0166] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина.

[0167] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 200 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 210 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 220 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 230 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 240 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 250 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 260 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 270 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 280 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 290 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 300 мМ аргинина. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl.

[0168] Фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, могут содержать объемобразующее средство. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, включают определенные количества или концентрации хлорида кальция ( $\text{CaCl}_2$ ). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$  (безводный),  $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  или

$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0169] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2,5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 3 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 3,5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 4 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 4,5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 5,5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 6 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 6,5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 7 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 7,5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 8 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 8,5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 9 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 9,5 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 10 мМ хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0170] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, не содержат объемобразующие средства, отличные от хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления единственным объемобразующим средством является хлорид кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит менее 8,8 мг/мл хлорида натрия ( $\text{NaCl}$ ). В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция по существу не содержит хлорида натрия. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция не содержит хлорида натрия.

[0171] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, включают определенные количества или концентрации полоксамера 188 (P188). В некоторых вариантах осуществления полоксамер представляет



собой полоксамер 101, 105, 108, 122, 123, 124, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 212, 215, 217, 231, 234, 235, 237, 238, 282, 284, 288, 331, 333, 334, 335, 338, 401, 402, 403 или 407. В некоторых вариантах осуществления полоксамер представляет собой полоксамер 407. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,01 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл полоксамера. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере приблизительно 1 мг/мл полоксамера.

[0172] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, включают определенные количества или концентрации полоксамера 188 (P188). Неограничивающие раскрытия, относящиеся к P188, можно найти в Strickley and Lambert (2021) *Journal of Pharmaceutical Sciences* 110 2590-2608, полные содержания каждого из которых включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,01% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере приблизительно 0,1% полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,1% полоксамера 188.

[0173] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,01% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,02% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,03% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,04% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,05% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,06% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,07% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,08% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,09% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

[0174] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,11% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,12% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,13% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,14% (вес/об.)

полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,15% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,16% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,17% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,18% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,19% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,2% (вес/об.) полоксамера 188.

[0175] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,3% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,4% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,5% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,6% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,7% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,8% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,9% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,0% (вес/об.) полоксамера 188.

[0176] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации. В некоторых вариантах осуществления раствор, предназначенный для лиофилизации, не содержит NaCl.

[0177] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

(a) от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 8% (вес/об.) сахарозы;

(b) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина;

(c) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина;

(d) от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция и

(e) от приблизительно 0,1% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.)

полоксамера. В некоторых вариантах осуществления полоксамер представляет собой полоксамер 188 (P188). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит полоксамер 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой

раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0178] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизованной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор не содержит NaCl.

[0179] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 1% (вес/об.) сахарозы;

(b) приблизительно 10 мМ гистидина;

(c) приблизительно 250 мМ аргинина;

(d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и

(e) приблизительно 0,1% полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0180] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 2% (вес/об.) сахарозы;

(b) приблизительно 10 мМ гистидина;

(c) приблизительно 250 мМ аргинина;

(d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и

(e) приблизительно 0,1% полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0181] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы;

(b) приблизительно 10 мМ гистидина;

(c) приблизительно 250 мМ аргинина;

(d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и

[0182] (e) приблизительно 0,1% полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор,

предназначенный для лиофилизации. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит

- (a) от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ аргинина;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и

(e) приблизительно 0,1% полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0183] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 1%, 2% или 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ аргинина;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и

(e) приблизительно 0,1% полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0184] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 1%, 2% или 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ гистидина;
- (c) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и

(e) приблизительно 0,1% полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0185] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 1%, 2% или 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ гистидина;

(с) приблизительно 250 мМ аргинина;  
(d) от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция и  
(е) приблизительно 0,1% полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-НСl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0186] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 1%, 2% или 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ гистидина;
- (с) приблизительно 250 мМ аргинина;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и

[0187] (е) от приблизительно 0,008% (вес/об.) до приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления гистидин представляет собой L-гистидин. В некоторых вариантах осуществления аргинин представляет собой L-аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-НСl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0188] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 10, 20 или 50 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,552 мг/мл L-гистидина;
- (с) приблизительно 52,665 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) приблизительно 0,735 мг/мл хлорида кальция и
- (е) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

[0189] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 10, 20 или 50 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,552 мг/мл L-гистидина;
- (с) приблизительно 52,665 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) приблизительно 0,735 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (е) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

[0190] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 10, 20 или 50 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,552 мг/мл L-гистидина;
- (с) приблизительно 52,665 мг/мл L-аргинина-НСl;

(d) приблизительно 0,555 мг/мл хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0191] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 10, 20 или 50 мг/мл сахарозы;

(b) приблизительно 1,552 мг/мл L-гистидина;

(c) приблизительно 43,550 мг/мл L-аргинина;

(d) приблизительно 0,735 мг/мл дигидрата хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0192] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 10, 20 или 50 мг/мл сахарозы;

(b) приблизительно 1,552 мг/мл L-гистидина;

(c) приблизительно 43,550 мг/мл L-аргинина;

(d) приблизительно 0,735 мг/мл хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0193] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 10, 20 или 50 мг/мл сахарозы;

(b) приблизительно 1,552 мг/мл L-гистидина;

(c) приблизительно 43,550 мг/мл L-аргинина;

(d) приблизительно 0,555 мг/мл хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой раствор, предназначенный для лиофилизации.

[0194] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0195] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0196] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0197] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-НСl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0198] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим от приблизительно 6,5 до приблизительно 7,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,0. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 6,8.

[0199] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 6,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 6,6. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 6,7. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН,

составляющим приблизительно 6,8. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 6,9. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,0. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,1. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,2. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,3. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,4. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,5.

[0200] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 6,5. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 6,6. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 6,7. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 6,8. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 6,9. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 7,0. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 7,1. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 7,2. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 7,3. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 7,4. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим 7,5.

[0201] В некоторых вариантах осуществления объем 3,367 мл раствора, предназначенного для лиофилизации, добавляют в контейнер или флакон. В некоторых вариантах осуществления раствор, предназначенный для лиофилизации, подвергают лиофилизации, в результате чего получают лиофилизированную фармацевтическую композицию.

[0202] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от приблизительно 10 мг до приблизительно 200 мг сахарозы;
- (b) от приблизительно 2,5 мг до приблизительно 7,5 мг гистидина;
- (c) от приблизительно 140 мг до приблизительно 200 мг аргинина;
- (d) от приблизительно 1,5 мг до приблизительно 5 мг хлорида кальция и
- (e) от приблизительно 1 мг до приблизительно 10 мг полоксамера 188.

[0203] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:



(a) от приблизительно 10 мг до приблизительно 200 мг сахарозы;  
(b) от приблизительно 2,5 мг до приблизительно 7,5 мг L-гистидина;  
(c) от приблизительно 140 мг до приблизительно 200 мг L-аргинина;  
(d) от приблизительно 1,5 мг до приблизительно 5 мг хлорида кальция и  
(e) от приблизительно 1 мг до приблизительно 10 мг поллоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0204] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от 10 мг до 200 мг сахарозы;
- (b) от 2,5 мг до 7,5 мг гистидина;
- (c) от 140 мг до 200 мг аргинина;
- (d) от 1,5 мг до 5 мг хлорида кальция и
- (e) от 1 мг до 10 мг поллоксамера 188.

[0205] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от 10 мг до 200 мг сахарозы;
- (b) от 2,5 мг до 7,5 мг L-гистидина;
- (c) от 140 мг до 200 мг L-аргинина-HCl;
- (d) от 1,5 мг до 5 мг хлорида кальция и
- (e) от 1 мг до 10 мг поллоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0206] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от 10 мг до 200 мг сахарозы;
- (b) от 2,5 мг до 7,5 мг L-гистидина;
- (c) от 140 мг до 200 мг L-аргинина;
- (d) от 1,5 мг до 5 мг хлорида кальция и
- (e) от 1 мг до 10 мг поллоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0207] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 33,7, 67,3 или 168,4 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,2 мг L-гистидина;
- (c) приблизительно 177,3 мг L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 2,5 мг хлорида кальция и
- (e) приблизительно 3,4 мг поллоксамера 188.

[0208] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 33,7, 67,3 или 168,4 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,2 мг L-гистидина;
- (c) приблизительно 146,6 мг L-аргинина;
- (d) приблизительно 2,5 мг хлорида кальция и
- (e) приблизительно 3,4 мг поллоксамера 188.

[0209] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,7, 67,3 или 168,4 мг сахарозы;
- (b) 5,2 мг L-гистидина;
- (c) 177,3 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 2,5 мг хлорида кальция и
- (e) 3,4 мг поллоксамера 188.

[0210] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,7, 67,3 или 168,4 мг сахарозы;
- (b) 5,2 мг L-гистидина;
- (c) 146,6 мг L-аргинина;
- (d) 2,5 мг хлорида кальция и
- (e) 3,4 мг поллоксамера 188.

[0211] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 177,32 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 2,47 мг дигидрата хлорида кальция и

[0212] (e) 3,37 мг поллоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 177,32 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 1,87 мг хлорида кальция и
- (e) 3,37 мг поллоксамера 188.

[0213] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 146,63 мг L-аргинина;
- (d) 2,47 мг дигидрата хлорида кальция и
- (e) 3,37 мг поллоксамера 188.

[0214] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная

фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 146,63 мг L-аргинина;
- (d) 1,87 мг хлорида кальция и
- (e) 3,37 мг полоксамера 188.

[0215] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная

фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от 10 мг до 200 мг сахарозы;
- (b) 5,2 мг L-гистидина;
- (c) 177,3 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 2,5 мг дигидрата хлорида кальция и
- (e) 3,4 мг полоксамера 188.

[0216] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная

фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от 10 мг до 200 мг сахарозы;
- (b) 5,2 мг L-гистидина;
- (c) 177,3 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 1,9 мг хлорида кальция и
- (e) 3,4 мг полоксамера 188.

[0217] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная

фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от 10 мг до 200 мг сахарозы;
- (b) 5,2 мг L-гистидина;
- (c) 146,6 мг L-аргинина;
- (d) 2,5 мг дигидрата хлорида кальция и
- (e) 3,4 мг полоксамера 188.

[0218] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная

фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от 10 мг до 200 мг сахарозы;
- (b) 5,2 мг L-гистидина;
- (c) 146,6 мг L-аргинина;
- (d) 1,9 мг хлорида кальция и
- (e) 3,4 мг полоксамера 188.

[0219] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная

фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,7, 67,3 или 168,4 мг сахарозы;
- (b) от 2,5 мг до 7,5 мг L-гистидина;
- (c) 177,3 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 2,5 мг дигидрата хлорида кальция и

- (e) 3,4 мг полоксамера 188.
- [0220] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:
- (a) 33,7, 67,3 или 168,4 мг сахарозы;
  - (b) от 2,5 мг до 7,5 мг L-гистидина;
  - (c) 177,3 мг L-аргинина-HCl;
  - (d) 1,9 мг хлорида кальция и
  - (e) 3,4 мг полоксамера 188.
- [0221] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:
- (a) 33,7, 67,3 или 168,4 мг сахарозы;
  - (b) от 2,5 мг до 7,5 мг L-гистидина;
  - (c) 146,6 мг L-аргинина;
  - (d) 2,5 мг дигидрата хлорида кальция и
  - (e) 3,4 мг полоксамера 188.
- [0222] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:
- (a) 33,7, 67,3 или 168,4 мг сахарозы;
  - (b) от 2,5 мг до 7,5 мг L-гистидина;
  - (c) 146,6 мг L-аргинина;
  - (d) 1,9 мг хлорида кальция и
  - (e) 3,4 мг полоксамера 188.
- [0223] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:
- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
  - (b) 5,23 мг L-гистидина;
  - (c) от 140 мг до 200 мг L-аргинина;
  - (d) от 1,5 мг до 5 мг хлорида кальция и
  - (e) 3,37 мг полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит от 140 мг до 200 мг L-аргинина-HCl.
- [0224] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:
- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
  - (b) 5,23 мг L-гистидина;
  - (c) 177,32 мг L-аргинина-HCl;
  - (d) от 1,5 мг до 5 мг хлорида кальция и
  - (e) 3,37 мг полоксамера 188.
- [0225] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:
- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;

- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 146,63 мг L-аргинина;
- (d) от 1,5 мг до 5 мг хлорида кальция и
- (e) 3,37 мг полоксамера 188.

[0226] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 177,32 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 2,47 мг дигидрата хлорида кальция и
- (e) от 1 мг до 10 мг полоксамера 188.

[0227] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 177,32 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 1,87 мг хлорида кальция и
- (e) от 1 мг до 10 мг полоксамера 188.

[0228] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 146,63 мг L-аргинина;
- (d) 2,47 мг дигидрата хлорида кальция и
- (e) от 1 мг до 10 мг полоксамера 188.

[0229] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 146,63 мг L-аргинина;
- (d) 1,87 мг хлорида кальция и
- (e) от 1 мг до 10 мг полоксамера 188.

[0230] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция характеризуется содержанием влаги менее 2%. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция характеризуется содержанием влаги менее 1,8%. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция характеризуется содержанием влаги менее 1,6%.

[0231] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная фармацевтическая композиция находится в виде лиофилизированной массы. В некоторых

вариантах осуществления лиофилизированная масса является белой. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная масса характеризуется значением менее Y4 по цветовой шкале Европейской Фармакопеи. См. Coloration of Liquids (Method 2.2.2), European Pharmacopoeia, 10<sup>th</sup> Ed. (2021).

[0232] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированную фармацевтическую композицию и стерильную воду объединяют с получением инъеклируемого раствора. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированную фармацевтическую композицию объединяют со стерильной водой в количестве, составляющем от приблизительно 2 до приблизительно 5 мл. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированную фармацевтическую композицию объединяют со стерильной водой в количестве, составляющем приблизительно 3 мл. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированную фармацевтическую композицию объединяют со стерильной водой в количестве, составляющем 3 мл. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода представляет собой стерильную воду степени чистоты, соответствующей требованиям Фармакопеи США. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода представляет собой стерильную воду для инъекций степени чистоты, соответствующей требованиям Фармакопеи США. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода не содержит пирогенов или является апиrogenной. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода не содержит бактериостатического или противомикробного средства. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода содержит бактериостатическое или противомикробное средство. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода стерилизована с использованием фильтра. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода стерилизована с использованием фильтра с размером пор 0,1 мкм. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода представляет собой дистиллированную воду. В некоторых вариантах осуществления стерильная вода представляет собой стерильную, апиrogenную, дистиллированную воду, гипотоническую, с осмолярностью ноль мОсмоль/л и не содержит бактериостатическое или противомикробное средство.

[0233] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;

(b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;

(c) от 50 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина;

(d) от 0,7 мг/мл до 0,9 мг/мл дигидрата хлорида кальция и

(e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl.

[0234] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 50 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина;
- (d) от 0,5 мг/мл до 0,8 мг/мл хлорида кальция и

(e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0235] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0236] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0237] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0238] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах

осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0239] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 60 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0240] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 60 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах

осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0241] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 60 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 44,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0242] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 60 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 44,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах

осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0243] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:



- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) от приблизительно 1,5 мг/мл до приблизительно 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0244] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) от приблизительно 1,5 мг/мл до приблизительно 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл поллоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0245] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) от приблизительно 1,5 мг/мл до приблизительно 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0246] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 22,45 мг/мл сахарозы;
- (b) от приблизительно 1,5 мг/мл до приблизительно 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл поллоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0247] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 70 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0248] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) от приблизительно 50 мг/мл до приблизительно 70 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0249] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) от приблизительно 40 мг/мл до приблизительно 60 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0250] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) от приблизительно 40 мг/мл до приблизительно 60 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0251] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) от приблизительно 0,7 мг/мл до приблизительно 0,9 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0252] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;

(b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;  
(c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;  
(d) от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 0,9 мг/мл хлорида кальция и  
(e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0253] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;  
(b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;  
(c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;  
(d) от приблизительно 0,7 мг/мл до приблизительно 0,9 мг/мл дигидрата хлорида кальция и  
(e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl.

[0254] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;  
(b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;  
(c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;  
(d) от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 0,7 мг/мл хлорида кальция и  
(e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0255] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;  
(b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;  
(c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;  
(d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и  
(e) от приблизительно 0,6 мг/мл до приблизительно 1,6 мг/мл полоксамера 188.

[0256] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

(a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;  
(b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;  
(c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;  
(d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и

(е) от приблизительно 0,6 мг/мл до приблизительно 1,6 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0257] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) от приблизительно 0,6 мг/мл до приблизительно 1,6 мг/мл полоксамера 188.

[0258] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) от приблизительно 0,6 мг/мл до приблизительно 1,6 мг/мл полоксамера 188. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит L-аргинин-HCl. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит дигидрат хлорида кальция.

[0259] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0260] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл полоксамера 188.

[0261] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0262] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 11,23, 22,45 или 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

[0263] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,23 мг L-гистидина;
- (c) приблизительно 177,32 мг L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 2,47 мг хлорида кальция и
- (e) приблизительно 3,37 мг поллоксамера 188.

в 3 мл стерильной воды.

[0264] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,23 мг L-гистидина;
- (c) приблизительно 146,63 мг L-аргинина;
- (d) приблизительно 2,47 мг дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 3,37 мг поллоксамера 188.

в 3 мл стерильной воды.

[0265] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) приблизительно 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) приблизительно 5,23 мг L-гистидина;
- (c) приблизительно 146,63 мг L-аргинина;
- (d) приблизительно 1,87 мг хлорида кальция и
- (e) приблизительно 3,37 мг поллоксамера 188.

в 3 мл стерильной воды.

[0266] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 177,32 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 2,47 мг дигидрата хлорида кальция и
- (e) 3,37 мг полоксамера 188.

в 3 мл стерильной воды.

[0267] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 177,32 мг L-аргинина-HCl;
- (d) 1,87 мг хлорида кальция и
- (e) 3,37 мг полоксамера 188.

в 3 мл стерильной воды.

[0268] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 146,63 мг L-аргинина;
- (d) 2,47 мг дигидрата хлорида кальция и
- (e) 3,37 мг полоксамера 188.

в 3 мл стерильной воды.

[0269] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды полученный в результате раствор содержит:

- (a) 33,67, 67,34 или 168,35 мг сахарозы;
- (b) 5,23 мг L-гистидина;
- (c) 146,63 мг L-аргинина;
- (d) 1,87 мг хлорида кальция и
- (e) 3,37 мг полоксамера 188.

в 3 мл стерильной воды.

[0270] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды лиофилизированная фармацевтическая композиция восстанавливается за 7-12 секунд.

[0271] В некоторых вариантах осуществления при объединении







осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды концентрация белка в полученном в результате растворе составляет 0,9 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды концентрация белка в полученном в результате растворе составляет 1,0 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды концентрация белка в полученном в результате растворе составляет 1,1 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды концентрация белка в полученном в результате растворе составляет 1,2 мг/мл.

[0278] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды мутность полученного в результате раствора составляет менее приблизительно 7 нефелометрических единиц мутности.

[0279] В некоторых вариантах осуществления при объединении лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды менее 3% химерного белка является агрегированным.

[0280] В данном документе раскрыт способ хранения фармацевтической композиции, включающий поддержание фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе, при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию хранят при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию хранят при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию хранят при температуре приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 или 12 месяцев.

[0281] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция хранилась при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция хранилась при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция хранилась при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или

приблизительно  $-40^{\circ}$  С в течение периода по меньшей мере приблизительно 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция хранилась при температуре приблизительно  $-30^{\circ}$  С в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 или 12 месяцев.

[0282] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 2-5 раз. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 2 раза. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 3 раза. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 4 раза. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую фармацевтическую композицию, которая была заморожена, а затем подвергнута оттаиванию 5 раз.

[0283] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 2 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,5 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1,5 мг/мл химерного белка. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2 мг/мл химерного белка.

#### V. Фармацевтические наборы

[0284] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция предусматривает второй контейнер, содержащий стерильную воду. В данном документе раскрыты фармацевтические наборы, которые содержат первый контейнер, содержащий фармацевтическую композицию, и второй контейнер, содержащий стерильную воду.

[0285] В данном документе раскрыт фармацевтический набор, содержащий:

(i) первый контейнер, содержащий лиофилизированную фармацевтическую композицию, содержащую:

(a) химерный белок, содержащий первую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор VIII ("FVIII"), или его часть, и первую константную область иммуноглобулина ("Ig") или ее часть, и вторую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор фон Виллебранда ("VWF"), и вторую

константную область Ig или ее часть;

- (b) от приблизительно 10 мг до приблизительно 200 мг сахарозы;
- (c) от приблизительно 2,5 мг до приблизительно 7,5 мг гистидина;
- (d) от приблизительно 140 мг до приблизительно 200 мг аргинина;
- (e) от приблизительно 1,5 мг до приблизительно 5 мг хлорида кальция и
- (f) от приблизительно 0,5 мг до приблизительно 10 мг поллоксамера 188, и
- (ii) второй контейнер, содержащий стерильную воду.

[0286] В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит от 100 МЕ до 10000 МЕ химерного белка.

[0287] В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит 250 МЕ, 500 МЕ, 1000 МЕ, 2000 МЕ, 3000 МЕ или 4000 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит приблизительно 250 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит приблизительно 500 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит приблизительно 1000 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит приблизительно 2000 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит приблизительно 3000 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит приблизительно 4000 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит более чем приблизительно 250 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит более чем приблизительно 300 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит более чем приблизительно 500 МЕ химерного белка. В некоторых вариантах осуществления первый контейнер содержит по меньшей мере приблизительно 500 МЕ химерного белка.

[0288] В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит от приблизительно 2 мл до приблизительно 5 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит от приблизительно 2 мл до 5 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит приблизительно 3 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит 3 мл стерильной воды.

[0289] В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит приблизительно 2 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит приблизительно 2,1 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит приблизительно 2,2 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит приблизительно 2,3 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит приблизительно 2,4 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит приблизительно 2,5 мл стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер содержит приблизительно 2,6 мл стерильной воды. В



дополнительно содержит систему для инфузии, ассоциированную с иглой, предназначенной для присоединения к корпусу шприца, подходящего для внутривенной инфузии. В некоторых вариантах осуществления второй контейнер представляет собой предварительно заполненный шприц.

[0293] В данном документе раскрыт способ хранения фармацевтического набора, включающий поддержание фармацевтического набора, раскрытого в данном документе, при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранят при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранят при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранят при температуре приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 или 12 месяцев.

[0294] В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранился при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранился при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранился при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33 или 36 месяцев. В некоторых вариантах осуществления фармацевтический набор хранился при температуре приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 или 12 месяцев.

#### VI. Способы и варианты применения фармацевтической композиции

[0295] Также в данном документе раскрыто применение фармацевтической композиции или способ лечения гемофилии А у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления лечение гемофилии А предусматривает предупреждение эпизода кровотечения у субъекта-человека, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах осуществления лечение гемофилии А предусматривает лечение эпизода кровотечения у субъекта-человека, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах осуществления лечение гемофилии А предусматривает

контроль встречаемости или частоты эпизодов кровотечения у субъекта-человека, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах осуществления лечение гемофилии А предусматривает уменьшение встречаемости или частоты эпизодов кровотечения у субъекта-человека, нуждающегося в этом.

[0296] В некоторых вариантах осуществления композицию применяют для лечения заболевания или состояния, связанного с кровотечением, у субъекта, нуждающегося в этом. Заболевание или состояние, связанное с кровотечением, выбрано из группы, состоящей из коагуляционного нарушения свертываемости крови, гемартроза, мышечного кровотечения, кровотечения из полости рта, кровоизлияния, кровоизлияния в мышцы, кровоизлияния в полости рта, травмы, черепно-мозговой травмы, желудочно-кишечного кровотечения, внутричерепного кровоизлияния, внутрибрюшного кровоизлияния, внутригрудного кровоизлияния, перелома кости, кровотечения в центральной нервной системе, кровотечения в заглоточном пространстве, кровотечения в забрюшинном пространстве, кровотечения во влагалище подвздошно-поясничной мышцы и любых их комбинаций. В еще нескольких других вариантах осуществления у субъекта запланировано проведение хирургического вмешательства. В некоторых вариантах осуществления лечение является профилактическим или проводится по необходимости.

[0297] В некоторых вариантах осуществления применение или способ предусматривают объединение лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды из набора по настоящему изобретению и введение субъекту эффективного количества полученной в результате комбинации. В некоторых вариантах осуществления субъект объединяет лиофилизированную фармацевтическую композицию и стерильную воду из набора. В некоторых вариантах осуществления комбинация вводится субъектом самостоятельно.

[0298] В некоторых вариантах осуществления несколько доз предусматривают по меньшей мере две дозы, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере четыре дозы, по меньшей мере пять доз, по меньшей мере шесть доз, по меньшей мере семь доз, по меньшей мере восемь доз, по меньшей мере девять доз, по меньшей мере десять доз, по меньшей мере одиннадцать доз, по меньшей мере двенадцать доз, по меньшей мере тринадцать доз, по меньшей мере четырнадцать доз, по меньшей мере пятнадцать доз, по меньшей мере шестнадцать доз, по меньшей мере семнадцать доз, по меньшей мере восемнадцать доз, по меньшей мере девятнадцать доз, по меньшей мере двадцать доз или больше. В некоторых вариантах осуществления несколько доз вводят в течение по меньшей мере приблизительно 1 месяца, по меньшей мере приблизительно 2 месяцев, по меньшей мере приблизительно 3 месяцев, по меньшей мере приблизительно 4 месяцев, по меньшей мере приблизительно 5 месяцев, по меньшей мере приблизительно 6 месяцев, по меньшей мере приблизительно 12 месяцев, по меньшей мере приблизительно 18 месяцев, по меньшей мере приблизительно 2 лет, по меньшей мере приблизительно 3 лет, по меньшей мере приблизительно 4 лет, по меньшей мере приблизительно 5 лет, по меньшей мере приблизительно 10 лет, по меньшей мере приблизительно 15 лет, по меньшей мере

приблизительно 20 лет или в течение по меньшей мере приблизительно 25 лет.

[0299] Химерный белок, описанный в данном документе, можно вводить любыми способами, известными из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления химерный белок вводят посредством пути, выбранного из группы, состоящей из внутривенной инъекции, внутривенной инфузии, подкожного введения, внутримышечного введения, перорального введения, назального введения и легочного введения. В некоторых вариантах осуществления химерный белок вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления химерный белок вводят подкожно.

[0300] Теперь при наличии подробного описания настоящего изобретения такое будет более четко понятным благодаря ссылке на следующие примеры, которые включены в данный документ только в целях иллюстрации и не предназначены для ограничения настоящего изобретения. Все патенты, публикации и статьи, упомянутые в данном документе, в явной форме и конкретным образом включены в него посредством ссылки.

#### ПРИМЕРЫ

Пример 1. Оценка агрегации для композиций на основе эфанесоктокога альфа, содержащих различные поверхностно-активные вещества

[0301] С помощью экспериментов, описанных в данном примере, оценивают стабильность эфанесоктокога-альфа в фармацевтических композициях, содержащих другое поверхностно-активное вещество (полоксамер 188), составленных с различными концентрациями сахарозы. В дополнение к сахарозе каждая композиция также содержала 10 мМ L-гистидина, 250 мМ L-аргинина-HCl, 5 мМ CaCl<sub>2</sub> и 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 (полоксамер 188) при pH 6,8. Показатели стабильности для композиций, содержащих полоксамер 188, также сравнивали с показателями стабильности для в остальном идентичных композиций, содержащих PS80, для оценки эффекта выбранного поверхностно-активного вещества.

[0302] Для дополнительного анализа влияния концентрации сахарозы на композиции на основе эфанесоктокога-альфа, содержащие полоксамер 188, фармацевтические композиции на основе эфанесоктокога-альфа с содержанием сахарозы 0, 1, 2 и 5% вес/об. подвергали воздействию различных условий исследования стабильности, и при этом стабильность оценивали с применением нескольких способов. Композиции тестировали на следующих стадиях получения продукта: стабильность лекарственного вещества (DS, которое не было лиофилизировано или не отрегулировано до какого-либо конкретного значения активности в ME) при хранении в замороженном состоянии, стабильность DS при замораживании/оттаивании (FT), стабильность жидкого DS после оттаивания, стабильность разбавленного DS и лекарственного продукта (DP), стабильность DP при лиофилизации и DP после восстановления.

[0303] Агрегацию для композиций на основе эфанесоктокога-альфа измеряли посредством анализа методом SEC (%HMWS). В анализе методом SEC используют прибор для HPLC, оснащенный насосом, автоматическим пробоотборником с контролем

температуры, нагревателем колонки и флуоресцентным детектором. Растворы образцов анализируют с использованием следующих приборов и параметров способа.

Подвижная фаза: фосфатно-солевой буфер Дульбекко (D-PBS), содержащий кальций и магний, с добавлением 0,36 М хлорида натрия (0,9 мМ хлорида кальция, 0,5 мМ хлорида магния, 2,7 мМ хлорида калия, 1,5 мМ одноосновного фосфата калия, 496 мМ хлорида натрия, 8,1 мМ двухосновного фосфата натрия, pH  $7,0 \pm 0,1$ ).

Нагреватель колонки: 26°C.

Время анализа: 40 минут.

Детектор FL: Ex/Em=280/350 нм, коэффициент усиления PMT=5.

Массовая нагрузка вводимой пробы: 2 мкг.

Температура автоматического пробоотборника: 5°C.

Скорость потока: 0,5 мл/мин, изократический.

[0304] Агрегацию для композиций на основе лекарственного вещества (DS), представляющего собой эфанесоктоког-альфа (1 мг/мл), содержащих либо 0,5% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества, а также либо 1%, либо 5% (вес/об.) сахарозы тестировали при условиях комнатной температуры (RT)/комнатного освещения (RL) или при 2-8° С. Результаты в отношении агрегации в условиях RT/RL с течением времени (часы) показаны на фиг. 2. В условиях RT/RL снижение содержания сахарозы от 5% до 1% увеличивало агрегацию в 2 раза для композиций, содержащих любое поверхностно-активное вещество. В условиях RT/RL значения увеличения скорости агрегации являлись приблизительно одинаковыми как для композиций, содержащих полксамер 188, так и для композиций, содержащих PS80.

[0305] Результаты в отношении агрегации при температуре 2-8° С с течением времени (часы) показаны на фиг. 3. В условиях, предусматривающих 2-8° С, снижение содержания сахарозы от 5% до 1% увеличивало агрегацию в 2 раза в композициях, содержащих PS80, что было аналогично результатам в условиях RT/RL. Однако при температуре 2-8° С снижение содержания сахарозы от 5% до 1% увеличивало агрегацию в 10 раз для композиций, содержащих PS80. При температуре 2-8° С значения увеличения скорости агрегации являлись более низкими для композиций, содержащих полксамер 188, чем для композиций, содержащих PS80.

[0306] Агрегацию для композиций на основе лекарственного вещества (DS), представляющего собой эфанесоктоког-альфа, в дозе 4000 МЕ и содержащих либо 0,5% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества, оценивали посредством анализа общего времени выдерживания. Жидкие композиции на основе эфанесоктокога-альфа выдерживали при комнатной температуре и тестировали через 0, 5, 7, 25, 43 и 55 часов. Образцы также тестировали после лиофилизации.

[0307] Результаты анализа общего времени выдерживания показаны на фиг. 4. Жидкие композиции на основе лекарственного вещества (DS), представляющего собой эфанесоктоког-альфа, с последующими разбавлениями до 4000 МЕ, содержащие 1%



сахарозы и 0,05% PS80, показали наибольшее увеличение агрегации (см. фиг. 4, график с квадратными маркерами). Результаты этого анализа общего времени выдерживания также показывают, что композиции, содержащие полоксамер 188, могут быть умеренно более стабильными, чем композиции, содержащие PS80, в жидком состоянии при RT.

[0308] Стабильность при хранении в замороженном состоянии для композиций на основе DS, представляющего собой, эфанесоктоког-альфа, в концентрации 1 мг/мл оценивали для композиций, содержащих либо 0,5% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества. Композиции, содержащие 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, выдерживали при температурах замерзания ( $-80^{\circ}\text{C}$  или  $-30^{\circ}\text{C}$ ). Моментами времени, в которые осуществляли измерения, являлись: до замораживания, начало эксперимента ( $T_0$ ), один месяц ( $T_{1M}$ ), 3 месяца ( $T_{3M}$ ) и 6 месяцев ( $T_{6M}$ ).

[0309] Результаты анализа стабильности при хранении в замороженном состоянии для композиций, содержащих 0,5% (вес/об.) PS80, показаны на фиг. 5. Результаты анализа стабильности при хранении в замороженном состоянии для композиций, содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188, показаны на фиг. 6. Какой-либо тенденции к агрегации ни для одной из тестируемых композиций при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  не наблюдали. Однако при температуре  $-30^{\circ}\text{C}$  композиции, содержащие поверхностно-активное вещество PS80, показали увеличение агрегации (см. фиг. 5). Этот эффект был наиболее очевиден при более низких концентрациях сахарозы (см., например, фиг. 5, результат с содержанием сахарозы 0%). Напротив, композиции, содержащие полоксамер 188, не показали увеличения агрегации при температуре  $-30^{\circ}\text{C}$  (см. фиг. 6). Композиции, содержащие полоксамер 188, показали сопоставимые уровни агрегации как при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ , так и при температуре  $-30^{\circ}\text{C}$ . Таким образом, применение полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества может обеспечить улучшенную стабильность при хранении в замороженном состоянии для композиций на основе эфанесоктокога-альфа, особенно если композиции хранятся при температуре  $-30^{\circ}\text{C}$ .

[0310] Стабильность при хранении в замороженном состоянии для композиций на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, (1 мг/мл), содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188, дополнительно анализировали посредством тестирования частиц с использованием высокоточного счетчика частиц в жидкости (НІАС). Композиции на основе DS, содержащие 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, хранили при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  и оценивали в следующие моменты времени: до замораживания, начало эксперимента ( $T_0$ ), один месяц ( $T_{1M}$ ), 3 месяца ( $T_{3M}$ ) и 6 месяцев ( $T_{6M}$ ). Результаты для частиц размером  $\geq 10$  мкм показаны на фиг. 7А. Результаты для частиц размером  $\geq 25$  мкм показаны на фиг. 7В. Количество частиц размером  $\geq 10$  мкм составляет менее чем 6000 частиц, а количество частиц размером  $\geq 25$  мкм составляет менее чем 600 частиц, и значения находятся в пределах, предусматриваемых <USP 787>. Каких-либо значимых тенденций применительно к частицам в ходе хранения не наблюдалось.

[0311] Агрегацию в композициях на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyо DP), содержащего 250 ME или 4000 ME эфанесоктокога-альфа, и содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188, тестировали при 5° С, 30° С и 40° С. Тестировали композиции на основе Lyо DP, содержащие 1 и 5% вес/об. сахарозы. Образцы тестировали в момент времени T<sub>0</sub>, через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца и 6 месяцев.

[0312] Результаты для композиций на основе Lyо DP в количестве 250 ME показаны на фиг. 8А (5° С), фиг. 8В (30° С) и фиг. 8С (40° С). В отношении композиций, характеризующихся количеством 250 ME, более высокую степень агрегации обычно наблюдали в композициях, содержащих полоксамер 188, чем в композициях, содержащих PS80 (данные не показаны). Композиции, характеризующиеся количеством 250 ME, содержащие 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 и 1% сахарозы, продемонстрировали значительные увеличения степени агрегации при всех температурах.

[0313] Результаты для композиций на основе Lyо DP в количестве 4000 ME показаны на фиг. 9А (5° С), фиг. 9В (30° С) и фиг. 9С (40° С). В отношении всех композиций, характеризующихся количеством 4000 ME, содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188, не наблюдалось каких-либо тенденций к агрегации при любой температуре для обеих концентраций сахарозы. Этот результат согласуется с результатами для композиций на основе Lyо DP в количестве 4000 ME, содержащих 0,5% (вес/об.) PS80, которые также не продемонстрировали заметных тенденций в отношении агрегации в зависимости от концентрации сахарозы или температуры (данные не показаны).

[0314] Агрегацию для композиций на основе эфанесоктокога-альфа после стрессового воздействия в виде замораживания/оттаивания (F/T) также анализировали в случае каждого поверхностно-активного вещества. Композиции, полученные на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, в концентрации 1 мг/мл и содержащие либо 0,5% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, подвергали стрессовому воздействию в виде F/T при температуре либо -80°С, либо -30°С в рамках 5 циклов (5X) (не менее чем 24 ч, оттаивание при комнатной температуре). Образцы тестировали до (перед замораживанием) и после осуществления 5 циклов F/T.

[0315] Результаты для композиций, содержащих 0,5% (вес/об.) PS80, показаны на фиг. 10. Результаты для композиций, содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188, показаны на фиг. 11. Композиции на основе DS, содержащие 0,5% (вес/об.) PS80, показали умеренное увеличение агрегации после 5х циклов F/T при температуре -80° С (см. фиг. 10). Однако композиции на основе DS, содержащие 0,1% (вес/об.) полоксамера 188, не показали изменений в агрегации после 5х циклов F/T при температуре -80° С (см. фиг. 11). Композиции, содержащие любое поверхностно-активное вещество, показали увеличения агрегации после 5х циклов F/T при температуре -30° С. Однако увеличение агрегации являлось значительно более высоким в композициях на основе DS, содержащих 0,5% (вес/об.) PS80, чем в композициях, содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 (фиг.

10 и фиг. 11 для сравнения). Таким образом, по-видимому, 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества в композициях на основе эфанесоктокога-альфа может обеспечивать слегка улучшенную стабильность при F/T при температуре -80° С и значительно улучшенную стабильность при F/T при температуре -30° С по сравнению с 0,5% (вес/об.) PS80 в качестве поверхностно-активного вещества.

[0316] В таблице 1 приведено краткое изложение результатов тестирования в отношении агрегации для композиций на основе эфанесоктокога-альфа, содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

Таблица 1. Краткое изложение результатов анализа агрегации (%HMWS) для составов с 0,1% (вес/об.) полоксамера 188

Конц. сахарозы, %	Хранение в замороженном состоянии, % (-80° С) (1 мг/мл)		Жидкое DS, уровень в %/ч (1 мг/мл)		Жидкий BDP, уровень в %/ч (4000 ME)		Кумулят. %/ч (4000 ME)			Lyo DP (Δ6M) (4000 ME)			Lyo DP (Δ6M) (250 ME)		
	Δ6M	Δ5XFT	RT	5° С	RT	5° С/RT	5° С	30° С	40° С	5° С	30° С	40° С	5° С	30° С	40° С
5	0,5	0,2	0,00	0,00	0,05	0,02	0,2	0,0	0,0	1,2	0,8	-0,3			
2	0,7	1,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	0,3	1,3	0,08	0,03	0,04	0,03	0,2	0,3	-0,1	-0,2	-0,1	3,34			
0	0,7	0,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND=не определено

[0317] В целом, эти исследования агрегации позволяют предположить, что композиции на основе эфанесоктокога-альфа могут иметь улучшенную стабильность, если они составлены с 0,1% (вес/об.) полоксамера 188, а не с 0,5% (вес/об.) PS80. Композиции, содержащие полоксамер 188, показали значительное улучшение по сравнению с композициями, содержащими PS80, в анализах применительно к F/T и стабильности при хранении в замороженном состоянии при температуре -30° С при всех концентрациях сахарозы. Соответственно, полоксамер 188 может быть предпочтительнее PS80 для любых композиций на основе эфанесоктокога-альфа, подлежащих хранению при температуре -30° С. Жидкие композиции на основе DS и BDP, предусматривающих эфанесоктоког-альфа, также показали улучшенную стабильность в случае композиций, содержащих полоксамер 188, по сравнению с композициями, содержащими PS80. В

случае композиций на основе лиофилизированного DP, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, композиции, содержащие полоксамер 188, при количестве, составляющем 4000 ME, показали благоприятную стабильность в течение 6 месяцев при температуре 40° С. Однако лиофилизированный лекарственный продукт, предусматривающий PS80, показал значительно большую стабильность, при количестве, составляющем 250 ME, по сравнению с полоксамером 188.

Пример 2. Оценка дополнительных показателей стабильности для композиций на основе эфанесоктокога-альфа, содержащих различные поверхностно-активные вещества

[0318] В дополнение к агрегации оценивали другие количественные показатели стабильности для композиций на основе эфанесоктокога-альфа, содержащих различные поверхностно-активные вещества.

[0319] Концентрацию поверхностно-активного вещества в композициях на основе эфанесоктокога-альфа после стрессового воздействия в виде F/T анализировали посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC). Композиции, полученные на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, в концентрации 1 мг/мл и содержащие либо 0,5% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, подвергали стрессовому воздействию в виде F/T в рамках 5 циклов F/T при температуре либо -80°С, либо -30°С (не менее чем 24 ч, оттаивание при комнатной температуре). Образцы тестировали до (перед замораживанием) и после осуществления 1, 3 или 5 циклов F/T. Результаты для композиций на основе DS, содержащих 0,5% (вес/об.) PS80 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, показаны на фиг. 12А. Результаты для композиций на основе DS, содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, показаны на фиг. 12В. Наблюдали отсутствие изменения концентрации поверхностно-активного вещества на протяжении всех циклов F/T применительно к каждому из поверхностно-активного вещества и концентрации сахарозы.

[0320] Также анализировали изменение pH композиций на основе эфанесоктокога-альфа после стрессового воздействия в виде F/T. Композиции, полученные на основе DS, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, в концентрации 1 мг/мл и содержащие либо 0,5% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы, подвергали стрессовому воздействию в виде F/T в рамках 5 циклов F/T при температуре либо -80°С, либо -30°С (не менее чем 24 ч, оттаивание при комнатной температуре). Образцы тестировали до (перед замораживанием) и после осуществления 1, 3 или 5 циклов F/T. Результаты анализа pH показаны на фиг. 13. Каких-либо существенных тенденций в отношении pH или его изменений не наблюдалось ни для одной из тестируемых композиций.

[0321] Исследовали мутность композиций, содержащих DS, представляющее собой эфанесоктоког-альфа, в концентрации 1 мг/мл и полоксамер 188. Тестировали композиции, содержащие 1% или 5% сахарозы, и результаты сравнивали с результатами относительно мутности композиций на основе DS, представляющего собой

эфанесоктоког-альфа, в концентрации 1 мг/мл, содержащих PS80. Каких-либо тенденций или изменений мутности не наблюдали ни для одной из тестируемых композиций, содержащих полоксамер 188 (данные не показаны).

[0322] Температуру стеклования ( $T_g$ ) измеряли для композиций на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyo DP), содержащего 250 МЕ или 4000 МЕ эфанесоктокога-альфа, и содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы.  $T_g$  измеряли с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии с температурной модуляцией (DSC) в соответствии со следующими стадиями: (i) уравнивание при  $15^\circ\text{C}$ , (ii) модулирование температуры на  $1^\circ\text{C}$  каждые 60 секунд, (iii) постоянная температура в течение 5 минут и (iv) линейное повышение температуры при  $3^\circ\text{C}/\text{мин}$  до  $130^\circ\text{C}$ . Остаточное содержание влаги (%) также измеряли для всех образцов. Результаты относительно  $T_g$  и остаточного содержания влаги для Lyo DP в количестве 250 МЕ при  $T_0$  показаны на фиг. 14. Результаты  $T_g$  и остаточного содержания влаги для Lyo DP в количестве 4000 МЕ при  $T_0$  показаны на фиг. 15.

[0323]  $T_g$  определяли для композиций на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyo DP), содержащего 4000 МЕ или 250 МЕ эфанесоктокога-альфа, и содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 5% или 1% (вес/об.) сахарозы. Образцы выдерживали при температуре  $5^\circ\text{C}$ ,  $30^\circ\text{C}$  или  $40^\circ\text{C}$  и тестировали в момент времени  $T_0$ , через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца и 6 месяцев. Результаты показаны на фиг. 16A ( $5^\circ\text{C}$ ), фиг. 16B ( $30^\circ\text{C}$ ) и фиг. 16C ( $40^\circ\text{C}$ ).

[0324] Температуру стеклования ( $T_g$ ) также определяли для жидких композиций на основе нерасфасованного лекарственного продукта (BDP), содержащего 250 МЕ или 4000 МЕ эфанесоктокога-альфа, и содержащих либо 0,5% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 0, 1, 2 или 5% (вес/об.) сахарозы. Результаты относительно  $T_g$  для обоих поверхностно-активных веществ при всех значениях содержания и концентрациях сахарозы показаны на фиг. 17.

[0325] Для композиций, предусматривающих как 250 МЕ, так и 4000 МЕ, содержащих любое поверхностно-активное вещество, обычно наблюдалось, что  $T_g$  коррелирует с концентрацией сахарозы, причем для более высокой концентрации сахарозы наблюдалось более низкое значение  $T_g$ . Каких-либо значительных различий в  $T_g$  в зависимости от типа поверхностно-активного вещества не наблюдалось ни для концентрации 250 МЕ, ни для концентрации 4000 МЕ.

[0326] Остаточное содержание влаги определяли для композиций на основе лиофилизированного лекарственного продукта (Lyo DP), содержащего 250 МЕ или 4000 МЕ эфанесоктокога-альфа, и содержащих 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 в качестве поверхностно-активного вещества и 1% или 5% (вес/об.) сахарозы. Образцы выдерживали при температуре  $5^\circ\text{C}$ ,  $30^\circ\text{C}$  или  $40^\circ\text{C}$  и тестировали в момент времени  $T_0$ , через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца и 6 месяцев. Результаты показаны на фиг. 18A ( $5^\circ\text{C}$ ), фиг. 18B ( $30^\circ\text{C}$ ) и фиг. 18C ( $40^\circ\text{C}$ ). Существенного изменения остаточного содержания влаги не

наблюдалось ни для одной из композиций, содержащих полоксамер 188, при любой из температур. Через 6 месяцев все значения остаточной влажности снижались ниже значения по специф., составляющего 3%.

[0327] При визуальном осмотре концентрация сахарозы не оказывала какого-либо эффекта в отношении внешнего вида массы, представленной составом на основе полоксамера 188, в течение более 6 месяцев при температуре 2-8 °С, 30°С и 40 °С (данные не показаны).

[0328] Результаты данного исследования показывают, что, за исключением агрегации, композиции на основе эфанесоктокога-альфа, составленные с либо 0,5% (вес/об.) PS80, либо 0,1% (вес/об.) полоксамера 188, характеризуются аналогичными показателями стабильности. Оценка других показателей стабильности, таких как температура стеклования, мутность и остаточная влажность, не показала каких-либо значимых различий в зависимости от выбора поверхностно-активного вещества.

Пример 3. Влияние концентрации аргинина на стабильность композиций на основе эфанесоктокога-альфа

[0329] Эфанесоктоког-альфа продемонстрировал тенденцию подвергаться обратимой самоассоциации после стрессового воздействия в виде замораживания/оттаивания (F/T). Применение аргинина в композициях на основе эфанесоктокога-альфа может обеспечить защитный эффект против этой молекулярной самоассоциации, индуцированной F/T. Для определения оптимальной концентрации аргинина для композиций на основе эфанесоктокога-альфа, получали несколько композиций, содержащих различные концентрации аргинина, и уровни агрегации тестировали посредством SEC. Каждая тестируемая композиция содержала концентрированный эфанесоктоког-альфа (>2 мг/мл), 10 мМ L-гистидина, 5 мМ CaCl<sub>2</sub>, 5% (вес/об.) сахарозы, 0,1% (вес/об.) полоксамера 188 (P188) и L-аргинин-HCl в концентрации 125, 150, 175, 200 или 250 мМ.

[0330] Для получения композиций для тестирования композиции на основе эфанесоктокога-альфа лиофилизировали с помощью лиофилизатора для разработок LyoStar2 (Protein Pharmaceutical Development Laboratories, Кембридж, Массачусетс). Для тестирования каждого образца композиции подвергали оттаиванию и незамедлительно вводили в систему HPLC для анализа методом SEC. Образцы анализировали сразу после оттаивания, а также через 40, 80, 120 и 160 минут после осуществления оттаивания.

[0331] Результаты для процедур оценки агрегации (%HMWS) для всех образцов показаны на фиг. 19. Композиции на основе эфанесоктокога-альфа, содержащие аргинин-HCl на уровнях ниже 250 мМ, демонстрируют повышенные уровни агрегации сразу после оттаивания, после чего следует снижение уровней агрегатов с течением времени (фиг. 18). Такая тенденция в отношении агрегации предполагает образование и диссоциацию HMWS, которые образовались вследствие молекулярной самоассоциации эфанесоктокога-альфа, индуцированной F/T. Однако композиции на основе эфанесоктокога-альфа, содержащие аргинин-HCl в концентрациях 250 мМ, демонстрируют относительно низкие

уровни агрегации сразу после оттаивания, и эти уровни остаются постоянными с течением времени (см. фиг. 18, крайние правые столбцы).

[0332] Результаты данного исследования указывают на то, что композиции на основе эфанесоктокога-альфа, содержащие аргинин-НСI в концентрации 250 мМ, могут быть лучше защищены от молекулярной самоассоциации, индуцированной F/T. Таким образом, концентрация 250 мМ, по-видимому, является предпочтительной концентрацией аргинина-НСI для применения в составлении композиций на основе эфанесоктокога-альфа.

Пример 4. Оценка фармакокинетических характеристик композиций на основе эфанесоктокога-альфа, содержащих различные поверхностно-активные вещества, у отличных от человека приматов

[0333] Целью данного исследования являлось сравнение фармакокинетического (РК) профиля композиций на основе эфанесоктокога-альфа, содержащих либо полисорбат 80 (PS80), либо полоксамер 188 (P188), у яванских макаков.

[0334] Тестировали следующие две среды-носителя:

[0335] Среда-носитель 1: 10 мМ L-гистидина, 250 мМ аргинин-НСI, 5 мМ хлорида кальция, 5% сахарозы (вес/об.), 0,05% полисорбата 80

[0336] Среда-носитель 2: 10 мМ L-гистидина, 250 мМ аргинин-НСI, 5 мМ хлорида кальция, 5% сахарозы (вес/об.), 0,1% полоксамера 188

[0337] Первой группе субъектов путем однократной внутривенной (IV) болюсной инъекции вводили эфанесоктоког-альфа в количестве 75 МЕ/кг/доза в среде-носителе 1. Второй группе субъектов путем однократной внутривенной (IV) болюсной инъекции вводили эфанесоктоког-альфа в количестве 75 МЕ/кг/доза в среде-носителе 2. Обе композиции содержали эфанесоктоког-альфа в концентрации 37,5 МЕ/мл. Каждому субъекту вводили объем 2 мл. Образцы крови собирали для анализа РК перед введением дозы, через 0,25, 1, 3, 8, 24, 48, 96, 168, 240 и 336 часов.

[0338] Для дозированных составов концентрации анализируемых образцов составов составляли 88,6% и 92,0% от их соответствующей теоретической концентрации для групп 1 и 2 соответственно. Хромогенная активность анализируемых образцов составов (после повторного анализа) находилась в более низком диапазоне и составляла 70,5% и 64,9% от соответствующей теоретической концентрации для групп 1 и 2, соответственно.

[0339] Концентрацию белка, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, определяли посредством ELISA. Концентрация белка, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, с течением времени показана на фиг. 20. Активность белка, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, определяли с использованием хромогенного анализа. Активность белка, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, с течением времени показана на фиг. 21. Профили как концентрации, так и активности белков были сопоставимы для композиций, содержащих либо PS80, либо P188.

[0340] Определяли РК-параметры для концентрации и активности белка,

представляющего собой эфанесоктоког альфа, и они представлены в таблице 2. Значения представлены как среднее значение ( $\pm$ SD) и получены для 4 животных в каждой группе. Как можно видеть в таблице 2, PK-параметры были сопоставимы для композиций, содержащих либо PS80, либо P188.

[0341] Концентрацию белка, представляющего собой эфанесоктоког-альфа, и параметры активности непосредственно сравнивали между субъектами, получавшими композиции, содержащие P188 или PS80. Для концентрации белка значения соотношения  $C_{\max}$  и соотношения  $AUC_{(0-t)}$  составляли 91,8% и 89,8% соответственно. Для хромогенной активности значения соотношения  $C_{\max}$  и соотношения  $AUC_{(0-t)}$  составляли 106% и 105% соответственно.

[0342]  $T_{\max}$  наблюдали в первый момент времени после осуществления введения дозы (т. е. через 0,25 часа после введения дозы) для эфанесоктокога-альфа и активности эфанесоктокога альфа. Среднее значение  $C_{\max}$  составляло 841 и 772 нг/мл для концентрации эфанесоктокога-альфа и 2110 и 2230 мМЕ/мл для активности эфанесоктокога-альфа со средой-носителем 1 и 2 соответственно. Среднее значение  $AUC_{(0-t)}$  составляло 25400 и 22800 ч\*нг/мл для концентрации эфанесоктокога-альфа и 59600 и 62800 ч\*мМЕ/мл для активности эфанесоктокога-альфа со средой-носителем 1 и 2 соответственно. Среднее значение  $t_{1/2}$  составляло 36,1 и 35,8 часа для концентрации эфанесоктокога-альфа и 34,4 и 35,3 часа для активности эфанесоктокога-альфа со средой-носителем 1 и 2 соответственно. Среднее значение  $CL_{\text{плазма крови}}$  составляло 1,33 и 1,44 мл/ч/кг для концентрации эфанесоктокога-альфа и 1,29 и 1,20 мл/ч/кг для активности эфанесоктокога альфа со средой-носителем 1 и 2 соответственно. Среднее значение  $V_d$  составляло 69,0 и 74,4 мл/кг для концентрации эфанесоктокога-альфа и 63,8 и 61,4 мл/кг для активности BIVV001 со средой-носителем 1 и 2 соответственно.

[0343] В заключение следует отметить, что PK параметры композиций на основе эфанесоктокога-альфа были относительно схожими независимо от выбора среды-носителя, осуществляемого между PS80 и P188. Каких-либо клинических признаков, связанных с тестируемым объектом, а также раздражения в месте инъекции после введения субъектам, не наблюдалось. Все токсикокинетические параметры для каждой группы получали для 4 животных. Значения округляли до 3 значащих цифр (кроме  $T_{\max}$ ).



**Таблица 2.** PK-параметры для композиций на основе эфанесоктокога-альфа у яванских макаков

Аналит	Средо-носитель	$C_{max}$ (нг/мл)	$T_{max}$ Медианное значение (диапазон) (ч)	$AUC_{(0-t)}$ (ч*нг/мл)	$t_{1/2}$ (ч)	$CL_{\text{плазма крови}}$ (мл/ч/кг)	$Vd$ (мл/кг)
Концентрация Efa	PS80	841 ± 119	0,25 (0,25-0,25)	25400 ± 4940	36,1 ± 3,53	1,33 ± 0,300	69,0 ± 14,2
	P188	772 ± 101	0,25 (0,25-0,25)	22800 ± 2200	35,8 ± 5,50	1,44 ± 0,133	74,4 ± 15,4
Аналит	Средо-носитель	$C_{max}$ (нг/мл)	$T_{max}$ Медианное значение (диапазон) (ч)	$AUC_{(0-t)}$ (ч*нг/мл)	$t_{1/2}$ (ч)	$CL_{\text{плазма крови}}$ (мл/ч/кг)	$Vd$ (мл/кг)
Активность Efa	PS80	2110 ± 382	0,25 (0,25-0,25)	59600 ± 14300	34,4 ± 3,05	1,29 ± 0,276	63,8 ± 11,7
	P188	2230 ± 342	0,25 (0,25-0,25)	62800 ± 8640	35,3 ± 5,96	1,20 ± 0,153	61,4 ± 16,2

[0344] Предшествующее описание конкретных вариантов осуществления настолько полно раскрывает общий характер настоящего изобретения, что другие могут, используя знания в пределах квалификации в данной области техники, легко модифицировать и/или адаптировать такие конкретные варианты осуществления для различных вариантов применения без проведения дополнительных экспериментов, не отступая от общей концепции настоящего изобретения. Следовательно, такие адаптации и модификации предназначены для того, чтобы находиться в пределах значения и диапазона эквивалентов раскрытых вариантов осуществления, основанных на идее и принципе, представленных в данном документе. Следует понимать, что формулировки или терминология в данном документе предназначены для целей описания, а не ограничения, и вследствие этого терминологию или формулировки в настоящем описании квалифицированному специалисту следует интерпретировать в свете данных идей и принципов.

[0345] Другие варианты осуществления настоящего изобретения будут очевидны специалистам в данной области при рассмотрении описания и практическом применении настоящего изобретения, раскрытого в данном документе. Предполагается, что описание и примеры должны рассматриваться только в качестве иллюстративных, а действительные объем и сущность настоящего изобретения указаны в нижеследующей формуле изобретения.

[0346] Все патенты и публикации, цитируемые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

## ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Таблица 3. Иллюстративные последовательности химерных белков

A-FVIII (ELNN) -Fc: SEQ ID NO: 1						
ATRRYYLGAV	ELSWDYMQSD	LGELPVDARF	PPRVPKSFPF	NTSVVYKKTLL	FVEFTDHLFN	60
IAKPRPPWMG	LLGPTIQAEV	YDTVVITLKN	MASHFVSLHA	VGVSYWKASE	GAEYDDQTSQ	120
REKEDDKVFP	GGSHTYVWQV	LKENGPMASD	PLCLTYSYLS	HVDLVKDLNS	GLIGALLVCR	180
EGSLAKEKTQ	TLHKFILLFA	VFDEGKSWHS	ETKNSLMQDR	DAASARAWPK	MHTVNGYVNR	240
SLPGLIGCHR	KSVYWHVIGM	GTTPEVHSIF	LEGHTFLVRN	HRQASLEISP	ITFLTAQTLL	300
MDLGQFLLFC	HISSHQHDGM	EAYVKVDSQP	EEPQLRMKNN	EEAEDYDDDL	TDSEMDVVRP	360
DDDNSPSFIQ	IRSVAKKHPK	TWVHYIAAEE	EDWDYAPLVL	APDDRSYKSQ	YLNNGPQRIG	420
RKYKKVRFMA	YDDETFKTR	AIQHESGILG	PLLYGEVGD	LLIIFKNQAS	RPYNIYPHGI	480
TDVREPLYRR	LPGVKHLLKD	FPILPGEIFK	YKWTVTVEDG	PTKSDPRCLT	RYSSSFVNME	540
RDLASGLIGP	LLICYKESVD	QRGNQIMSDK	RNVILFSVFD	ENRSWYLTE	IQRFLPNPAG	600
VQLEDPEFQA	SNIMHSINGY	VFDSLQLSVC	LHEVAYWYIL	SIGAQTDFLS	VFFSGYTFKH	660
KMVYEDTLTL	FPFSGETVEM	SMENPGLWIL	GCHNSDFRNR	GMTALLKVSS	CDKNTGDYEE	720
DSYEDISAYL	LSKNNAIIEPR	SFSQNGTSES	ATPESGPGSE	PATSGSETPG	TSESATPESG	780
PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGTSTE	PSEGSAPGSP	AGSPTSTEEG	TSESATPESG	840
PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGSPAG	SPTSTEEGSP	AGSPTSTEEG	TSTEPSEGS	900
PGTSESATPE	SGPGTSESAT	PESGPGTSES	ATPESGPGSE	PATSGSETPG	SEPATSGSET	960
PGSPAGSPTS	TEEGTSTEPS	EGSAPGTSTE	PSEGSAPGSE	PATSGSETPG	TSESATPESG	1020
PGTSTEPSEG	SAPASSEITR	TTLQSDQEEI	DYDDTISVEM	KKEDFDIYDE	DENQSPRSFQ	1080
KKTRHYFIAA	VERLWDYGMS	SSPHVLRNRA	QSGSVPQFKK	VVFQEFTDGS	FTQPLYRGEL	1140
NEHLGLLGPY	IRAEVEDNIM	VTFRNQASRP	YSFYSSLISY	EEDQRQGAEP	RKNFVKPNET	1200
KTYFWKVQHH	MAPTKDEFDC	KAWAYFSDVD	LEKDVHSGLI	GPLLVCHTNT	LNPAHGRQVT	1260
VQEFALFFTI	FDETKSWYFT	ENMERNCRAP	CNIQMEDPTF	KENYRFHAIN	GYIMDTLPGL	1320
VMAQDQRIRW	YLLSMGSNEN	IHSIHFSGHV	FTVRKKEEYK	MALYNLYPGV	FETVEMLPSK	1380
AGIWRVECLI	GEHLHAGMST	LFLVYSNKCQ	TPLGMASGHI	RDFQITASGQ	YGQWAPKLAR	1440
LHYSGSINAW	STKEPFSWIK	VDLLAPMIH	GIKTQGARQK	FSSLYISQFI	IMYSLDGKKW	1500
QTYRGNSTGT	LMVFFGNVDS	SGIKHNIFNP	PIIARYIRLH	PTHYSIRSTL	RMELMGCDLN	1560
SCSMPLGMES	KAISDAQITA	SSYFTNMFAT	WSPSKARLHL	QGRSNAWRPQ	VNNPKEWLQV	1620
DFQKTMKVTG	VTTQGVKSL	TSMYVKEFLI	SSSQDGHQWT	LFFQNGKVKV	FQGNQDSFTP	1680
VVNSLDPPLL	TRYLRHPQS	VWHQIALRME	VLGCEAQDLY	DKTHTCPPCP	APPELLGGPSV	1740
FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY	1800
RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	PIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSRDELTK	1860
NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTPPVVLD	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	1920
NVFSCSVME	ALHNHYTQKS	LSLSPG				
VWF (D'D3) -ELNN-a2-линкер-Fc: SEQ ID NO: 2						
SLSCRPPMVK	LVCPADNLRA	EGLECTKTCQ	NYDLECMMSG	CVSGCLCPPG	MVRHENRCVA	60
LERPCPFHQG	KEYAPGETVK	IGCNTCVCRD	RKWNCTDHVC	DATCSTIGMA	HYLTFDGLKY	120

LFPGECQYVL	VQDYCGSNPG	TFRILVGNKG	CSHPSVKCKK	RVTILVEGGE	IELFDGEVNV	180
KRPMKDETHF	EVVESGRYII	LLLKALSIV	WDRHLSISVV	LKQTYQEKVC	GLCGNFDGIQ	240
NNDLTSSNLQ	VEEDPVDFGN	SWKVSSQCAD	TRKVPLDSSP	ATCHNNIMKQ	TMVDSSCRIL	300
TSDVVFQDCNK	LVDPEPYLDV	CIYDTCSCES	IGDCAAFCDT	IAAYAHVCAQ	HGKVVWTRTA	360
TLC PQSCEER	NLRENGYEAE	WRYN SCAPAC	QVTCQHPEPL	ACPVQCVEGC	HAHCPPGKIL	420
DELLQTCVDP	EDCPVCEVAG	RRFASGKKVT	LNPSPDPEHCQ	ICHCDVVNLT	CEACQEPGTS	480
ESATPESGPG	SEPATSGSET	PGTSESATPE	SGPGSEPATS	GSETPGTSES	ATPESGPGTS	540
TEPSEGSAPG	SPAGSPTSTE	EGTSESATPE	SGPGSEPATS	GSETPGTSES	ATPESGPGSP	600
AGSPTSTEEG	SPAGSPTSTE	EGASSDKNTG	DYYEDSYEDI	SAYLLSKNNA	IEPRSFSDKT	660
HTCPPCPAPE	LLGGPSVFLF	PPKPKDTLMI	SRTPEVTCVV	VDVSHEDPEV	KFNWYVDGVE	720
VHNAKTKPRE	EQYNSTYRVV	SVLTVLHQDW	LNGKEYKCKV	SNKALPAPIE	KTISKAKGQP	780
REPQVYTLPP	SRDELTKNQV	SLTCLVKGfy	PSDIAVEWES	NGQPENNYKT	TPPVLDSDGS	840
FFLYSKLTVD	KSRWQQGNVF	SCSVMHEALH	NHYTQKSLSL	SPG		
883						

**Аминокислотная последовательность белка FVIII (312A) – содержит сигнальный пептид: SEQ ID NO: 3**

1	MQIELSTCFF	LCLLRFCFSA	TRRYLGAIVE	LSWDYMQSDL	GELPVDARFP
51	PRVPKSFFEN	TSVVYKKTLE	VEFTDHLFNI	AKPRPPWMGL	LGPTIQAEVY
101	DTVVITLKNM	ASHPVSLHAV	GVSYWKASEG	AEYDDQTSQR	EKEDDKVFPG
151	GSHTYVWQVL	KENGPMSADP	LCLTYSYLSH	VDLVKDLNSG	LIGALLVCRE
201	GSLAKEKTQT	LHKFILLFAV	FDEGKSWHSE	TKNSLMQDRD	AASARAWPKM
251	HTVNGYVNRS	LPGLIGCHRK	SVYWHVIGMG	TTPEVHSIFL	EGHTFLVRNH
301	RQASLEISPI	TFLTAQTLLM	DLGQFLLFCH	ISSHQHDGME	AYVKVDSCPE
351	EPQLRMKNNE	EAEDYDDDLT	DSEMDVVRFD	DDNPSFIQI	RSVAKKHPKT
401	WVHYIAAEIE	DWDYAPLVLA	PDDRSYKSQY	LNNGPQRIGR	KYKKVRFMAY
451	TDETFTKREA	IQHESGILGP	LLYGEVGDTL	LIIFKNQASR	PYNIYPHGIT
501	DVRPLYSRRL	PKGKHLKDF	PILPGEIFKY	KWTVTVEDGP	TKSDPRCLTR
551	YSSFFVNMER	DLASGLIGPL	LICYKESVDQ	RGNQIMSDKR	NVILFSVFDE
601	NRSWYL TENI	QRFLPNPAGV	QLEDPEFQAS	NIMHSINGYV	FDSLQLSVCL
651	HEVAYWYILS	IGAQTDFLSV	FFSGYTFKHK	MVYEDTLTLE	PFSGETVFMS
701	MENPGLWILG	CHNSDFRNRG	MTALLKVSSC	DKNTGDYIED	SYEDISAYLL
751	SKNNAIEPRS	FSQNGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP
801	GSEPATSGSE	TPGTSESATP	ESGPGTSTEP	SEGSAPGSPA	GSPTSTEEGT
851	SESATPESGP	GSEPATSGSE	TPGTSESATP	ESGPGSPAGS	PTSTEEGSPA
901	GSPTSTEEGT	STEPSEGSAP	GTSESATPES	GPGTSESATP	ESGPGTSESA
951	TPESGPGSEP	ATSGSETPGS	EPATSGSETP	GSPAGSPTST	EEGTSTEPSE
1001	GSAPGTSTEP	SEGSAPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	GTSTEPSEGS
1051	APASSEITRT	TLQSDQEEID	YDDTISVEMK	KEDFDIYDED	ENQSPRSFQK
1101	KTRHYFIAAV	ERLWDYGMSS	SPHVLNRRAQ	SGSVPQFKKV	VFQEFTDGSF

1151	TQPLYRGELN	EHLGLLGPYI	RAEVEDNIMV	TFRNQASRPY	SFYSSLISYE
1201	EDQRQGAEP	RNFVKPNETK	TYFWKVQHMM	APTKDEFDCK	AWAYFSDVDL
1251	EKDVHSGLI	PLLVCHTNL	NPAHGRQVTV	QEFALFFTIF	DETKSWYFTE
1301	NMERNCRAP	CNIQMEDPTFK	ENYRFHAING	YIMDTLPGLV	MAQDQIRIRWY
1351	LLSMGSNENI	HSIHFSGHVF	TVRKKEEYKM	ALYNLYPGVF	ETVEMLPSKA
1401	GIWRVECLIG	EHLHAGMSTL	FLVYSNKCQT	PLGMASGHIR	DFQITASGOY
1451	GQWAPKLARL	HYSGSINAWS	TKEPFSWIKV	DLLAPMIIHG	IKTQGARQKF
1501	SSLYISQFII	MYSLDGKKWQ	TYRGNSTGTL	MVFFGNVDSS	GIKHNIENPP
1551	IIARYIRLHP	THYSIRSTLR	MELMGCDLNS	CSMPLGMESK	AISDAQITAS
1601	SYFTNMFATW	SPSKARLHLQ	GRSNAWRPQV	NNPKEWLQVD	FQKTMKVTGV
1651	TTQGVKSLLT	SMYVKEFLIS	SSQDGHQWTL	FFQNGKVKVF	QGNQDSFTPV
1701	VNSLDPPLLT	RYLRIHPQSW	VHQIALRMEV	LGCEAQDLYD	KTHTCPPCPA
1751	PELLGGPSVF	LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVDVSHEDP	EVKFNWYVDG
1801	VEVHNAKTKP	REEQYNSTYR	VVSVLTVLHQ	DWLNKKEYKC	KVSNKALPAP
1851	IEKTISKAKG	QPREPQVYTL	PPSRDELTKN	QVSLTCLVKG	FYPDIAVEW
1901	ESNGQPENNY	KTPPVLDSD	GSFFLYSKLT	VDKSRWQQGN	VFSCSVMHEA
1951	LHNHYTQKSL	SLSPG*			

**Нуклеотидная последовательность, кодирующая FVIII 312A: SEQ ID NO: 4**

1	ATGCAAATAG	AGCTCTCCAC	CTGCTTCTTT	CTGTGCCTTT	TGCGATTCTG
51	CTTTAGTGCC	ACCAGAAGAT	ACTACCTGGG	TGCAGTGGAA	CTGTCATGGG
101	ACTATATGCA	AAGTGATCTC	GGTGAGCTGC	CTGTGGACGC	AAGATTTTCT
151	CCTAGAGTGC	CAAAATCTTT	TCCATTCAAC	ACCTCAGTCG	TGTACAAAAA
201	GACTCTGTTT	GTAGAATTCA	CGGATCACCT	TTTCAACATC	GCTAAGCCAA
251	GGCCACCCTG	GATGGGTCTG	CTAGGTCCCTA	CCATCCAGGC	TGAGGTTTAT
301	GATACAGTGG	TCATTACACT	TAAGAACATG	GCTTCCCATC	CTGTCAGTCT
351	TCATGCTGTT	GGTGTATCCT	ACTGGAAAGC	TTCTGAGGGA	GCTGAATATG
401	ATGATCAGAC	CAGTCAAAGG	GAGAAAAGAAG	ATGATAAAGT	CTTCCCTGGT
451	GGAAGCCATA	CATATGTCTG	GCAGGTCCCTG	AAAGAGAATG	GTCCAATGGC
501	CTCTGACCCA	CTGTGCCTTA	CCTACTCATA	TCTTTCTCAT	GTGGACCTGG
551	TAAAAGACTT	GAATTCAGGC	CTCATTGGAG	CCCTACTAGT	ATGTIAGAGAA
601	GGGAGTCTGG	CCAAGGAAAA	GACACAGACC	TTGCACAAAT	TTATACTACT
651	TTTTGCTGTA	TTTGATGAAG	GGAAAAGTTG	GCACTCAGAA	ACAAAGAACT
701	CCTTGATGCA	GGATAGGGAT	GCTGCATCTG	CTCGGGCCTG	GCCTAAAAATG
751	CACACAGTCA	ATGGTTATGT	AAACAGGTCT	CTGCCAGGTC	TGATTTGGATG
801	CCACAGGAAA	TCAGTCTATT	GGCATGTGAT	TGGAATGGGC	ACCACTCCTG
851	AAGTGCACCTC	AATATTCCTC	GAAGGTCACA	CATTTCTTGT	GAGGAACCAT

901	CGCCAGGCGT	CCTTGGAAAT	CTCGCCAATA	ACTTTCCTTA	CTGCTCAAAC
951	ACTCTTGATG	GACCTTGGAC	AGTTTCTACT	GTTTTGTCAT	ATCTCTTCCC
1001	ACCAACATGA	TGGCATGGAA	GCTTATGTCA	AAGTAGACAG	CTGTCCAGAG
1051	GAACCCCAAC	TACGAATGAA	AAATAATGAA	GAAGCGGAAG	ACTATGATGA
1101	TGATCTTACT	GATTCTGAAA	TGGATGTGGT	CAGGTTTGAT	GATGACAACCT
1151	CTCCTTCCTT	TATCCAAATT	CGCTCAGTTG	CCAAGAAGCA	TCCTAAAACCT
1201	TGGGTACATT	ACATTGCTGC	TGAAGAGGAG	GACTGGGACT	ATGCTCCCTT
1251	AGTCCTCGCC	CCCATGACA	GAAGTTATAA	AAGTCAATAT	TTGAACAATG
1301	GCCCTCAGCG	GATTGGTAGG	AAGTACAAAA	AAGTCCGATT	TATGGCATAAC
1351	ACAGATGAAA	CCTTTAAGAC	TCGTGAAGCT	ATTCAGCATG	AATCAGGAAT
1401	CTTGGGACCT	TTACTTTATG	GGGAAGTTGG	AGACACACTG	TTGATTATAT
1451	TTAAGAATCA	AGCAAGCAGA	CCATATAACA	TCTACCCTCA	CGGAATCACT
1501	GATGTCCGTC	CTTTGTATTC	AAGGAGATTA	CCAAAAGGTG	TAAAACATTT
1551	GAAGGATTTT	CCAATTCTGC	CAGGAGAAAT	ATTCAAATAT	AAATGGACAG
1601	TGACTGTAGA	AGATGGGCCA	ACTAAATCAG	ATCCTCGGTG	CCTGACCCGC
1651	TATTACTCTA	GTTTCGTTAA	TATGGAGAGA	GATCTAGCTT	CAGGACTCAT
1701	TGGCCCTCTC	CTCATCTGCT	ACAAAGAATC	TGTAGATCAA	AGAGGAAACC
1751	AGATAATGTC	AGACAAGAGG	AATGTCATCC	TGTTTTCTGT	ATTTGATGAG
1801	AACCGAAGCT	GGTACCTCAC	AGAGAATATA	CAACGCTTTC	TCCCAATCC
1851	AGCTGGAGTG	CAGCTTGAGG	ATCCAGAGTT	CCAAGCCTCC	AACATCATGC
1901	ACAGCATCAA	TGGCTATGTT	TTTGATAGTT	TGCAGTTGTC	AGTTTGTTTG
1951	CATGAGGTGG	CATACTGGTA	CATTCTAAGC	ATTGGAGCAC	AGACTGACTT
2001	CCTTCTGTC	TTCTTCTCTG	GATATACCTT	CAAACACAAA	ATGGTCTATG
2051	AAGACACACT	CACCCTATTC	CCATTCTCAG	GAGAACTGT	CTTCATGTCG
2101	ATGGAAAACC	CAGGTCTATG	GATTCTGGGG	TGCCACAACCT	CAGACTTTCG
2151	GAACAGAGGC	ATGACCGCCT	TACTGAAGGT	TTCTAGTTGT	GACAAGAACA
2201	CTGGTGATTA	TTACGAGGAC	AGTTATGAAG	ATATTTTCAGC	ATACTTGCTG
2251	AGTAAAAACA	ATGCCATTGA	ACCAAGAAGC	TTCTCTCAA	ACGGTACCTC
2301	AGAGTCTGCT	ACCCCCGAGT	CAGGGCCAGG	ATCAGAGCCA	GCCACCTCCG
2351	GGTCTGAGAC	ACCCGGGACT	TCCGAGAGTG	CCACCCCTGA	GTCCGGACCC
2401	GGGTCCGAGC	CCGCCACTTC	CGGCTCCGAA	ACTCCCGGCA	CAAGCGAGAG
2451	CGCTACCCCA	GAGTCAGGAC	CAGGAACATC	TACAGAGCCC	TCTGAAGGCT
2501	CCGTCCAGG	GTCCCCAGCC	GGCAGTCCCA	CTAGCACCGA	GGAGGGAACC
2551	TCTGAAAGCG	CCACACCCGA	ATCAGGGCCA	GGGTCTGAGC	CTGCTACCAG
2601	CGGCAGCGAG	ACACCAGGCA	CCTCTGAGTC	CGCCACACCA	GAGTCCGGAC
2651	CCGGATCTCC	CGCTGGGAGC	CCCACCTCCA	CTGAGGAGGG	ATCTCTGCT
2701	GGCTCTCAA	CATCTACTGA	GGAAGGAACC	TCAACCGAGC	CATCCGAGGG
2751	ATCAGTCCC	GGCACCTCAG	AGTCGGCAAC	CCCGGAGTCT	GGACCCGGAA
2801	CTTCCGAAAG	TGCCACACCA	GAGTCCGGTC	CCGGGACTTC	AGAATCAGCA
2851	ACACCCGAGT	CCGGCCCTGG	GTCTGAACCC	GCCACAAGTG	GTAGTGAGAC
2901	ACCAGGATCA	GAACCTGCTA	CCTCAGGGTC	AGAGACACCC	GGATCTCCGG
2951	CAGGCTCACC	AACCTCCACT	GAGGAGGGCA	CCAGCACAGA	ACCAAGCGAG

3001	GGCTCCGCAC	CCGGAACAAG	CACTGAACCC	AGTGAGGGTT	CAGCACCCGG
3051	CTCTGAGCCG	GCCACAAGTG	GCAGTGAGAC	ACCCGGCACT	TCAGAGAGTG
3101	CCACCCCCGA	GAGTGGCCCA	GGCACTAGTA	CCGAGCCCTC	TGAAGGCAGT
3151	GCGCCAGCCT	CGAGCGAAAT	AACTCGTACT	ACTCTTCAGT	CAGATCAAGA
3201	GGAAATTGAC	TATGATGATA	CCATATCAGT	TGAAATGAAG	AAGGAAGATT
3251	TTGACATTTA	TGATGAGGAT	GAAAATCAGA	GCCCCCGCAG	CTTTCAAAAG
3301	AAAACACGAC	ACTATTTTAT	TGCTGCAGTG	GAGAGGCTCT	GGGATTATGG
3351	GATGAGTAGC	TCCCCACATG	TTCTAAGAAA	CAGGGCTCAG	AGTGGCAGTG
3401	TCCCTCAGTT	CAAGAAAGTT	GTTTTCCAGG	AATTTACTGA	TGGCTCCTTT
3451	ACTCAGCCCT	TATACCGTGG	AGAACTAAAT	GAACATTTGG	GACTCCTGGG
3501	GCCATATATA	AGAGCAGAAG	TTGAAGATAA	TATCATGGTA	ACTTTCAGAA
3551	ATCAGGCCTC	TCGTCCCTAT	TCCTTCTATT	CTAGCCTTAT	TTCTTATGAG
3601	GAAGATCAGA	GGCAAGGAGC	AGAACCCTAGA	AAAAACTTTG	TCAAGCCTAA
3651	TGAAACCAAA	ACTTACTTTT	GGAAAGTGCA	ACATCATATG	GCACCCACTA
3701	AAGATGAGTT	TGACTGCAAA	GCCTGGGCTT	ATTTCTCTGA	TGTTGACCTG
3751	GAAAAAGATG	TGCACTCAGG	CCTGATTGGA	CCCCTTCTGG	TCTGCCACAC
3801	TAACACACTG	AACCCTGCTC	ATGGGAGACA	AGTGACAGTA	CAGGAATTTG
3851	CTCTGTTTTT	CACCATCTTT	GATGAGACCA	AAAGCTGGTA	CTTCACTGAA
3901	AATATGGAAA	GAAACTGCAG	GGCTCCCTGC	AATATCCAGA	TGGAAGATCC
3951	CACTTTTAAA	GAGAATTATC	GCTTCCATGC	AATCAATGGC	TACATAATGG
4001	ATACACTACC	TGGCTTAGTA	ATGGCTCAGG	ATCAAAGGAT	TCGATGGTAT
4051	CTGCTCAGCA	TGGGCAGCAA	TGAAAACATC	CATTCTATTG	ATTTCACTGG
4101	ACATGTGTTT	ACTGTACGAA	AAAAAGAGGA	GTATAAAATG	GCACTGTACA
4151	ATCTCTATCC	AGGTGTTTTT	GAGACAGTGG	AAATGTTACC	ATCCAAAGCT
4201	GGAATTTGGC	GGGTGGAATG	CCTTATTGGC	GAGCATCTAC	ATGCTGGGAT
4251	GAGCACACTT	TTTCTGGTGT	ACAGCAATAA	GTGTCAGACT	CCCCTGGGAA
4301	TGGCTTCTGG	ACACATTAGA	GATTTTCAGA	TTACAGCTTC	AGGACAATAT
4351	GGACAGTGGG	CCCCAAAGCT	GGCCAGACTT	CATTATTCCG	GATCAATCAA
4401	TGCCTGGAGC	ACCAAGGAGC	CCTTTTCTTG	GATCAAGGTG	GATCTGTTGG
4451	CACCAATGAT	TATTCACGGC	ATCAAGACCC	AGGGTGCCCG	TCAGAAGTTC
4501	TCCAGCCTCT	ACATCTCTCA	GTTTATCATC	ATGTATAGTC	TTGATGGGAA
4551	GAAGTGGCAG	ACTTATCGAG	GAAATCCAC	TGGAACCTTA	ATGGTCTTCT
4601	TTGGCAATGT	GGATTCATCT	GGGATAAAAC	ACAATATTTT	TAACCTCCA
4651	ATTATTGCTC	GATACATCCG	TTTGCACCCA	ACTCATTATA	GCATTGCGAG
4701	CACTCTTCGC	ATGGAGTTGA	TGGGCTGTGA	TTTAAATAGT	TGCAGCATGC
4751	CATTGGGAAT	GGAGAGTAAA	GCAATATCAG	ATGCACAGAT	TACTGCTTCA
4801	TCCTACTTTA	CCAATATGTT	TGCCACCTGG	TCTCCTTCAA	AAGCTCGACT
4851	TCACCTCCAA	GGGAGGAGTA	ATGCCTGGAG	ACCTCAGGTG	AATAATCCAA
4901	AAGAGTGGCT	GCAAGTGGAC	TTCCAGAAGA	CAATGAAAGT	CACAGGAGTA
4951	ACTACTCAGG	GAGTAAAATC	TCTGCTTACC	AGCATGTATG	TGAAGGAGTT
5001	CCTCATCTCC	AGCAGTCAAG	ATGGCCATCA	GTGGACTCTC	TTTTTTCAGA
5051	ATGGCAAAGT	AAAGGTTTTT	CAGGGAAATC	AAGACTCCTT	CACACCTGTG

5101	GTGAACTCTC	TAGACCCACC	GTTACTGACT	CGCTACCTTC	GAATTCACCC
5151	CCAGAGTTGG	GTGCACCAGA	TTGCCCTGAG	GATGGAGGTT	CTGGGCTGCG
5201	AGGCACAGGA	CCTCTACGAC	AAAACCTACA	CATGCCCACC	GTGCCCAGCT
5251	CCAGAACTCC	TGGGCGGACC	GTCAGTCTTC	CTCTTCCCCC	CAAAACCCAA
5301	GGACACCCTC	ATGATCTCCC	GGACCCCTGA	GGTCACATGC	GTGGTGGTGG
5351	ACGTGAGCCA	CGAAGACCCT	GAGGTCAAGT	TCAACTGGTA	TGTGGACGGC
5401	GTGGAAGTGC	ATAATGCCAA	GACAAAGCCG	CGGGAGGAGC	AGTACAACAG
5451	CACGTACCGT	GTGGTCAGCG	TCCTCACCGT	CCTGCACCAA	GA CTGGCTGA
5501	ATGGCAAGGA	GTACAAGTGC	AAGGTCTCCA	ACAAAGCCCT	CCCAGCCCCC
5551	ATCGAGAAAA	CCATCTCCAA	AGCCAAAGGG	CAGCCCCGAG	AACCACAGGT
5601	GTACACCCTG	CCCCCATCCC	GGGATGAGCT	GACCAAGAAC	CAAGTTAGCC
5651	TGACCTGCCT	GGTCAAAGGC	TTCTATCCCA	GCGACATCGC	CGTGGAGTGG
5701	GAGAGCAATG	GGCAGCCGGA	GAACAAC TAC	AAGACCACGC	CTCCCGTGTT
5751	GGACTCCGAC	GGCTCCTTCT	TCCTCTACTC	CAAGCTCACC	GTGGACAAGA
5801	GCAGGTGGCA	GCAGGGGAAC	GTCTTCTCAT	GCTCCGTGAT	GCATGAGGCT
5851	CTGCACAACC	ACTACACGCA	GAAGAGCCTC	TCCCTGTCTC	CGGGTTGA

**Аминокислотная последовательность белка VWF059A – содержит сигнальный пептид и область D1D2: SEQ ID NO: 5**

1	MIPARFAGVL	LALALILPGT	LCAEGTRGRS	STARCSLFGS	DFVNTFDGSM
51	YSEFAGYCSYL	LAGGCQKRSF	SIIGDFQNGK	RVSLSVYLGE	FFDIHLFVNG
101	TVTQGDQRV	MPYASKGLYL	ETEAGYYKLS	GEAYGFVARI	DGSGNFQVLL
151	SDRYFNKTCG	LCGNFNIFAE	DDFMTQEGTL	TSDPYDFANS	WALSSGEQWC
201	ERASPPSSSC	NISSGEMQKG	LWEQCQLLKS	TSVFARCHPL	VDPEPFVALC
251	EKTLCECAGG	LECACPALLE	YARTCAQEGM	VLYGWTDHSA	CSPVCPAGME
301	YRQCVSPCAR	TCQSLHINEM	CQERCVDGCS	CPEGQLLDEG	LCVESTTEPC
351	VHSGKRYPPG	TSLSRDCNTC	ICRNSQWICS	NEECPGECLV	TGQSHFKSFD
401	NRYFTFSGIC	QYLLARDCQD	HSFSIVIETV	QCADDRDAVC	TRSVTVRLPG
451	LHNSLVKCLKH	GAGVAMDGQD	IQLPLLKGD	RIQHTVTASV	RLSYGEDLQM
501	DWDGRGRLLV	KLSPVYAGKT	CGLCGNYNGN	QGDDFLTPSG	LAEPREDFG
551	NAWKLHGDCQ	DLQKQHSDFC	ALNPRMTRFS	EEACAVLTSP	TFEACHRAVS
601	PLPYLRNCRY	DVCSGSDGRE	CLCGALASYA	AACAGRGVRV	AWREPRGCEL
651	NCPKGQVYLQ	CGTPCNLTCR	SLSYPDEECN	EACLEGCFCP	PGLYMDERGD
701	CVPKAQCPCY	YDGEIFQPED	IFSDHHTMCY	CEDGFMHCTM	SGVPGSLLPD
751	AVLSSPLSHR	SKRSLSCRPP	MVKLVCPADN	LRAEGLECTK	TCQNYDLECM
801	SMGCVSGCLC	PPGMVRHENR	CVALERCPCF	HQGKEYAPGE	TVKIGCNTCV
851	CRDRKWNCTD	HVCDATCSTI	GMAHYLTFDG	LKYLFPGECQ	YVLVQDYCGS
901	NPGETFRILVG	NKGC SHPSVK	CKKRVTIIVE	GGEIELFDGE	VNVKRPKDE
951	THFEVVESGR	YIILLGKAL	SVVWRHLSI	SVVLKQTYQE	KVCGLCGNFD
1001	GIQNNDLTSS	NLQVEEDPVD	FGNSWKVSSQ	CADTRKVPLD	SSPATCHNNI

1051	MKQTMVDSSC	RILTSDVFDQ	CNKLVDPEPY	LDVCIYDTCS	CESIGDCAAF
1101	CDTIAAYAHV	CAQHGVVVTW	RTATLCPQSC	EERNLRENGY	EAEWRYNSCA
1151	PACQVTCQHP	EPLACPVQCV	EGCHAHCPPG	KILDELLQTC	VPEDPCPVCE
1201	VAGRRFASGK	KVTLNPSDPE	HCQICHCDVV	NLTCEACQEP	GTSESATPES
1251	GPGSEPATSG	SETPGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP
1301	GTSTEPSEGS	APGSPAGSPT	STEEGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT
1351	SESATPESGP	GSPAGSPTST	EEGSPAGSPT	STEEGASSDK	NTGDYYEDSY
1401	EDISAYLLSK	NNAIEPRSF	DKTHTCPPCP	APPELLGGPSV	FLFPPKPKDT
1451	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY
1501	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	PIEKTISKAK	GQPREPQVYT
1551	LPPSRDELTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS
1601	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQOG	NVFSCSVMHE	ALHNHYTQKS	LSLSPG*
<b>Нуклеотидная последовательность, кодирующая белок VWF059A: SEQ</b>					
<b>ID NO: 6</b>					
1	ATGATTCCTG	CCAGATTGTC	CGGGGTGCTG	CTTGCTCTGG	CCCTCATTTT
51	GCCAGGGACC	CTTTGTGCAG	AAGGAAC TCG	CGGCAGGTCA	TCCACGGCCC
101	GATGCAGCCT	TTTCGGAAGT	GACTTCGTCA	ACACCTTTGA	TGGGAGCATG
151	TACAGCTTTG	CGGGATACTG	CAGTTACCTC	CTGGCAGGGG	GCTGCCAGAA
201	ACGCTCCTTC	TCGATTATTG	GGGACTTCCA	GAATGGCAAG	AGAGTGAGCC
251	TCTCCGTGTA	TCTTGGGGAA	TTTTTTGACA	TCCATTTGTT	TGTCAATGGT
301	ACCGTGACAC	AGGGGGACCA	AAGAGTCTCC	ATGCCCIATG	CCTCCAAAGG
351	GCTGTATCTA	GAAACTGAGG	CTGGGTACTA	CAAGCTGTCC	GGTGAGGCCCT
401	ATGGCTTTGT	GGCCAGGATC	GATGGCAGCG	GCAACTTTCA	AGTCCTGCTG
451	TCAGACAGAT	ACTTCAACAA	GACCTGCGGG	CTGTGTGGCA	ACTTTAACAT
501	CTTTGCTGAA	GATGACTTTA	TGACCCAAGA	AGGGACCTTG	ACCTCGGACC
551	CTTATGACTT	TGCCAACTCA	TGGGCTCTGA	GCACTGGAGA	ACAGTGGTGT
601	GAACGGGCAT	CTCCTCCCAG	CAGCTCATGC	AACATCTCCT	CTGGGGAAAT
651	GCAGAAGGGC	CTGTGGGAGC	AGTGCCAGCT	TCTGAAGAGC	ACCTCGGTGT
701	TTGCCCCGCT	CCACCCTCTG	GTGGACCCCG	AGCCTTTTGT	GGCCCTGTGT
751	GAGAAGACTT	TGTGTGAGTG	TGCTGGGGGG	CTGGAGTGCG	CCTGCCCTGC
801	CCTCCTGGAG	TACGCCCCGA	CCTGTGCCCA	GGAGGGAATG	GTGCTGTACG
851	GCTGGACCGA	CCACAGCGCG	TGCAGCCCAG	TGTGCCCTGC	TGGTATGGAG
901	TATAGGCAGT	GTGTGTCCCC	TTGCGCCAGG	ACCTGCCAGA	GCCTGCACAT
951	CAATGAAATG	TGTCAGGAGC	GATGCGTGGA	TGGCTGCAGC	TGCCCTGAGG
1001	GACAGCTCCT	GGATGAAGGC	CTCTGCGTGG	AGAGCACCGA	GTGTCCCTGC
1051	GTGCATTCCG	GAAAGCGCTA	CCCTCCC GGC	ACCTCCCTCT	CTCGAGACTG
1101	CAACACCTGC	ATTTGCCGAA	ACAGCCAGTG	GATCTGCAGC	AATGAAGAAT
1151	GTCCAGGGGA	GTGCCTTGTC	ACTGGTCAAT	CCCACTTCAA	GAGCTTTGAC
1201	AACAGATACT	TCACCTTCAG	TGGGATCTGC	CAGTACCTGC	TGGCCCCGGA
1251	TTGCCAGGAC	CACTCCTTCT	CCATTGT CAT	TGAGACTGTC	CAGTGTGCTG



1301	ATGACCGCGA	CGCTGTGTGC	ACCCGCTCCG	TCACCGTCCG	GCTGCCTGGC
1351	CTGCACAACA	GCCTTGTGAA	ACTGAAGCAT	GGGGCAGGAG	TTGCCATGGA
1401	TGGCCAGGAC	ATCCAGCTCC	CCCTCCTGAA	AGGTGACCTC	CGCATCCAGC
1451	ATACAGTGAC	GGCCTCCGTG	CGCCTCAGCT	ACGGGGAGGA	CCTGCAGATG
1501	GACTGGGATG	GCCGCGGGAG	GCTGCTGGTG	AAGCTGTCCC	CCGTCTATGC
1551	CGGGAAGACC	TGCGGCCTGT	GTGGGAATTA	CAATGGCAAC	CAGGGCGACG
1601	ACTTCCTTAC	CCCCTCTGGG	CTGGCGGAGC	CCCGGGTGGG	GGACTTCGGG
1651	AACGCCTGGA	AGCTGCACGG	GGACTGCCAG	GACCTGCAGA	AGCAGCACAG
1701	CGATCCCTGC	GCCCTCAACC	CGCGCATGAC	CAGGTTCTCC	GAGGAGGCGT
1751	GCGCGGTCTT	GACGTCCCCC	ACATTCGAGG	CCTGCCATCG	TGCCGTCAAG
1801	CCGCTGCCCT	ACCTGCGGAA	CTGCCGCTAC	GACGTGTGCT	CCTGCTCGGA
1851	CGGCCGCGAG	TGCCTGTGCG	GCGCCCTGGC	CAGCTATGCC	GCGGCCTGCG
1901	CGGGGAGAGG	CGTGCGCGTC	GCGTGGCGCG	AGCCAGGCCG	CTGTGAGCTG
1951	AACTGCCCGA	AAGGCCAGGT	GTACCTGCAG	TGCGGGACCC	CCTGCAACCT
2001	GACCTGCCGC	TCTCTCTCTT	ACCCGGATGA	GGAATGCAAT	GAGGCCTGCC
2051	TGGAGGGCTG	CTTCTGCCCC	CCAGGGCTCT	ACATGGATGA	GAGGGGGGAC
2101	TGCGTGCCCA	AGGCCAGTGG	CCCCTGTTAC	TATGACGGTG	AGATCTTCCA
2151	GCCAGAAGAC	ATCTTCTCAG	ACCATCACAC	CATGTGCTAC	TGTGAGGATG
2201	GCTTCATGCA	CTGTACCATG	AGTGGAGTCC	CCGGAAGCTT	GCTGCCTGAC
2251	GCTGTCTCTA	GCAGTCCCCT	GTCTCATCGC	AGCAAAAGGA	GCCTATCCTG
2301	TCGGCCCCCC	ATGGTCAAGC	TGGTGTGTCC	CGCTGACAAC	CTGCGGGCTG
2351	AAGGGCTCGA	GTGTACCAAA	ACGTGCCAGA	ACTATGACCT	GGAGTGCATG
2401	AGCATGGGCT	GTGTCTCTGG	CTGCCTCTGC	CCCCCGGGCA	TGGTCCGGCA
2451	TGAGAACAGA	TGTGTGGCCC	TGAAAAGGTG	TCCCTGCTTC	CATCAGGGCA
2501	AGGAGTATGC	CCCTGGAGAA	ACAGTGAAGA	TTGGCTGCAA	CACTTGTGTC
2551	TGTCGGGACC	GGAAGTGGAA	CTGCACAGAC	CATGTGTGTG	ATGCCACGTG
2601	CTCCACGATC	GGCATGGCCC	ACTACCTCAC	CTTCGACGGG	CTCAAAATACC
2651	TGTTCCCCGG	GGAGTGCCAG	TACGTTCTGG	TGCAGGATTA	CTGCGGCAGT
2701	AACCCTGGGA	CCTTTCGGAT	CCTAGTGGGG	AATAAGGGAT	GCAGCCACCC
2751	CTCAGTGAAG	TGCAAGAAAC	GGGTACCACAT	CCTGGTGGAG	GGAGGAGAGA
2801	TTGAGCTGTT	TGACGGGGAG	GTGAATGTGA	AGAGGCCCAT	GAAGGATGAG
2851	ACTCACTTTG	AGGTGGTGGG	GTCTGGCCGG	TACATCATTG	TGCTGCTGGG
2901	CAAAGCCCTC	TCCGTGGTCT	GGGACCGCCA	CCTGAGCATC	TCCGTGGTCC
2951	TGAAGCAGAC	ATACCAGGAG	AAAGTGTGTG	GCCTGTGTGG	GAATTTTGAT
3001	GGCATCCAGA	ACAATGACCT	CACCAGCAGC	AACCTCCAAG	TGGAGGAAGA
3051	CCCTGTGGAC	TTTGGGAACT	CCTGGAAAGT	GAGCTCGCAG	TGTGCTGACA
3101	CCAGAAAAGT	GCCTCTGGAC	TCATCCCCTG	CCACCTGCCA	TAACAACATC
3151	ATGAAGCAGA	CGATGGTGGG	TTCCTCCTGT	AGAATCCTTA	CCAGTGACGT
3201	CTTCCAGGAC	TGCAACAAGC	TGGTGGACCC	CGAGCCATAT	CTGGATGTCT
3251	GCATTTACGA	CACCTGCTCC	TGTGAGTCCA	TTGGGGACTG	CGCCGCATTC
3301	TGCGACACCA	TTGCTGCCTA	TGCCACAGTG	TGTGCCCAGC	ATGGCAAGGT
3351	GGTGACCTGG	AGGACGGCCA	CATTGTGCCC	CCAGAGCTGC	GAGGAGAGGA

3401	ATCTCCGGGA	GAACGGGTAT	GAGGCTGAGT	GGCGCTATAA	CAGCTGTGCA
3451	CCTGCCTGTC	AAGTCACGTG	TCAGCACCCCT	GAGCCACTGG	CCTGCCCTGT
3501	GCAGTGTGTG	GAGGGCTGCC	ATGCCCACTG	CCCTCCAGGG	AAAATCCTGG
3551	ATGAGCTTTT	GCAGACCTGC	GTTGACCCTG	AAGACTGTCC	AGTGTGTGAG
3601	GTGGCTGGCC	GGCGTTTTGC	CTCAGGAAAG	AAAGTCACCT	TGAATCCCAG
3651	TGACCCTGAG	CACTGCCAGA	TTTGCCACTG	TGATGTTGTC	AACCTCACCT
3701	GTGAAGCCTG	CCAGGAGCCG	GGTACATCAG	AGAGCGCCAC	CCCTGAAAGT
3751	GGTCCCAGGA	GCGAGCCAGC	CACATCTGGG	TCGGAAACGC	CAGGCACATC
3801	CGAGTCTGCA	ACTCCCAGT	CCGGACCTGG	CTCCGAGCCT	GCCACTAGCG
3851	GCTCCGAGAC	TCCGGGAACT	TCCGAGAGCG	CTACACCAGA	AAGCGGACCC
3901	GGAACCAGTA	CCGAACCTAG	CGAGGGCTCT	GCTCCGGGCA	GCCCAGCCGG
3951	CTCTCTACA	TCCACGGAGG	AGGGCACTTC	CGAATCCGCC	ACCCCGGAGT
4001	CAGGGCCAGG	ATCTGAACCC	GCTACCTCAG	GCAGTGAGAC	GCCAGGAACG
4051	AGCGAGTCCG	CTACACCGGA	GAGTGGGCCA	GGGAGCCCTG	CTGGATCTCC
4101	TACGTCCACT	GAGGAAGGGT	CACCAGCGGG	CTCGCCCACC	AGCACTGAAG
4151	AAGGTGCCTC	GTCTGACAAG	AACACTGGTG	ATTATTACGA	GGACAGTTAT
4201	GAAGATATTT	CAGCATACTT	GCTGAGTAAA	AACAATGCCA	TTGAACCAAG
4251	AAGCTTCTCT	GACAAAATC	ACACATGCCC	ACCGTGCCCA	GCTCCAGAAC
4301	TCCTGGGCGG	ACCGTCAGTC	TTCCTCTTCC	CCCCAAAACC	CAAGGACACC
4351	CTCATGATCT	CCCGGACCCC	TGAGGTCACA	TGCGTGGTGG	TGGACGTGAG
4401	CCACGAAGAC	CCTGAGGTCA	AGTTCAACTG	GTATGTGGAC	GGCGTGGAAG
4451	TGCATAATGC	CAAGACAAAG	CCGCGGAGG	AGCAGTACAA	CAGCACGTAC
4501	CGTGTGGTCA	GCGTCCTCAC	CGTCCTGCAC	CAAGACTGGC	TGAATGGCAA
4551	GGAGTACAAG	TGCAAGGTCT	CCAACAAAGC	CCTCCCAGCC	CCCATCGAGA
4601	AAACCATCTC	CAAAGCCAAA	GGGAGCCCC	GAGAACCACA	GGTGTACACC
4651	CTGCCCCCAT	CCCGGGATGA	GCTGACCAAG	AACCAAGTTA	GCCTGACCTG
4701	CCTGGTCAAA	GGCTTCTATC	CCAGCGACAT	CGCCGTGGAG	TGGGAGAGCA
4751	ATGGGCAGCC	GGAGAACAAC	TACAAGACCA	CGCCTCCCGT	GTTGGACTCC
4801	GACGGCTCCT	TCTTCTCTA	CTCCAAGCTC	ACCGTGGACA	AGAGCAGGTG
4851	GCAGCAGGGG	AACGTCTTCT	CATGCTCCGT	GATGCATGAG	GCTCTGCACA
4901	ACCACTACAC	GCAGAAGAGC	CTCTCCCTGT	CTCCGGGTTG	A

**FVIII (ELNN) -Fc: SEQ ID NO: 7**

TRRYLGAIVE	LSWDYMQSDL	GELPVDARFP	PRVPKSFEFN	TSVVYKKTLE	VEFTDHLFNI	60
AKPRPPWMGL	LGPTIQAEVY	DTVVITLKNM	ASHPVSLHAV	GVSYWKASEG	AEYDDQTSQR	120
EKEDDKVFPG	GSHTYVWQVL	KENGPMSADP	LCLTYSYLSH	VDLVKDLNSG	LIGALLVCRE	180
GSLAKEKTQT	LHKFILLFAV	FDEGKSWHSE	TKNSLMQDRD	AASARAWPKM	HTVNGYVNRS	240
LPGLIGCHRK	SVYWHVIGMG	TTPEVHSIFL	EGHTFLVRNH	RQASLEISPI	TFLTAQTLIM	300
DLGQFLLFCH	ISSHQHDGME	AYVKVDSCPE	EPQLRMKNNE	EAEDYDDDLT	DSEMDVVRFD	360
DDNSPSFIQI	RSVAKKHPKT	WVHYIAAEEE	DWDYAPLVLA	PDDRSYKSQY	LNNGPQRIGR	420
KYKKVRFMAY	TDETFKTREA	IQHESGILGP	LLYGEVGDTL	LIIFKNQASR	PYNIYPHGIT	480
DVRPLYSRRL	PKGVKHLKDF	PILPGEIFKY	KWTVTVEEDGP	TKSDPRCLTR	YYSFVNMER	540

DLASGLIGPL	LICYKESVDQ	RGNQIMSDKR	NVILFSVFDE	NRSWYLTEI	QRFLPNPAGV	600
QLEDPEFQAS	NIMHSINGYV	FDSLQLSVCL	HEVAYWYILS	IGAQTDFLSV	FFSGYTFKHK	660
MVYEDTLTLF	PFSGETVFMS	MENPGLWILG	CHNSDFRNRG	MTALLKVSSC	DKNTGDYYED	720
SYEDISAYLL	SKNNAIEPRS	FSQNGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	780
GSEPATSGSE	TPGTSESATP	ESGPGTSTEP	SEGSAPGSPA	GSPTSTEEGT	SESATPESGP	840
GSEPATSGSE	TPGTSESATP	ESGPGSPAGS	PTSTEEGSPA	GSPTSTEEGT	STEPSEGSAP	900
GTSESATPES	GPGTSESATP	ESGPGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGS	EPATSGSETP	960
GSPAGSPTST	EEGTSTEPSE	GSAPGTSTEP	SEGSAPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	1020
GTSTEPSEGS	APASSEITRT	TLQSDQEEID	YDDTISVEMK	KEDFDIYDED	ENQSPRSFQK	1080
KTRHYFIAAV	ERLWDYGMSS	SPHVLNRQAQ	SGSVPQFKKV	VFQEFTDGSF	TQPLYRGELN	1140
EHLGLLGPYI	RAEVEDNIMV	TFRNQASRPY	SFYSSLISYE	EDQRQGAEP	KNFVKPNETK	1200
TYFWKVQHMM	APTKDEFDCK	AWAYFSDVDL	EKDVSGLIG	PLLVCHTNTL	NPAHGRQVTV	1260
QEFALFFTIF	DETKSWYFTE	NMERNCRAPC	NIQMEDPTFK	ENYRFHAING	YIMDTLPGLV	1320
MAQDQRIRWY	LLSMGSNENI	HSIHFSGHVF	TVRKKEEYKM	ALYNLYPGVF	ETVEMLPSKA	1380
GIWRVECLIG	EHLHAGMSTL	FLVYSNKCQT	PLGMASGHIR	DFQITASGQY	GQWAPKLARL	1440
HYSGSINAW	TKEPFSWIKV	DLLAPMIHGH	IKTQGARQKF	SSLYISQFII	MYSLDGKKWQ	1500
TYRGNSTGTL	MVFFGNVDSS	GIKHNI FNPP	IIARYIRLHP	THYSIRSTLR	MELMGCDLNS	1560
CSMPLGMESK	AISDAQITAS	SYFTNMFATW	SPSKARLHLQ	GRSNAWRPQV	NNPKEWLQVD	1620
FQKTMKVTGV	TTQGVKSLLT	SMYVKEFLIS	SSQDGHQWTL	FFQNGKVKVF	QGNQDSFTPV	1680
VNSLDPPLLT	RYLRIHPQSW	VHQIALRMEV	LGCEAQDLYD	KTHTCPPCPA	PELLGGPSVF	1740
LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVDVSHEDP	EVKFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQYNSTYR	1800
VVSVLTVLHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKALPAP	IEKTISKAKG	QPREPQVYTL	PPSRDELTKN	1860
QVSLTCLVKG	FYPSDIAVEW	ESNGQPENNY	KTPPVLDSD	GSFFLYSKLT	VDKSRWQQGN	1920
VFSCSVMHEA			LHNHYTQKSL		SLSPG	
1945						

**Таблица 4. Дополнительные последовательности химерных белков**

Описание/ SEQ ID NO:	Последовательность				
Полноразмерный FVIII	ATRRYYLGAV	ELSWDYMQSD	LGELPVDARF	PPRVPKSFPF	NTSVVYKCTL
	FVEFTDHLFN	60			
SEQ ID NO: 8	IAKPRPPWMG	LLGPTIQAEV	YDTVVITLKN	MASHPVSLHA	VGVSYWKASE
	GAEYDDQTSQ	120			
	REKEDDKVFP	GGSHTYVWQV	LKENGPMASD	PLCLTYSYLS	HVDLVKDLNS
	GLIGALLVCR	180			
	EGSLAKEKTQ	TLHKFILLFA	VFDEGKSWHS	ETKNSLMQDR	DAASARAWPK
	MHTVNGYVNR	240			
	SLPGLIGCHR	KSVYWHVIGM	GTTPEVHSIF	LEGHTFLVRN	HRQASLEISP

ITFLTAQTLL	300				
MDLQQLLFC	HISSHQHDGM	EAYVKVDS	EEPQLRMKNN	EEAEDYDDDL	
TDSEMDVVR	360				
DDDNPSFIQ	IRSVAKKHPK	TWVHYIAAEE	EDWDYAPLVL	APDDRSYKSQ	
YLNNGPQRIG	420				
RKYKKVRFMA	YTDEFKTR	AIQHESGILG	PLLYGEVGD	LLIIFKNQAS	
RPYNIYPHGI	480				
TDVRPLYSRR	LPKGVKHLKD	FPILPGEIFK	YKWTVTVEDG	PTKSDPRCLT	
RYSSFVNME	540				
RDLASGLIGP	LLICYKESVD	QRGNQIMSDK	RNVILFSVFD	ENRSWYLTEN	
IQRFLPNPAG	600				
VQLEDPEFQA	SNIMHSINGY	VFDSLQLSVC	LHEVAYWYIL	SIGAQTDFLS	
VFFSGYTFKH	660				
KMVYEDTLTL	FPFSGETVEM	SMENPGLWIL	GCHNSDFRNR	GMTALLKVSS	
CDKNTGDYYE	720				
DSYEDISAYL	LSKNNAIER	SFSQNSRHPS	TRQKQFNATT	IPENDIEKTD	
PWFAHRTMP	780				
KIQNVSSSDL	LMLLRQSPTP	HGLSLSDLQE	AKYETFSDDP	SPGAIDSNNS	
LSEMTHFRPQ	840				
LHHSGDMVFT	PESGLQLRLN	EKLGTTAATE	LKKLDFKVSS	TSNNLISTIP	
SDNLAAGTDN	900				
TSSLGPPSMP	VHYDSQLD	LFGKKSPLT	ESGGPLSLSE	ENNSKLLLES	
GLMNSQESSW	960				
GKNVSSSTESG	RLFKGKRAHG	PALLTKDNAL	FKVSISLLKT	NKTSNNSATN	
RKTHIDGPSL	1020				
LIENSPSVWQ	NILESDETEFK	KVTPLIHDRM	LMDKNATALR	LNHMSNKTTS	
SKNMEMVQOK	1080				
KEGPIPPDAQ	NPDMSFFKML	FLPESARWIQ	RTHGKNSLNS	GQGSPKQLV	
SLGPEKSVEG	1140				
QNFLSEKNKV	VVGKGEFTKD	VGLKEMVFPS	SRNLFLTND	NLHENNTHNQ	
EKKIQEEIEK	1200				
KETLIQENVV	LPQIHTVTGT	KNFMKNLFL	STRQNVESY	DGAYAPVLQD	
FRSLNDSTNR	1260				
TKKHTAHFSK	KGEEENLEGL	GNQTKQIVEK	YACTTRISPN	TSQQNFVTQR	
SKRALKQFRL	1320				
PLEETELEKR	IIVDDTSTQW	SKNMKHLTPS	TLTQIDYNEK	EKGAITQSPL	
SDCLTRSHSI	1380				
PQANRSPLPI	AKVSSFPSIR	PIYLTRVLFQ	DNSSHLPAAS	YRKKDSGVQE	
SSHFLQGAKK	1440				
NNLSLAILTL	EMTGDQREVG	SLGTSATNSV	TYKKVENTVL	PKPDLPKTSG	
KVELLPKVHI	1500				
YQKDLFPTET	SNGSPGHLDL	VEGSLQGTE	GAIKWNEANR	PGKVPFLRVA	

	TESSAKTPSK 1560 LLDPLAWDNH YGTQIPKEEW KSQEKSP EKT AFKKKDTILS LNACESNHAI AAINEGQNKP 1620 EIEVTWAKQG RTERLCSQNP EVLKRHQREI TRTTLQSDQE EIDYDDTISV EMKKEDFDIY 1680 DEDENQSPRS FQKTRHYFI AAVERLWDYG MSSSPHVLRN RAQSGSVPQF KKVVFQEFTD 1740 GSFTQPLYRG ELNEHLGLLG PYIRAEVEDN IMVTFRNQAS RPYSFYSSLI SYEEDQRQGA 1800 EPRKNFVKPN ETKTYFWKVQ HHMAPTKDEF DCKAWAYFSD VDLEKDVHSG LIGPLLVCHT 1860 NTLNPAHGRQ VTVQEFAFF TIFDETKSWY FTENMERNCR APCNIQMEDP TFKENYRFHA 1920 INGYIMDTLP GLVMAQDQRI RWYLLSMGSN ENIHSIHFGS HVFTVRKKEE YKMALYNLYP 1980 GVFETVEMLP SKAGIWRVEC LIGEHLHAGM STLFLVYSNK CQTPLGMASG HIRDFQITAS 2040 GOYQWAPKL ARLHYSGSIN AWSTKEPFSW IKVDLLAPMI IHGIKTQGAR QKFSSLYISQ 2100 FIIMYSLDGK KWQTYRGNST GTLMVFFGNV DSSGIKHNIF NPPIIARYIR LHPHYSIRS 2160 TLRMELMGCD LNCSMPLGM ESKAISDAQI TASSYFTNMF ATWSPSKARL HLQGRSNAWR 2220 PQVNNPKEWL QVDFQKTMKV TGVTTQGVKS LLTSMYVKEF LISSSQDGHQ WILFFQNGKV 2280 KVFQGNQDSF TPVVNSLDP LLLTRYLRIHP QSWVHQIALR MEVLGCEAQD LY 2332
AE288  SEQ ID NO: 9	GTSESATPES GPGSEPATSG SETPGTSESA TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP 60 GTSTEPSEGS APGSPAGSPT STEEGTSESA TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP 120 GSPAGSPTST EEGSPAGSPT STEEGTSTEP SEGSA PGTSE SATPESGP SESATPESGP 180 GTSESATPES GPGSEPATSG SETPGSEPAT SGSETPGSPA GSPTSTEEGT STEPSEGSAP 240 GTSTEPSEGS APGSEPATSG SETPGTSESA TPESGPGTST EPSEGSAP 288
pSYN VWF059	TSTEEGASIS DKNTGDYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FSDKTH

pSYN VWF059  SEQ ID NO: 10	TSTEEGASIS DKNTGDYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FSDKTH				
pSYN VWF059A  SEQ ID NO: 11	TSTEEGASSD KNTGDYEDS YEDISAYLLS KNNNAIEPRSF SDKTH				
pSYN FVIII 312  SEQ ID NO: 12	ATRRYYLGAV	ELSWDYMQSD	LGELEVDARF	PPRVPKSFPF	NTSVVYKCTL
	FVEFTDHLFN	60			
	IAKPRPPWMG	LLGPTIQAEV	YDTVVITLKN	MASHPVSLHA	VGVSYWKASE
	GAEYDDQTSQ	120			
	REKEDDKVFP	GGSHYVWQV	LKENGPMASD	PLCLTYSYLS	HVDLVKDLNS
	GLIGALLVCR	180			
	EGSLAKEKTQ	TLHKFILLFA	VFDEGKSWHS	ETKNSLMQDR	DAASARAWPK
	MHTVNGYVNR	240			
	SLPGLIGCHR	KSVYWHVIGM	GTTPEVHSIF	LEGHTFLVRN	HRQASLEISP
	ITFLTAQTL	300			
	MDLGQFLLFC	HISSHQHDGM	EAYVKVDSCP	EEPQLRMKNN	EEAEDYDDDL
	TDSEMDVVR	360			
	DDDNPSFIIQ	IRSVAKKHPK	TWVHYIAAEE	EDWDYAPLVL	APDDRSYKSQ
	YLNNGPQRIG	420			
	RKYKKVRFMA	YTDETFKTRE	AIQHESGILG	PLLYGEVGD	LLIIFKNQAS
	RFYNIYPHGI	480			
	TDVRLPLSRR	LPKGVKHLKD	FPILPGEIFK	YKWTVTVEDG	PTKSDPRCLT
	RYSSSFVNME	540			
	RDLASGLIGP	LLICYKESVD	QRGNQIMSDK	RNVILFSVFD	ENRSWYLTEN
	IQRFLPNPAG	600			
	VQLEDPEFQA	SNIMHSINGY	VFDSLQLSVC	LHEVAYWYIL	SIGAQTDFLS
	VFFSGYTFKH	660			
	KMVYEDTLTL	FPPSGETVFM	SMENPGLWIL	GCHNSDFRNR	GMTALLKVSS
	CDKNTGDYEE	720			
	DSYEDISAYL	LSKNNAIEPR	SFSQNGTSES	ATPESGPGSE	PATSGSETPG
	TSESATPESG	780			
	PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGTSTE	PSEGSAPGSP	AGSPTSTEEG
	TSESATPESG	840			
	PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGSPAG	SPTSTEEGSP	AGSPTSTEEG
	TSTEPSEGSA	900			
	PGTSESATPE	SGPGTSESAT	PESGPGTSES	ATPESGPGSE	PATSGSETPG

	SEPATSGSET	960			
	PGSPAGSPTS	TEEGTSTEPS	EGSAPGTSTE	PSEGSAPGSE	PATSGSETPG
	TSESATPESG	1020			
	PGTSTEPSEG	SAPASSEITR	TTLQSDQEEI	DYDDTISVEM	KKEDFDIYDE
	DENQSPRSFQ	1080			
	KKTRHYFIAA	VERLWDYGMS	SSPHVLRNRA	QSGSVPQFKK	VVFQEFTDGS
	FTQPLYRGEL	1140			
	NEHLGLLGPY	IRAEVEDNIM	VTFRNQASRP	YSFYSSLISY	EEDQRQGAEP
	RKNFVKPNET	1200			
	KTYFWKVQHH	MAPTKDEFDC	KAWAYFSDVD	LEKDVHSGLI	GPLLVCHTNT
	LNPAHGRQVT	1260			
	VQEFALFFTI	FDETKSWYFT	ENMERNCRAP	CNIQMEDPTF	KENYRFHAIN
	GYIMDTLPGL	1320			
	VMAQDQIRIW	YLLSMGSNEN	IHSIHFSGHV	FTVRKKEEYK	MALYNLYPGV
	FETVEMLPSK	1380			
	AGIWRVECLI	GEHLHAGMST	LFLVYSNKCQ	TPLGMASGHI	RDFQITASGQ
	YGQWAPKLAR	1440			
	LHYSGSINAW	STKEPFSWIK	VDLLAPMIH	GIKTQGARQK	FSSLYISQFI
	IMYSLDGKKW	1500			
	QTYRGNSTGT	LMVFFGNVDS	SGIKHNI FNP	PIIARYIRLH	PTHYSIRSTL
	RMELMGCDLN	1560			
	SCSMPLGMES	KAISDAQITA	SSYFTNMFAT	WSPSKARLHL	QGRSNAWRPQ
	VNNPKEWLQV	1620			
	DFQKTMKVTG	VTTQGVKSLL	TSMYVKEFLI	SSSQDGHQWT	LFFQNGKVKV
	FQGNQDSFTP	1680			
	VVNSLDPPLL	TRYLRIHPQS	WVHQIALRME	VLGCEAQDLY	DKTHTCPPCP
	APELLGGPSV	1740			
	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	GVEVHNAKTK
	PREEQYNSTY	1800			
	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	PIEKTISKAK	GQPREPQVYT
	LPPSRDELTK	1860			
	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	DGSFFLYSKL
	TVDKSRWQQG	1920			
	NVFSCSVMHE	ALHNHYTQKS	LSLSPGK		
ELNN_AE288_2	GSPAGSPTST	EEGTSESATP	ESGPGSEPAT	SGSETPGTSE	SATPESGPGT
	STEPSEGSAP	60			
SEQ ID NO: 13	GTSTEPSEGS	APGTSTEPSE	GSAPGTSTEP	SEGSAPGTST	EPSEGSAPGT
	STEPSEGSAP	120			
	GSPAGSPTST	EEGTSTEPSE	GSAPGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT
	SESATPESGP	180			
	GSEPATSGSE	TPGTSESATP	ESGPGTSTEP	SEGSAPGTSE	SATPESGPGS

		PAGSPTSTEE	240						
		GSPAGSPTST	EEGSPAGSPT	STEEGTSESA	TPESGPCTST	EPSEGSAP			
		288							
ELNN AE144_5A		TSESATPESG	PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGSEPA	TSGSETPGTS			
		ESATPESGPG	60						
SEQ ID NO: 14		TSTEPSEGSA	PGSPAGSPTS	TEEGTSESAT	PESGPGSEPA	TSGSETPGTS			
		ESATPESGPG	120						
		SPAGSPTSTE	EGSPAGSPTS	TEEG					
Линкер	a2	DKNTGDYYED	SYEDISAYLL	SKNNAIEPRS	FS				
химерного		32							
белка									
SEQ ID NO: 15									
Сигнальный		MQIELSTCFFLCLLRFCFS							
пептид FVIII									
SEQ ID NO: 16									
Фрагмент	1	ATRRYYLGAV	ELSWDYMQSD	LGELPVDARF	PPRVPKSFPP	NTSVVYKRTL			
FVIII		FVEFTDHLFN	60						
химерного		IAKPRPPWMG	LLGPTIQAEV	YDTVVITLKN	MASHPVSLSHA	VGVSYWKASE			
белка		GAEYDDQTSQ	120						
		REKEDDKVFP	GGSHTYVWQV	LKENGPMASD	PLCLTYSYLS	HVDLVKDLNS			
SEQ ID NO: 17		GLIGALLVCR	180						
		EGSLAKEKTQ	TLHKFILLFA	VFDEGKSWHS	ETKNSLMQDR	DAASARAWPK			
		MHTVNGYVNR	240						
		SLPGLIGCHR	KSVYWHVIGM	GTTPEVHSIF	LEGHTFLVRN	HRQASLEISP			
		ITFLTAQTL	300						
		MDLGQFLFC	HISSHQHDGM	EAYVKVDSCP	EEPQLRMKNN	EEAEDYDDDL			
		TDSEMDVVR	360						
		DDDNPSFSIQ	IRSVAKKHPK	TWVHYIAAEE	EDWDYAPLVL	APDDRSYKSQ			
		YLNNGPQRIG	420						
		RKYKKVRFMA	YTDETFKTRE	AIQHESGILG	PLLYGEVGD	LLIIFKNQAS			
		RPYNIYPHGI	480						
		TDVRPLYSRR	LPKGVKHLKD	FPILPGEIFK	YKWTVTVEDG	PTKSDPRCLT			
		RYYSSFVNME	540						



		RDLASGLIGP IQRFLPNPAG VQLEDPEFQA VFFSGYTFKH KMOVIEDTLTL CDKNTGDYYE DSYEDISAYL	LLICYKESVD 600 SNIMHSINGY 660 FPFSGETVFM 720 LSKNNNAIEPR	QRGNQIMSDK RVNLFVSVFD VFDSLQLSVC SMENPGLWIL SFSQN	RNVILFVSVFD LHEVAYWYIL GCHNSDFRNR GMTALLKVSS	ENRSWYLTEN SIGAQTDFLS
Фрагмент FVIII химерного белка  SEQ ID NO: 18	2	EITRRTLQSD FIAAVERLWD YGMSSSPHVL LGPYIRAEVE DNIMVTFRNQ VQHHMAPTKD EFDCKAWAYF FFTIFDETKS WYFTENMERN RIRWYLLSMG SNENIHSIHF ECLIGEHLHA GMSTLFLVYS INAWSTKEPF SWIKVDLLAP STGTLMVFFG NVDSSGIKHN GMESKAISDA QITASSYFTN KVTGVTTQGV KSLLTSMYVK PPLLTRYLRI HPQSWVHQIA	QEEIDYDDTI 60 RNRAQSGSVP 120 ASRPYSFYSS 180 SDVDLEKDVH 240 CRAPCNIQME 300 SGHVFTVRKK 360 NKCQTPLGMA 420 MIIHGIKTQG 480 IFNPPIIARY 540 MFATWSPSKA 600 EFLISSSQDG 660 LRMEVLGCEA	SVEMKKEDFD QFKKVVFQEF LISYEEDQRQ SGLIGPLLVC DPTFKENYRF EEYKMALYNL SGHIRDFQIT ARQKFSSLYI IRLHPHYSI RLHLQGRSNA HQTWTLFFQNG	IYDEDENQSP TDGSFTQPLY GAEPRKNFVK HTNTLNPAHG HAINGYIMDT YPGVFETVEM ASGQYGQWAP SQFIIMYSLD RSTLRMELMG WRPQVNNPKE KVKVFQGNQD	RSFQKTRHY RGELNEHLGL PNETKTYFWK RQVTVQEFAL LPGLVMAQDQ LPSKAGIWRV KLARLHYSGS GKKWQTYRGN CDLNSCSMPL WLQVDFQKTM SETPVVNSLD
Сигнальный пептид VWF  SEQ ID NO: 19		MIPARFAGVL	LALALILPGT	LC		
Домен D1D2 VWF химерного белка		AEGTRGRSST IGDFQNGKRV SLSVYLGEFF AYGFVARIDG SGNFQVLLSD	ARCSLFGSDF 60 DIHLFVNGTV 120 RYFNKTCGLC	VNTFDGSMYS TQGDQRVSMP GNFNIFAEDD	FAGYCSYLLA YASKGLYLET FMTQEGTLTS	GGCQKRSFSI EAGYYKLSGE DPYDFANSWA

SEQ ID NO: 20	LSSGEQWCER 180 ASPPSSSNI SSGEMQKGLW EQCQLLKSTS VFARCHPLVD PEPFVALCEK TLCECAGGLE 240 CACPALLEYA RTCAQEGMVL YGWDHSACS PVCAPAGMEYR QCVSPCARTC QSLHINEMCQ 300 ERCVDGCSCP EGQLLDEGLC VESTTEPCVH SGKRYPPGTS LSRDCNTCIC RNSQWICSNE 360 ECPGECLVTG QSHFKSFDNR YFTFSGICQY LLARDCQDHS FSIVIETVQC ADDRDAVCTR 420 SVTVRLPGLH NSLVKCLKHGA GVAMDGQDIQ LPLLKGLLRI QHTVTASVRL SYGEDLQMDW 480 DGRGRLLVKL SPVYAGKTCG LCGNYNGNQG DDFLTPSGLA EPRVEDFGNA WKLHGDCQDL 540 QKQHSRPCAL NPRMTRFSEE ACAVLTSPTF EACHRAVSPL PYLRNCRYDV CSCSDGRECL 600 CGALASYAAA CAGRGVRVAW REPGRCELNC PKGQVYLQCG TPCNLTCRSL SYPDEECNEA 660 CLEGCFPPG LYMDERGDVC PKAQCPYYD GEIFQPEDIF SDHHTMCYCE DGMHCTMSG 720 VPGSLLPDAV LSSPLSHRSK R
Домен D' химерного белка  SEQ ID NO: 21	VWF SLSCRPPMVK LVCPADNLRA EGLECTKTCQ NYDLECMSMG CVSGCLCPPG MVRHENRCVA 60 LERCPCFHQG KEYAPGETVK IGCNTCVCRD RKWNCTDHVC DAT 103
Домен D3 химерного белка  SEQ ID NO: 22	VWF CSTIGMAHYL TFDGLKYLFP GECQYVLVQD YCGSNPGTFR ILVGNKGCSS PSVKCKKRV 60 ILVEGGEIEL FDGEVNVKRP MKDETHFEVV ESGRYIILLL GKALSVVWDR HLSISVVLKQ 120 TYQEKVCGLC GNFDGIQNNL LTSSNLQVEE DPVDFGNSWK VSSQCADTRK VPLDSSPATC 180 HNNIMKQTMV DSSCRILTSV VFQDCNKLVD PEPYLDVCIY DTCSCESIGD CAAFCDTIAA 240 YAHVCAQH GK VVTWRTATLC PQSCEERNLR ENGYEAEWRY NSCAPACQVT CQHPEPLACP 300 VQCVEGCHAH CPPGKILDEL LQTCVDPEDC PVCEVAGRRF ASGKKVTLNP SDPEHCQICH 360 CDVVNLTCEA CQEP 374

<p>FC-область</p> <p>SEQ ID NO: 23</p>	<p>DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKENWYVD 60</p> <p>GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK 120</p> <p>GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS 180</p> <p>DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPG</p>
<p>ELNN AE288_3</p> <p>SEQ ID NO: 24</p>	<p>GTSESATPES GPGSEPATSG SETPGTSESA TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP 60</p> <p>GTSTEPSEGS APGSPAGSPT STEEGTSESA TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP 120</p> <p>GSPAGSPTST EEGSPAGSPT STEEGTSTEP SEGSAPGTSE SATPESGPGT SESATPESGP 180</p> <p>GTSESATPES GPGSEPATSG SETPGSEPAT SGSETPGSPA GSPTSTEEGT STEPSEGSAP 240</p> <p>GTSTEPSEGS APGSEPATSG SETPGTSESA TPESGPGTST EPSEGSAPAS S 291</p>

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Фармацевтическая композиция, содержащая:

(а) химерный белок, содержащий

первую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор VIII ("FVIII"), и первую константную область иммуноглобулина ("Ig") или ее часть, и

вторую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор фон Виллебранда ("VWF"), и вторую константную область Ig или ее часть;

(b) сахарозу;

(c) гистидин;

(d) аргинин;

(e) хлорид кальция и

(f) полоксамер.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 7,5% (вес/об.) сахарозы.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1 или п. 2, где фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы.

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-3, где полоксамер представляет собой полоксамер 188 (P188).

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-4, где фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, где фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-6, где фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, где фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,01% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.) полоксамера 188 (P188).

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, где фармацевтическая композиция содержит:

(а) от приблизительно 1% (вес/об.) до приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы;

(b) от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ гистидина;

(c) от приблизительно 200 мМ до приблизительно 300 мМ аргинина;

(d) от приблизительно 2,5 мМ до приблизительно 10 мМ хлорида кальция и

(e) от приблизительно 0,01% (вес/об.) до приблизительно 1,0% (вес/об.) полоксамера 188.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ аргинина;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и
- (e) приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 5% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ L-гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и
- (e) приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-11, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 1% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ аргинина;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и
- (e) приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-12, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 1% (вес/об.) сахарозы;
- (b) приблизительно 10 мМ L-гистидина;
- (c) приблизительно 250 мМ L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 5 мМ хлорида кальция и
- (e) приблизительно 0,1% (вес/об.) полоксамера 188.

14. Фармацевтическая композиция по п. 1, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) от 10 мг/мл до 60 мг/мл сахарозы;
- (b) от 1,5 мг/мл до 2,0 мг/мл L-гистидина;
- (c) от 40 мг/мл до 70 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) от 0,4 мг/мл до 0,9 мг/мл хлорида кальция и
- (e) от 0,6 мг/мл до 1,6 мг/мл полоксамера 188.

15. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 14-15, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

17. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

18. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 17-18, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

19. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 50 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-HCl;
- (d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

20. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 50 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 43,6 мг/мл L-аргинина;
- (d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

21. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) приблизительно 50 мг/мл сахарозы;
- (b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;
- (c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-HCl;

(d) приблизительно 0,6 мг/мл хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

22. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;

(b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;

(c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-HCl;

(d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

23. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;

(b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;

(c) приблизительно 43,6 мг/мл L-аргинина;

(d) приблизительно 0,7 мг/мл дигидрата хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

24. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;

(b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;

(c) приблизительно 52,7 мг/мл L-аргинина-HCl;

(d) приблизительно 0,6 мг/мл хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

25. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

(a) приблизительно 10 мг/мл сахарозы;

(b) приблизительно 1,6 мг/мл L-гистидина;

(c) приблизительно 43,6 мг/мл L-аргинина;

(d) приблизительно 0,6 мг/мл хлорида кальция и

(e) приблизительно 1 мг/мл полоксамера 188.

26. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

(a) 56,12 мг/мл сахарозы;

(b) 1,74 мг/мл L-гистидина;

(c) 48,88 мг/мл L-аргинина;

(d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и

(e) 1,12 мг/мл полоксамера 188.

27. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

(a) 56,12 мг/мл сахарозы;

- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

28. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 56,12 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

29. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,82 мг/мл дигидрата хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

30. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 59,11 мг/мл L-аргинина-НСl;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

31. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фармацевтическая композиция содержит:

- (a) 11,23 мг/мл сахарозы;
- (b) 1,74 мг/мл L-гистидина;
- (c) 48,88 мг/мл L-аргинина;
- (d) 0,62 мг/мл хлорида кальция и
- (e) 1,12 мг/мл поллоксамера 188.

32. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-31, где фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим от приблизительно 6,5 до приблизительно 7,5.

33. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-32, где фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 7,0.

34. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-32, где фармацевтическая композиция характеризуется рН, составляющим приблизительно 6,8.

35. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-34, где фармацевтическая композиция



композиция содержит менее 8,8 мг/мл хлорида натрия (NaCl).

36. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-35, где фармацевтическая композиция не содержит NaCl.

37. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, где гистидин представляет собой L-гистидин.

38. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, где аргинин представляет собой L-аргинин.

39. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, которая содержит аргинин-HCl.

40. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, которая содержит L-аргинин-HCl.

41. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, которая содержит дигидрат хлорида кальция.

42. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-41, где фармацевтическая композиция характеризуется осмоляльностью, составляющей от приблизительно 525 до приблизительно 725 мОсм/кг.

43. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-41, где фармацевтическая композиция характеризуется осмоляльностью, составляющей от приблизительно 500 до приблизительно 650 мОсм/кг.

44. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-43, где фармацевтическая композиция характеризуется мутностью, составляющей менее приблизительно 7 нефелометрических единиц мутности (NTU).

45. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-44, где первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 1, и вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, при этом первая полипептидная цепь и вторая полипептидная цепь ковалентно связаны двумя дисульфидными связями между Fc-доменами в первой и второй полипептидных цепях.

46. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-45, где химерный белок представляет собой эфанесоктоког-альфа.

47. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-46, где фармацевтическая композиция характеризуется концентрацией химерного белка, составляющей от приблизительно 0,8 до приблизительно 1,2 мг/мл.

48. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-47, где фармацевтическая композиция содержит от 75 МЕ/мл до 2000 МЕ/мл химерного белка.

49. Фармацевтическая композиция по п. 48, где фармацевтическая композиция содержит приблизительно 250 МЕ, 500 МЕ, 1000 МЕ, 2000 МЕ, 3000 МЕ или 4000 МЕ химерного белка.

50. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-48, где фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере приблизительно 500 МЕ химерного белка или от

приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл химерного белка.

51. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-50, которая (i) хранилась при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев и/или (ii) представляет собой жидкий состав, который был заморожен, а затем подвергнут оттаиванию 2-5 раз.

52. Способ лечения гемофилии А у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп. 1-51.

53. Способ по п. 52, где фармацевтическую композицию вводят самостоятельно.

54. Способ по п. 52 или п. 53, где фармацевтическую композицию вводят внутривенно.

55. Способ по любому из пп. 52-54, где фармацевтическую композицию вводят внутривенно в дозе, составляющей от 20 МЕ/кг до 70 МЕ/кг.

56. Способ по любому из пп. 52-55, где фармацевтическую композицию вводят внутривенно в дозе, составляющей 50 МЕ/кг.

57. Способ по любому из пп. 52-56, где фармацевтическую композицию вводят внутривенно один раз в 7-10 дней.

58. Способ по любому из пп. 52-57, где фармацевтическую композицию вводят внутривенно один раз в неделю.

59. Фармацевтический набор, содержащий:

(i) первый контейнер, содержащий лиофилизированную фармацевтическую композицию, содержащую:

(a) химерный белок, содержащий

первую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор VIII ("FVIII"), или его часть и первую константную область иммуноглобулина ("Ig") или ее часть, и

вторую полипептидную цепь, которая содержит белок, представляющий собой фактор фон Виллебранда ("VWF"), и вторую константную область Ig или ее часть;

(b) сахарозу;

(c) гистидин;

(d) аргинин;

(e) хлорид кальция и

(f) полоксамер 188, и

(ii) второй контейнер, содержащий стерильную воду.

60. Фармацевтический набор по п. 59, где лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:

(a) от приблизительно 10 мг до приблизительно 200 мг сахарозы;

(b) от приблизительно 2,5 мг до приблизительно 7,5 мг гистидина;

(c) от приблизительно 140 мг до приблизительно 200 мг аргинина;

- (d) от приблизительно 1,5 мг до приблизительно 5 мг хлорида кальция и  
(e) от приблизительно 1 мг до приблизительно 10 мг полоксамера 188.
61. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-60, который не содержит NaCl.
62. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-61, где гистидин представляет собой L-гистидин.
63. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-62, где аргинин представляет собой L-аргинин.
64. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-63, который содержит аргинин-HCl.
65. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-64, который содержит L-аргинин-HCl.
66. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-65, который содержит дигидрат хлорида кальция.
67. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-66, где лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:
- (a) приблизительно 168,3 мг сахарозы;
  - (b) приблизительно 5,2 мг L-гистидина;
  - (c) приблизительно 177,3 мг L-аргинина-HCl;
  - (d) приблизительно 2,5 мг хлорида кальция и
  - (e) приблизительно 3,3 мг полоксамера 188.
68. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-66, где лиофилизированная фармацевтическая композиция содержит:
- (a) приблизительно 33,7 мг сахарозы;
  - (b) приблизительно 5,2 мг L-гистидина;
  - (c) приблизительно 146,6 мг L-аргинина-HCl;
  - (d) приблизительно 2,5 мг хлорида кальция и
  - (e) приблизительно 3,3 мг полоксамера 188.
69. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-68, где второй контейнер содержит от приблизительно 2 мл до приблизительно 5 мл стерильной воды.
70. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-68, где второй контейнер содержит приблизительно 3 мл стерильной воды.
71. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-68, где второй контейнер содержит приблизительно 3,3 мл стерильной воды.
72. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-71, где первый контейнер представляет собой стеклянный флакон, содержащий резиновую пробку.
73. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-72, где второй контейнер представляет собой корпус шприца.
74. Фармацевтический набор по п. 73, где стерильная вода находится в корпусе шприца.
75. Фармацевтический набор по п. 73 или п. 74, где корпус шприца ассоциирован с

поршнем.

76. Фармацевтический набор по любому из пп. 73-75, дополнительно содержащий адаптер для присоединения стеклянного флакона к корпусу шприца.

77. Фармацевтический набор по любому из пп. 73-76, дополнительно содержащий систему для инфузии, ассоциированную с иглой, предназначенной для присоединения к корпусу шприца, подходящего для внутривенной инфузии.

78. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-77, где первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 1, и вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, при этом первая полипептидная цепь и вторая полипептидная цепь ковалентно связаны двумя дисульфидными связями между Fc-доменами в первой и второй полипептидных цепях.

79. Фармацевтический набор по любому из пп. 59-78, который хранился при температуре приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-25^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-30^{\circ}\text{C}$ , приблизительно  $-35^{\circ}\text{C}$  или приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев.

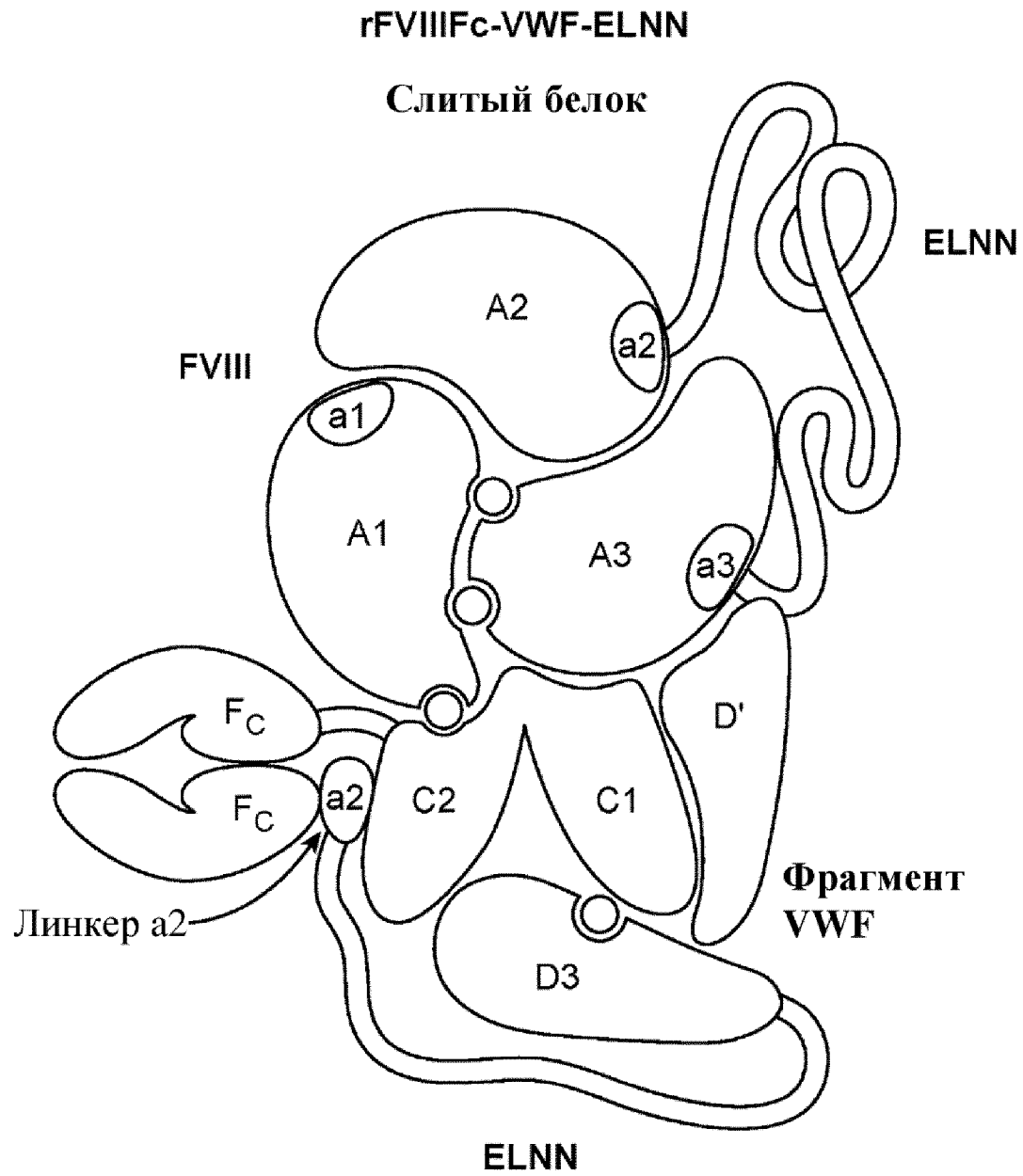
80. Способ лечения гемофилии А у субъекта, нуждающегося в этом, включающий объединение лиофилизированной фармацевтической композиции и стерильной воды из набора по любому из пп. 59-79 и введение субъекту эффективного количества полученной в результате комбинации.

81. Способ по п. 80, где субъект объединяет лиофилизированную фармацевтическую композицию и стерильную воду из набора.

82. Способ по п. 80 или п. 81, где субъект вводит комбинацию самостоятельно.

83. Способ хранения фармацевтической композиции или набора, включающий поддержание фармацевтической композиции по любому из пп. 1-50 или набора по любому из пп. 59-78 при температуре от приблизительно  $-20^{\circ}\text{C}$  до приблизительно  $-40^{\circ}\text{C}$  в течение периода от по меньшей мере приблизительно 1 до приблизительно 36 месяцев.

По доверенности



ФИГ. 1

5% PS80 DS: 0,01%/ч

1% PS80 DS: 0,02% ч

5% P188 DS: 0,01%/ч

1% P188 DS: 0,02%/ч

⊗ 5% сахарозы, PS80

○ 1% сахарозы, PS80

⊗ 5% сахарозы, P188

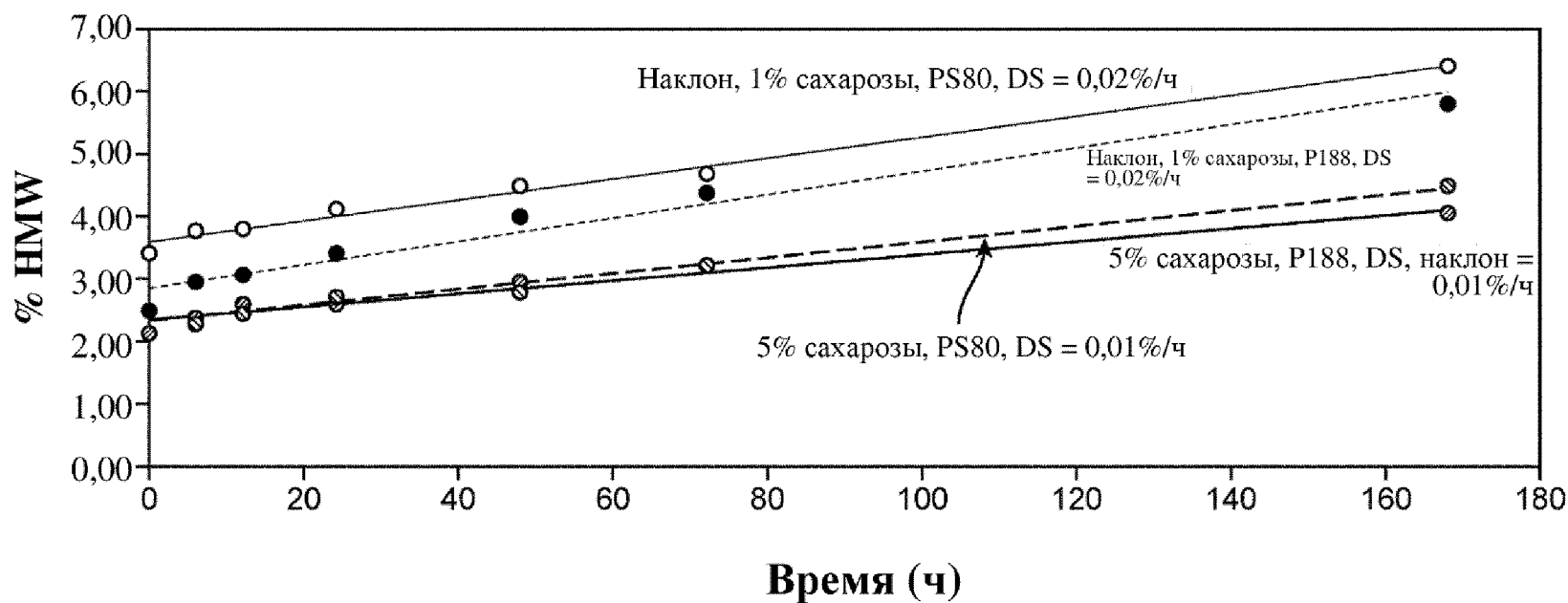
● 1% сахарозы, P188

— Линейная (5% сахарозы, PS80)

— Линейная (1% сахарозы, PS80)

--- Линейная (5% сахарозы, P188)

--- Линейная (1% сахарозы, P188)



ФИГ. 2

5% PS80 DS: 0,01%/ч

1% PS80 DS: 0,02%/ч

5% P188 DS: 0,001% ч

1% P188 DS: 0,01% ч

⊗ 5% сахарозы, PS80

○ 1% сахарозы, PS80

⊗ 5% сахарозы, P188

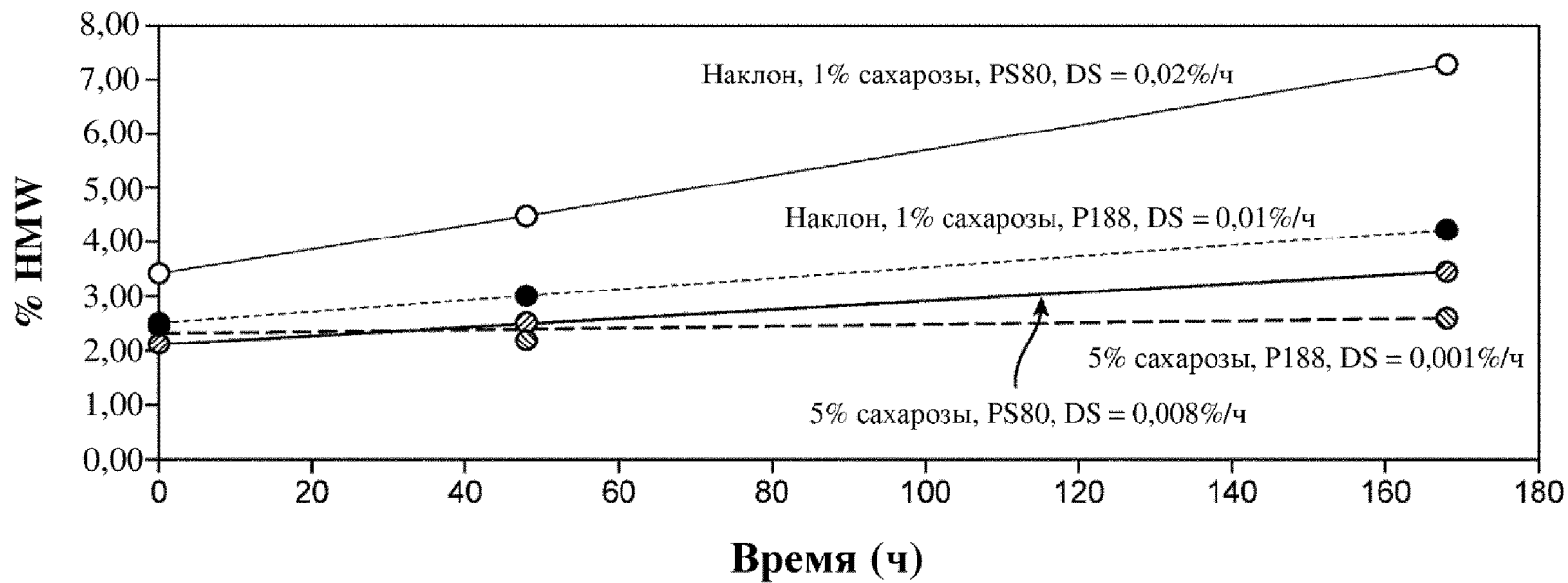
● 1% сахарозы, P188

— Линейная (5% сахарозы, PS80)

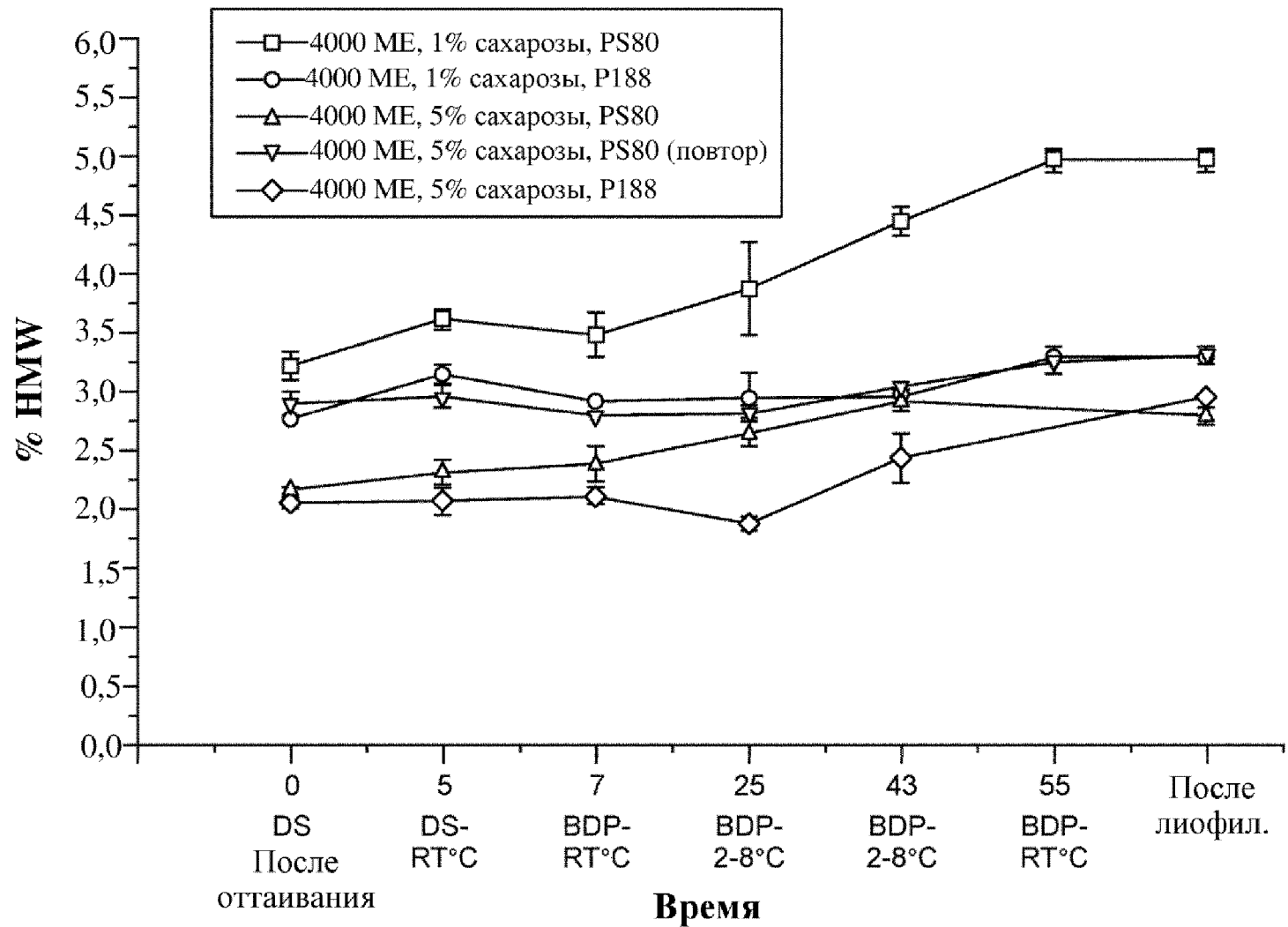
— Линейная (1% сахарозы, PS80)

- - - Линейная (5% сахарозы, P188)

- - - Линейная (1% сахарозы, P188)

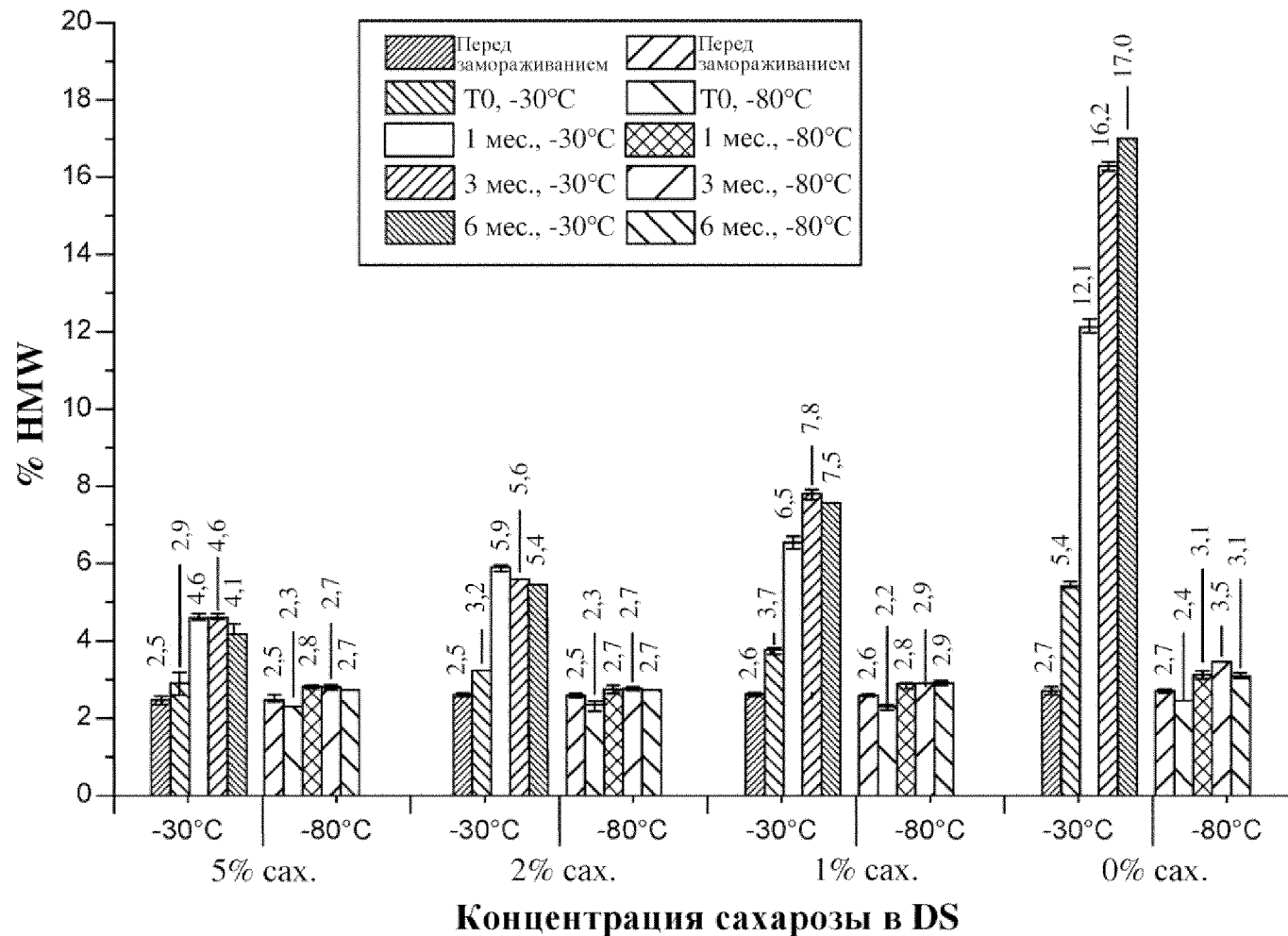


ФИГ. 3

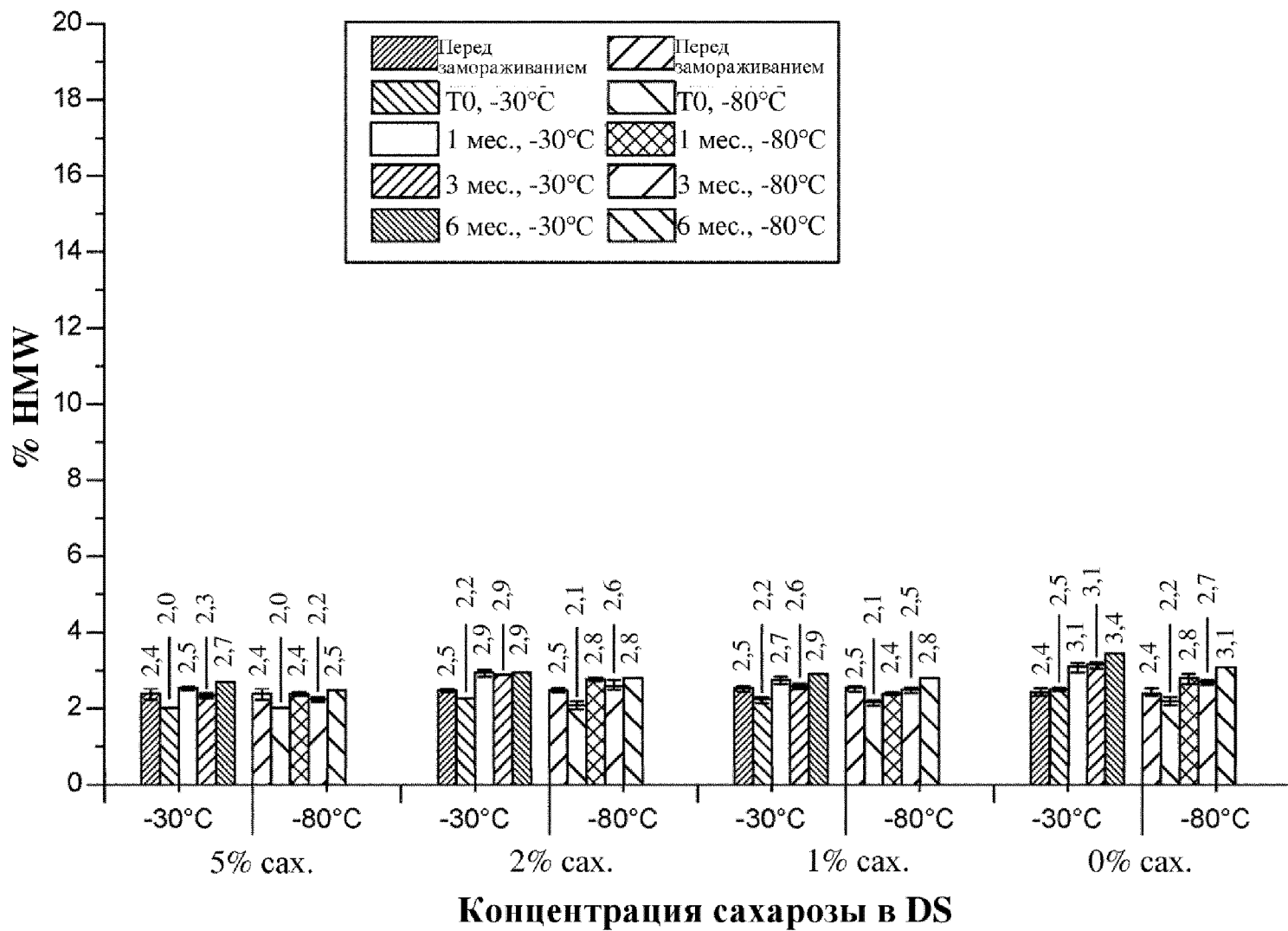


ФИГ. 4

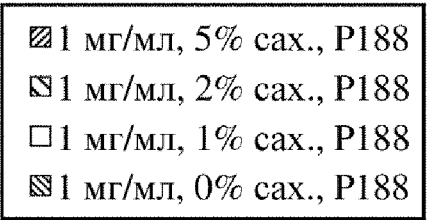




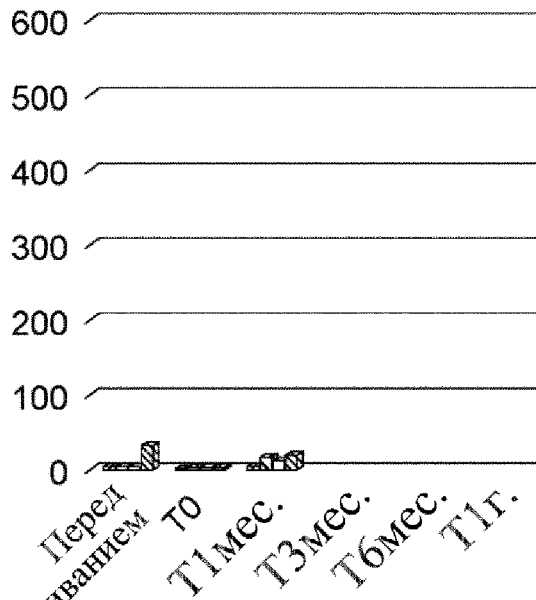
ФИГ. 5



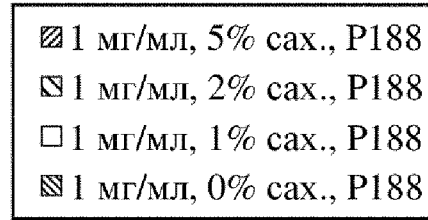
ФИГ. 6



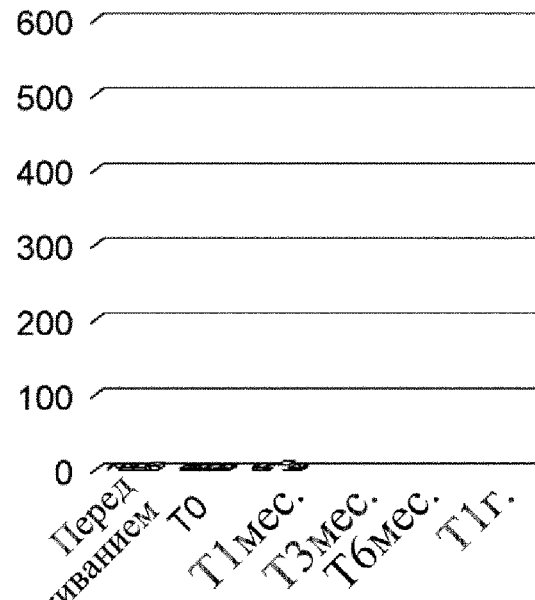
**Частицы размером 10 мкм, P188,  
-80С**



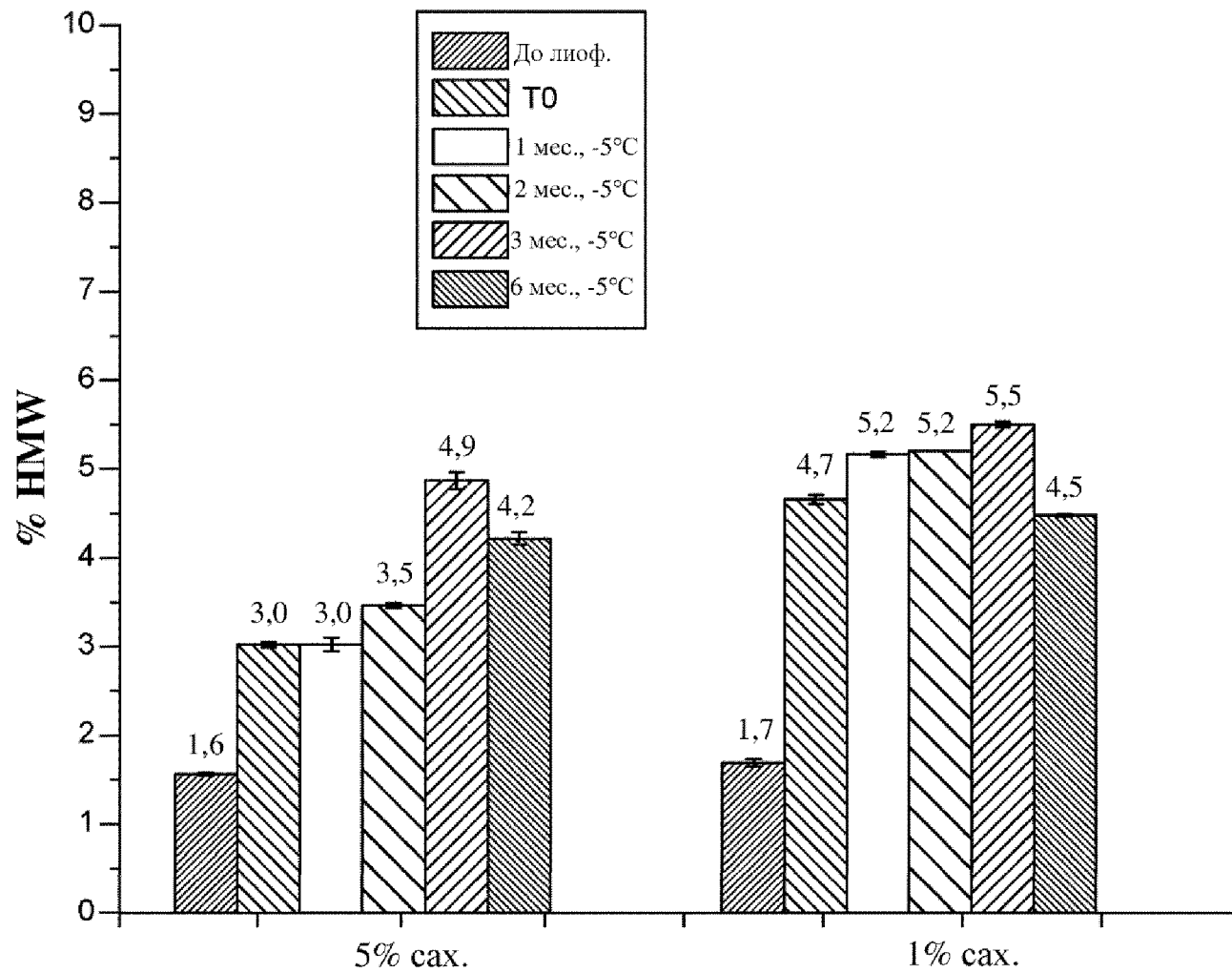
**ФИГ. 7А**



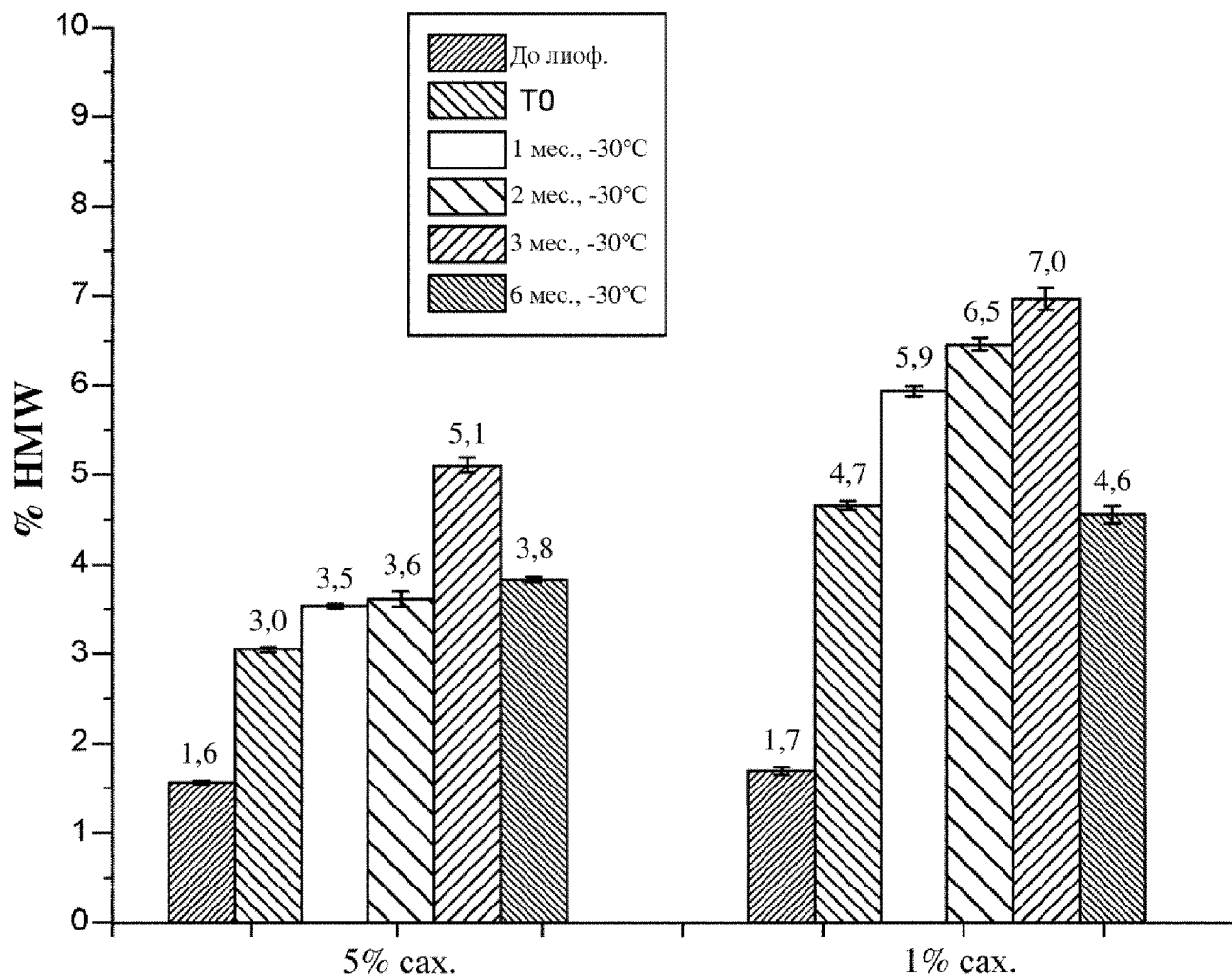
**Частицы размером 25 мкм, P188,  
-80С**



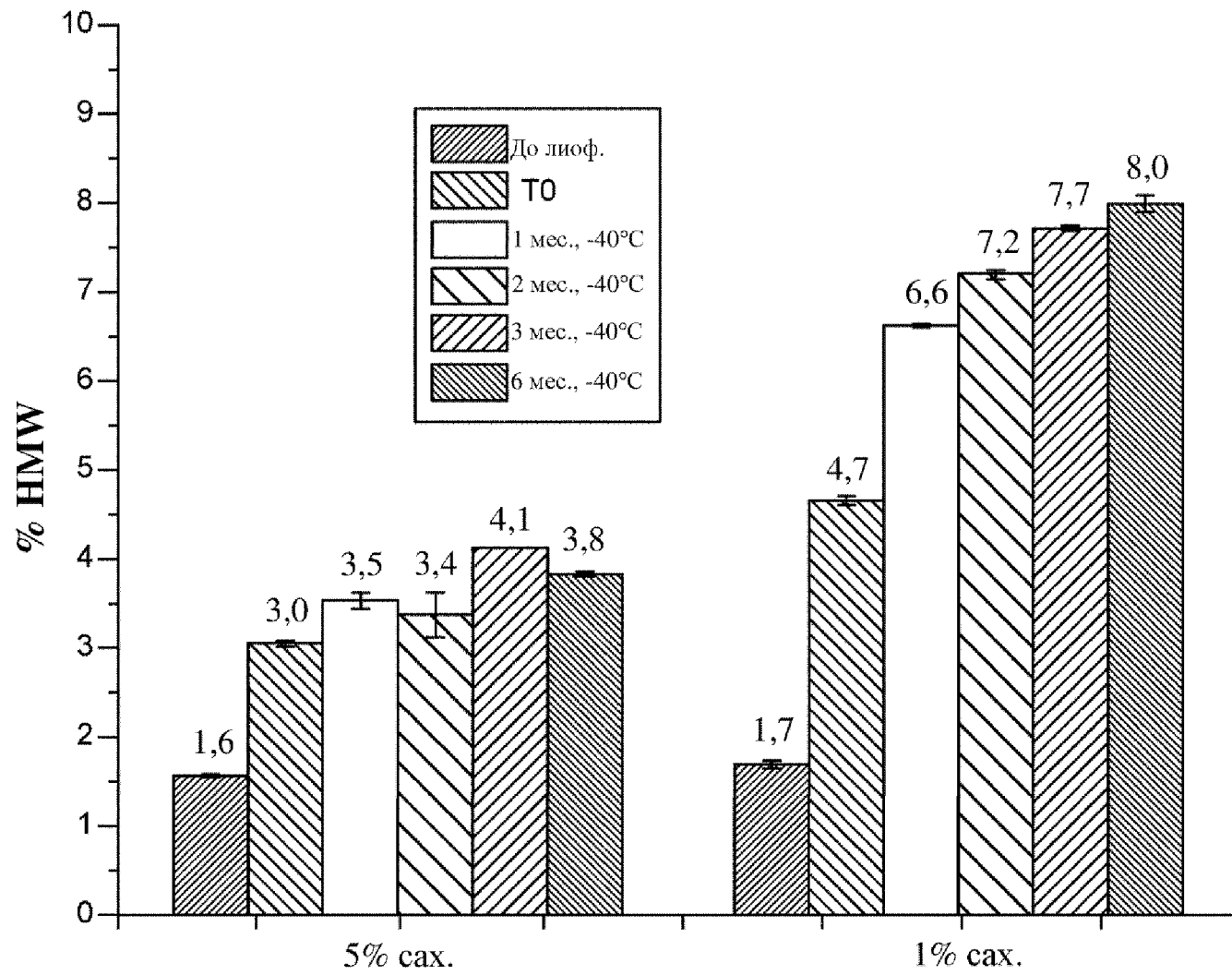
**ФИГ. 7В**



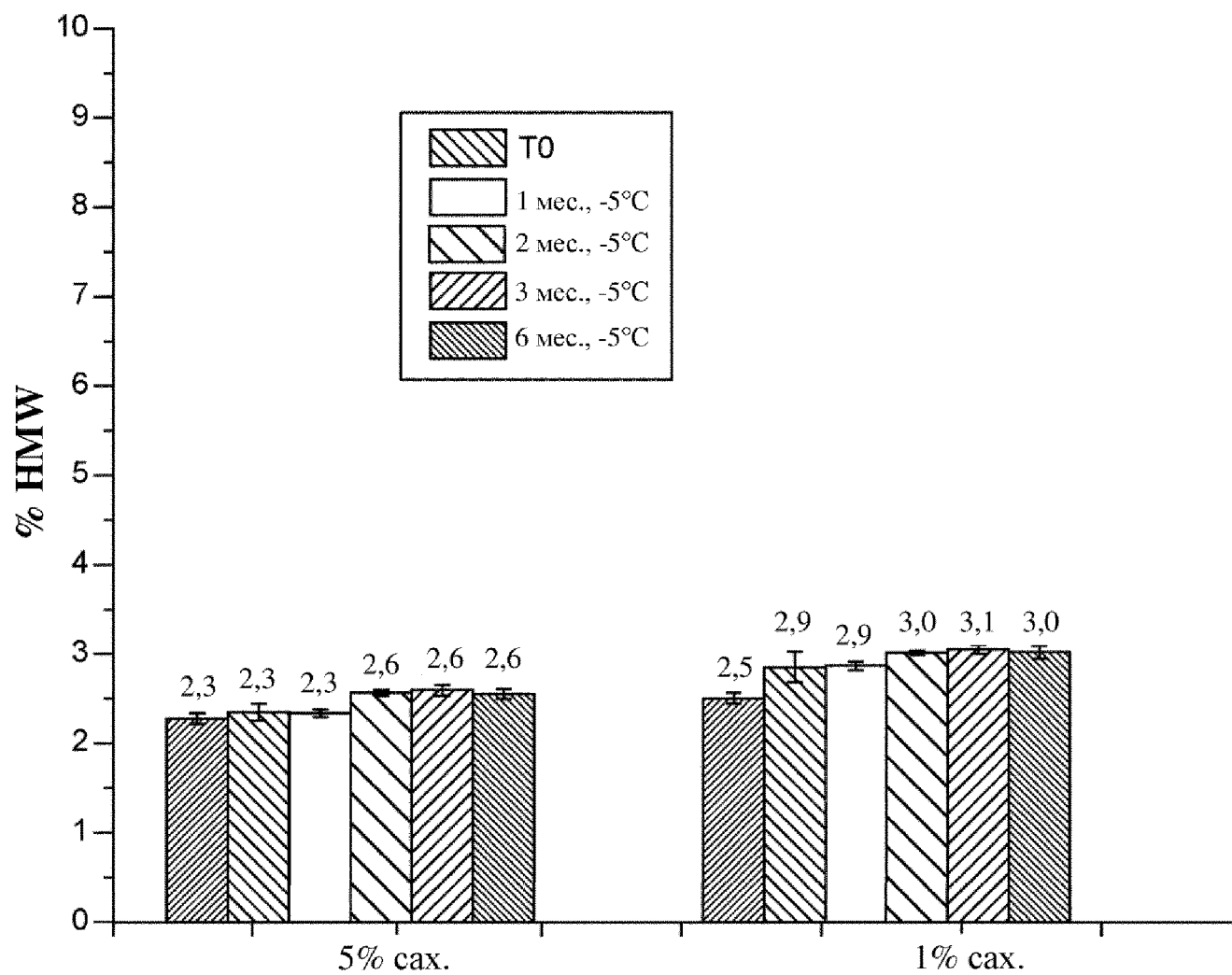
ФИГ. 8А



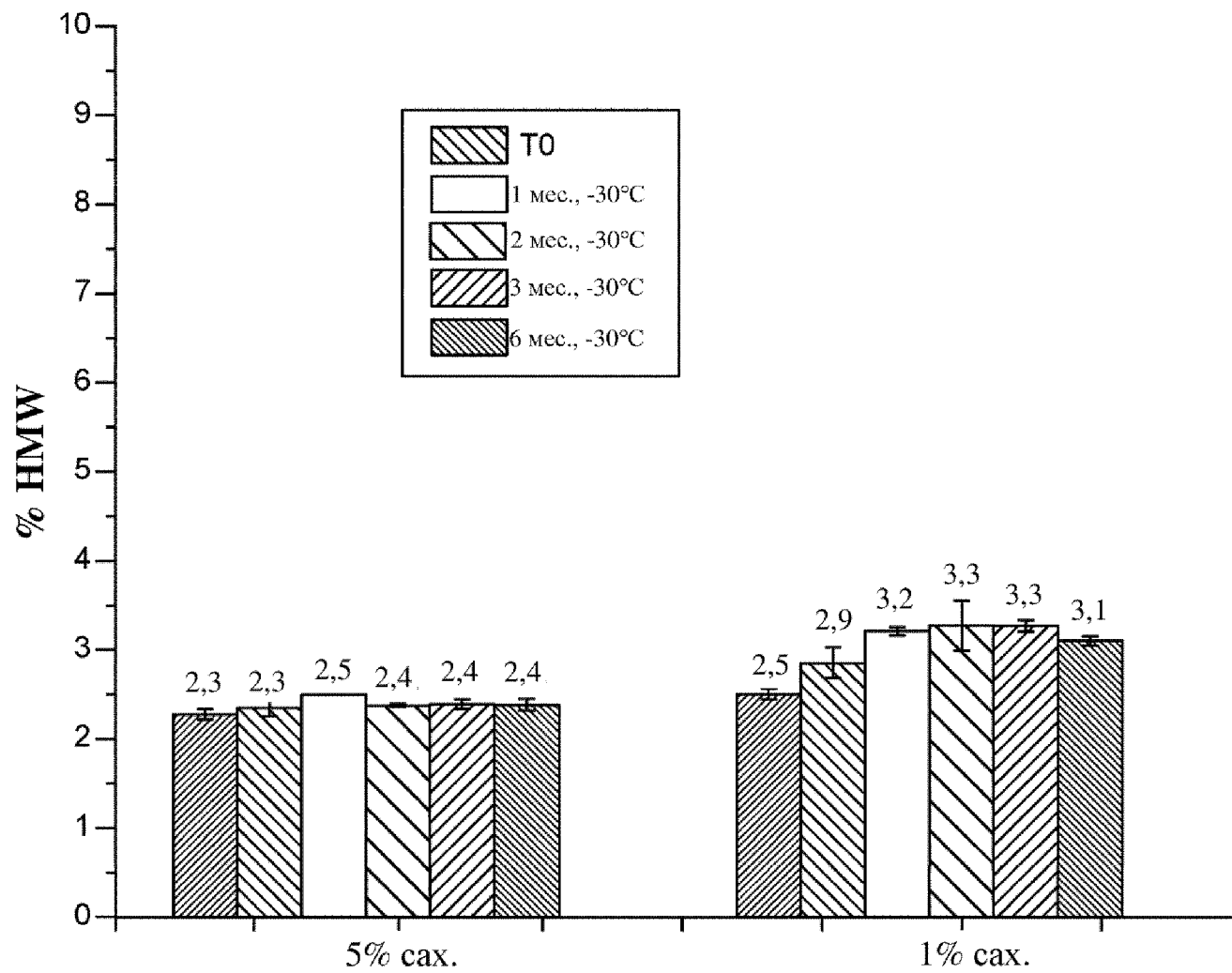
ФИГ. 8В



ФИГ. 8С

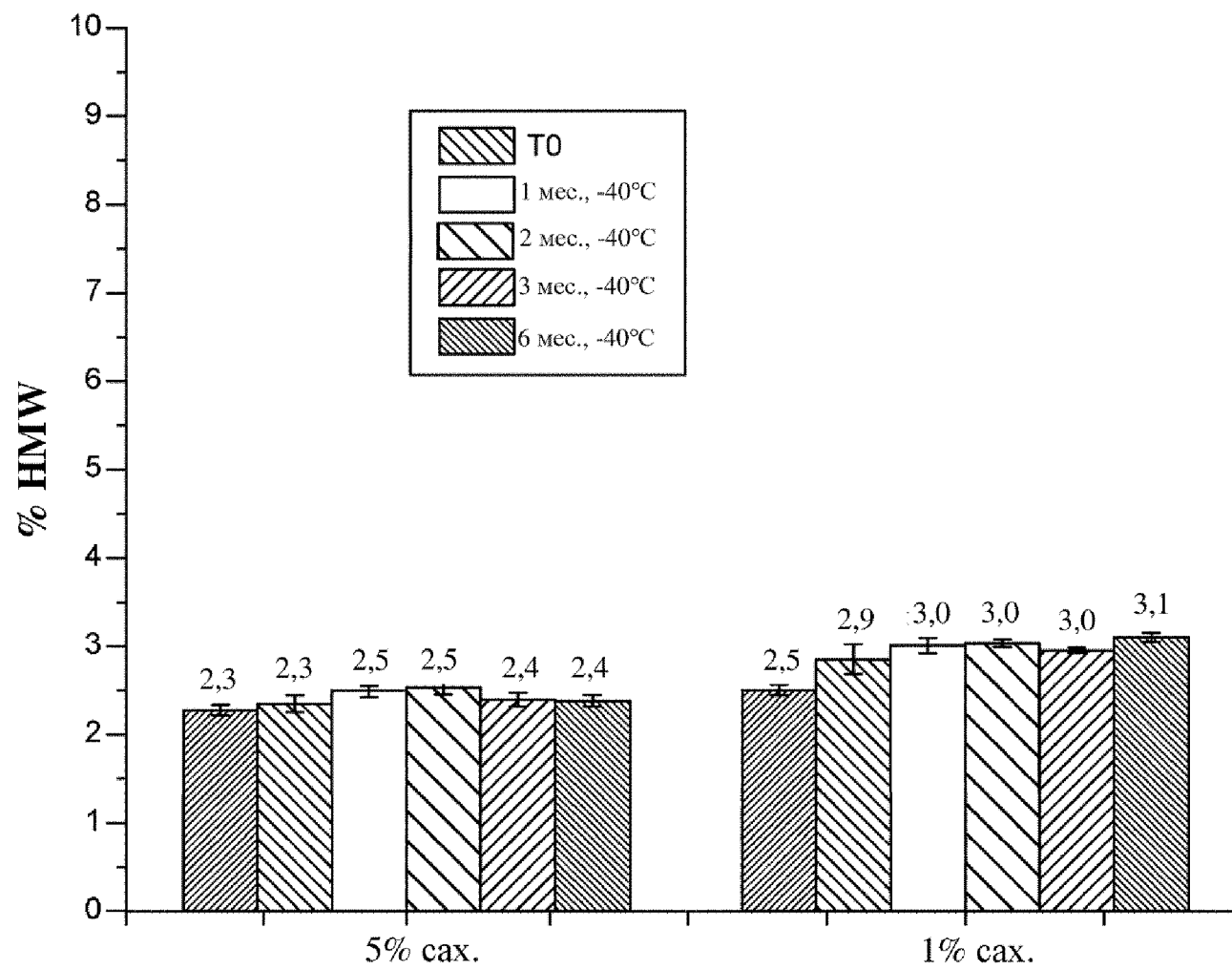


ФИГ. 9А

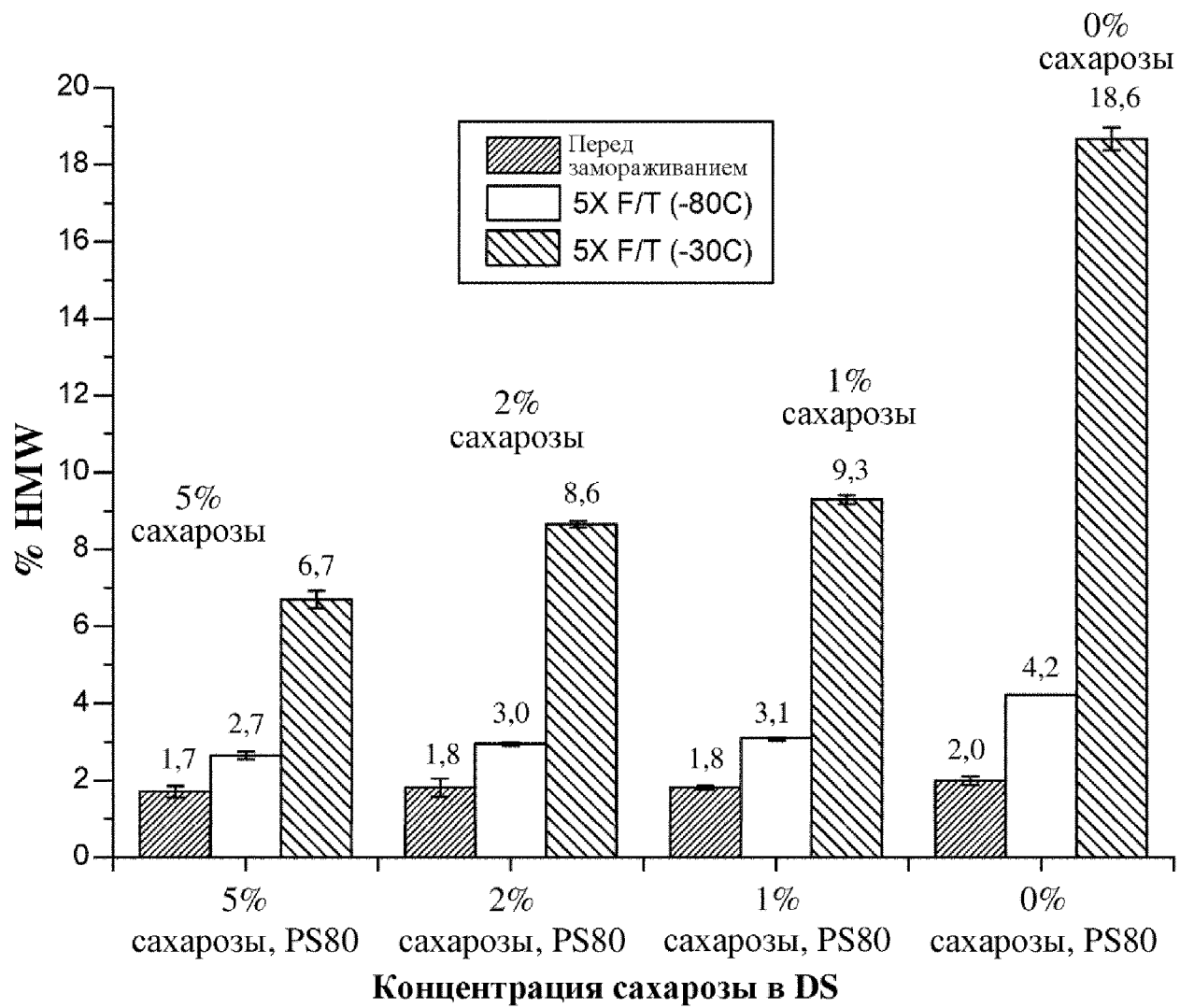


ФИГ. 9В



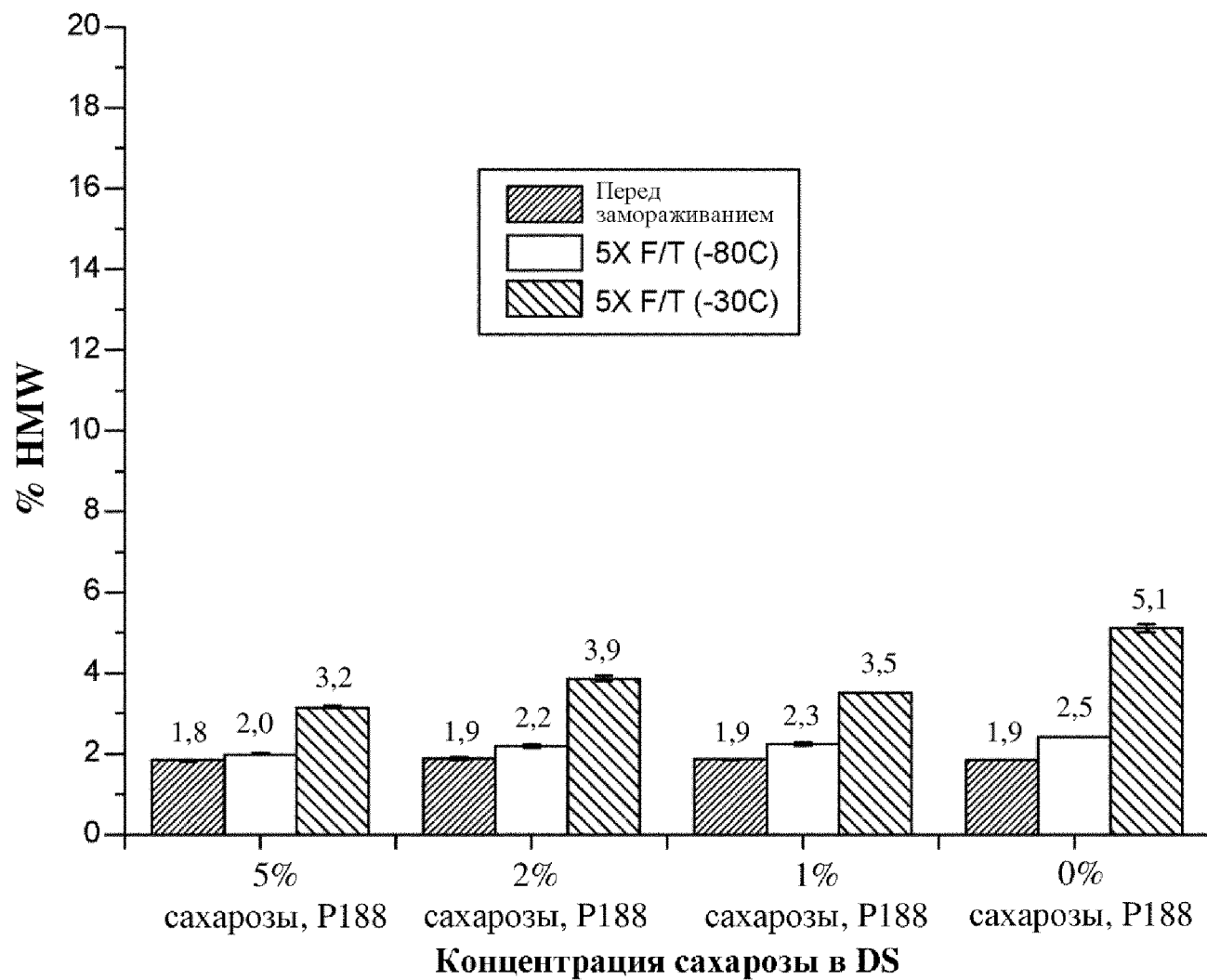


ФИГ. 9С

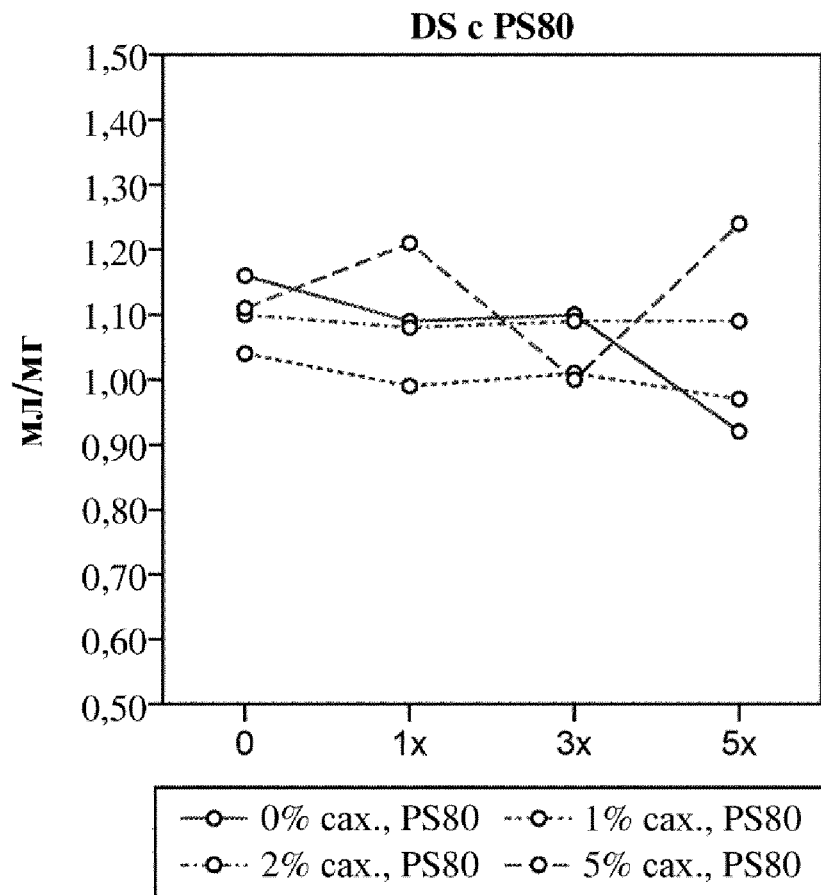


Концентрация сахарозы в DS

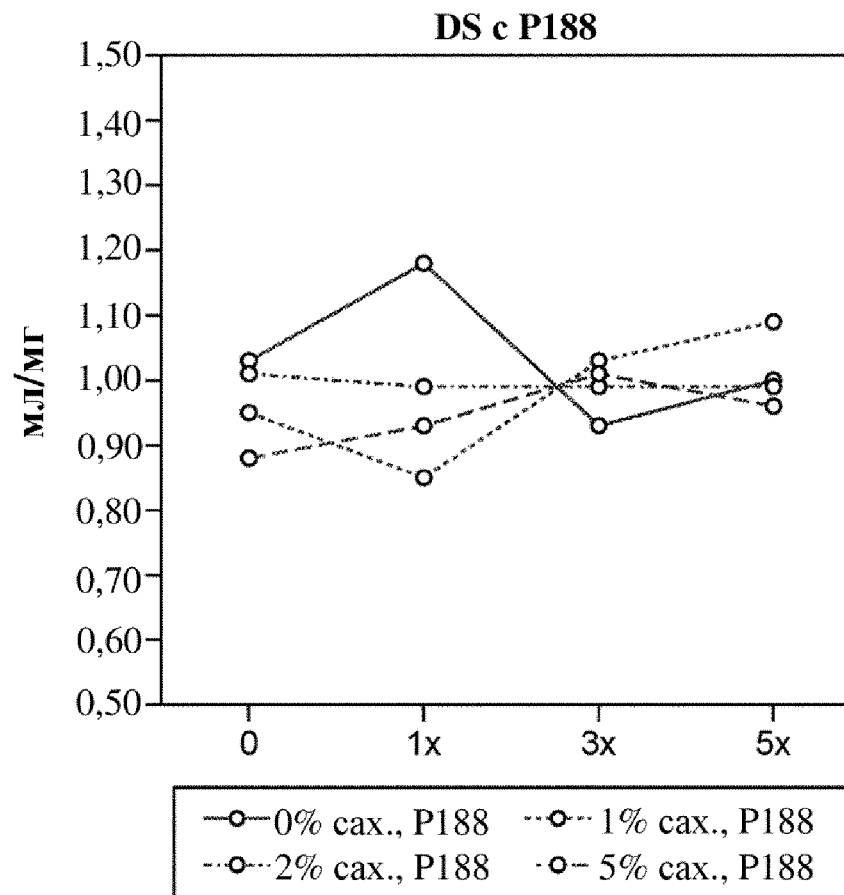
ФИГ. 10



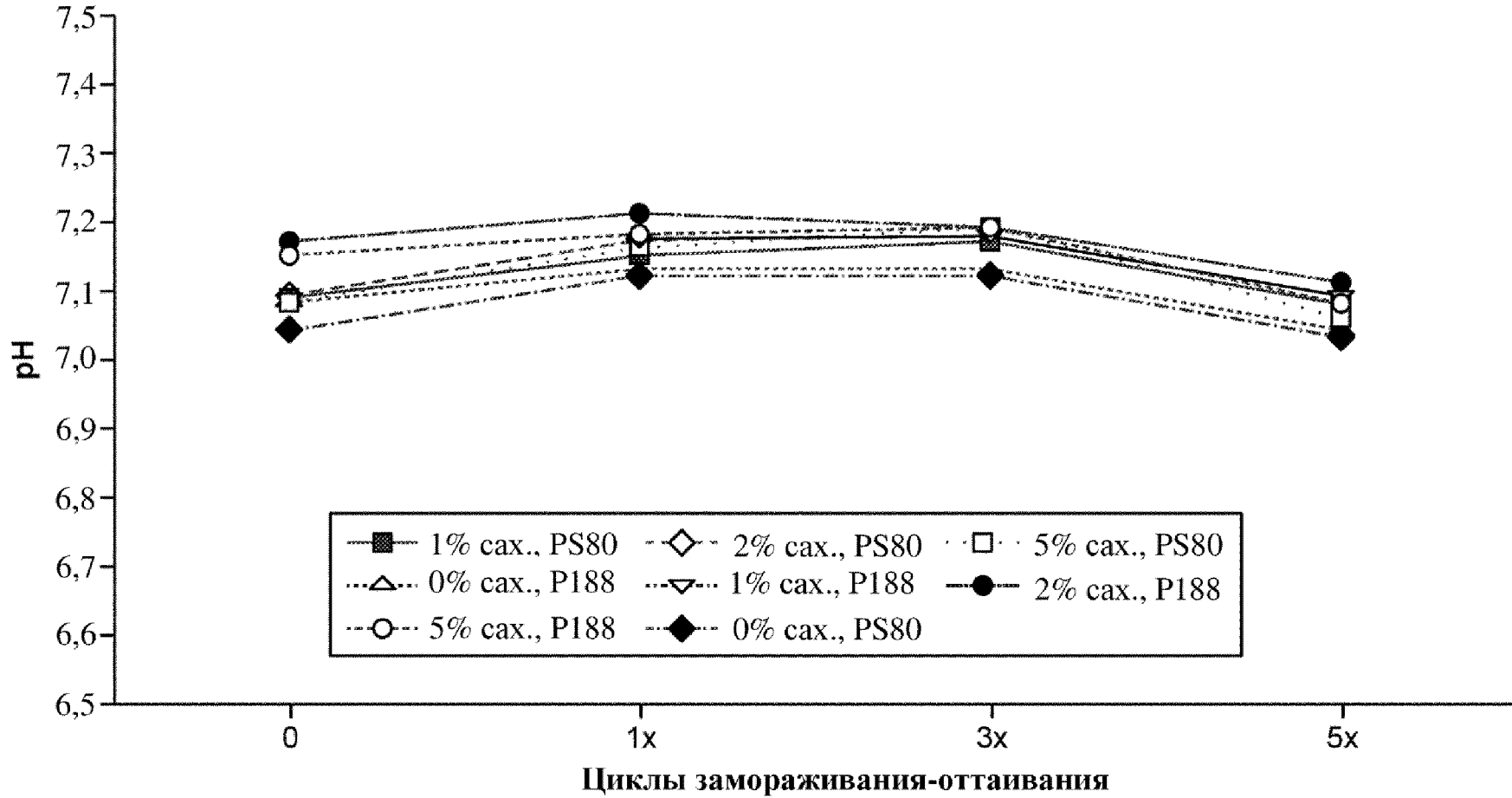
ФИГ. 11



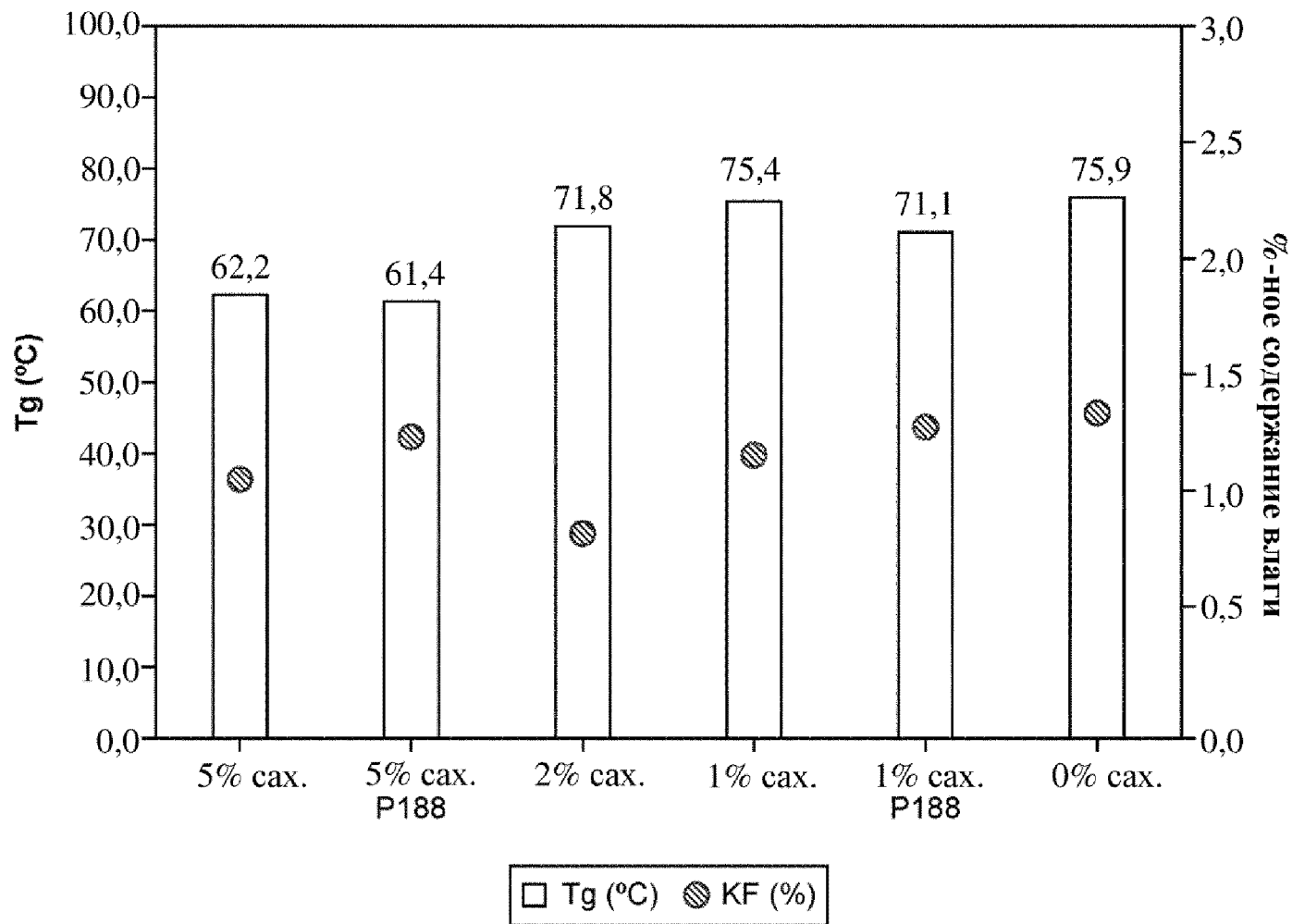
ФИГ. 12А



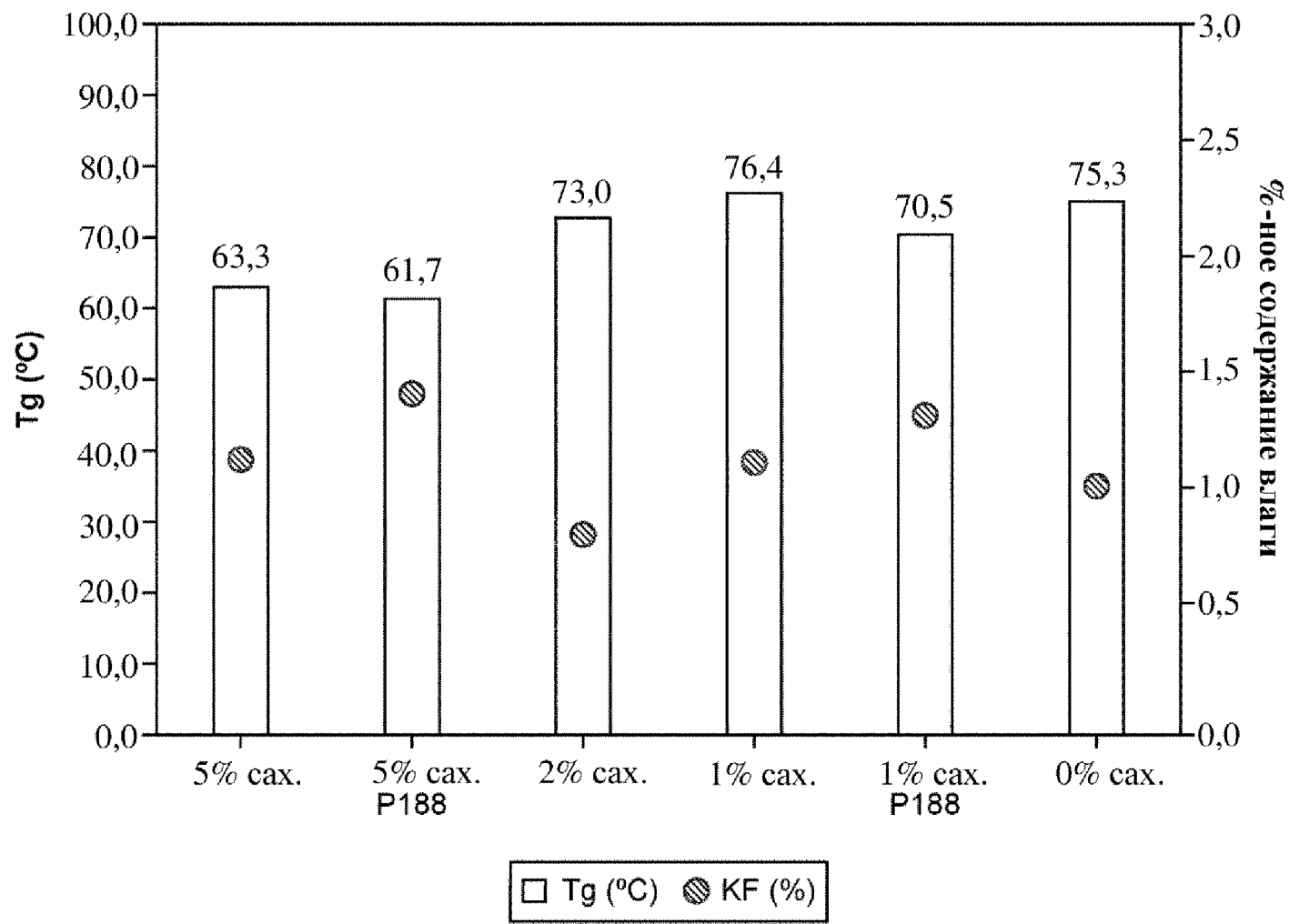
ФИГ. 12В



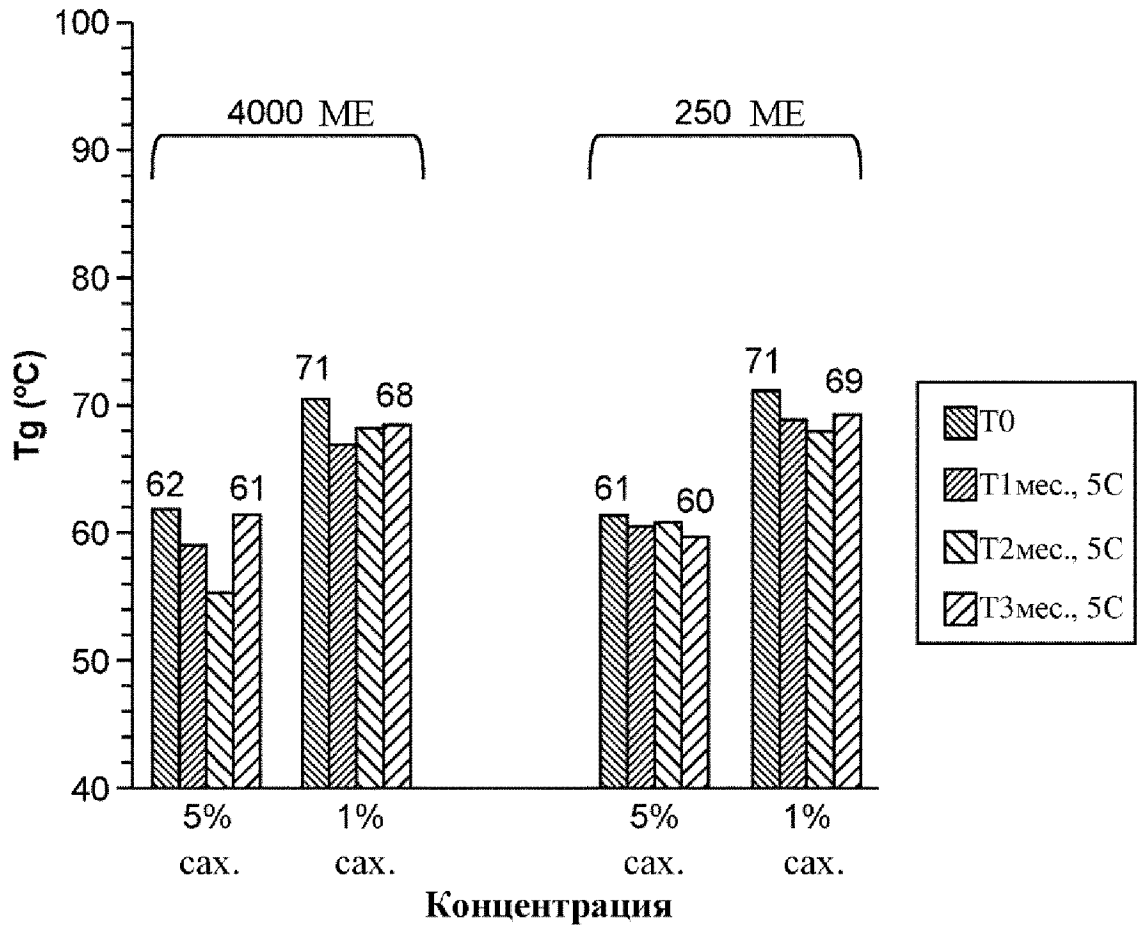
ФИГ. 13



ФИГ. 14

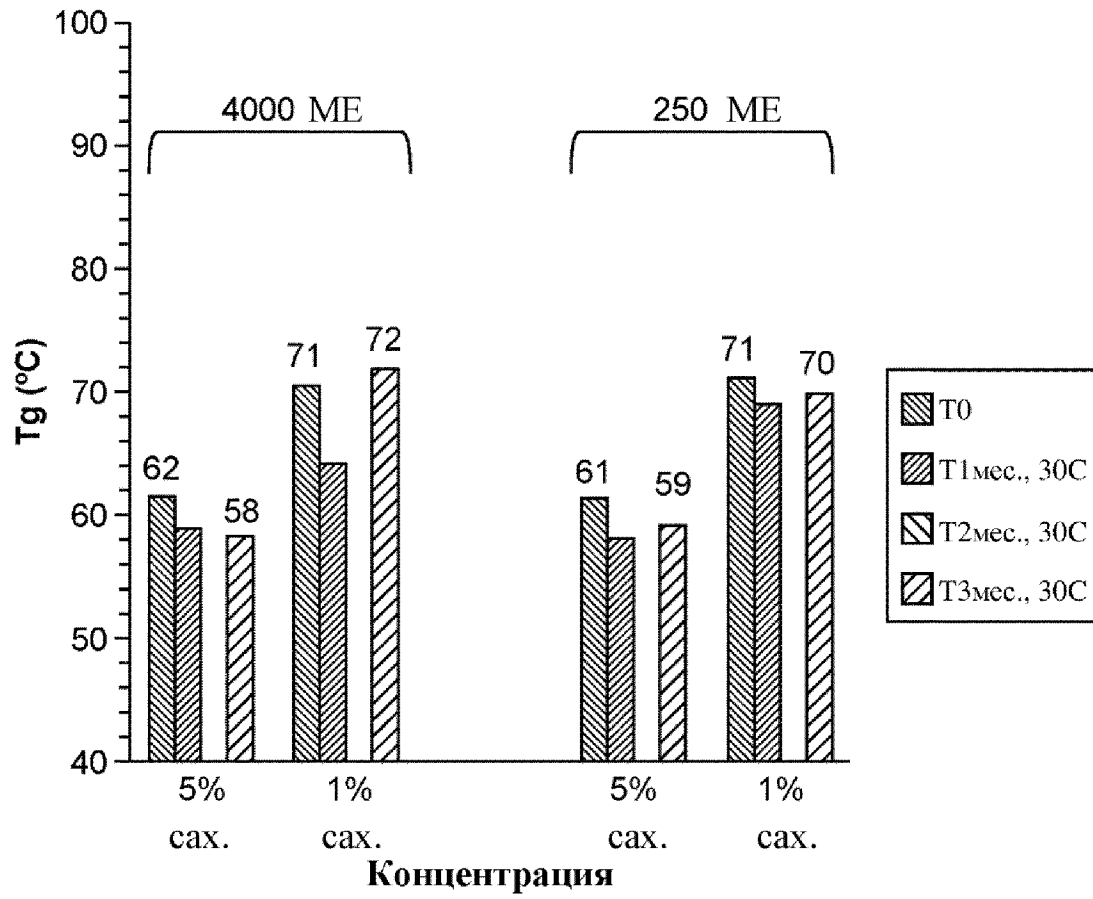


ФИГ. 15

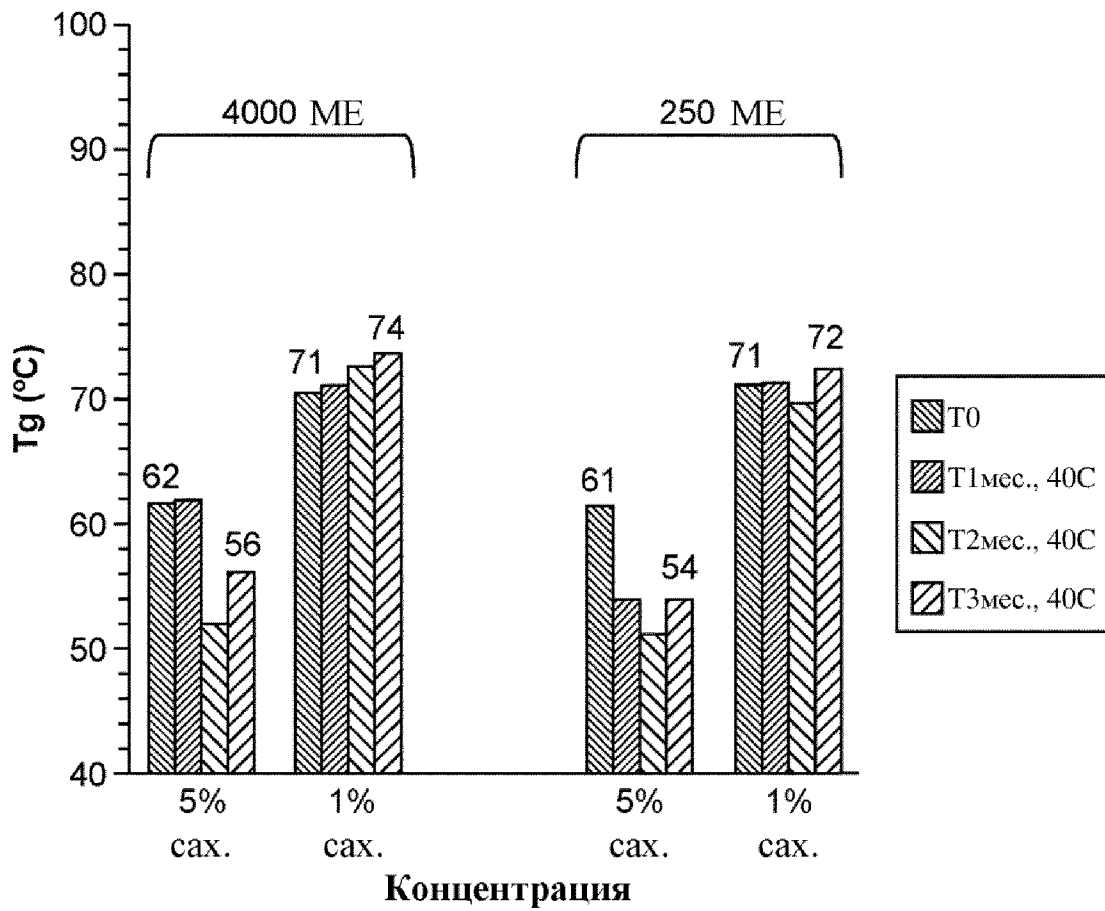


ФИГ. 16А



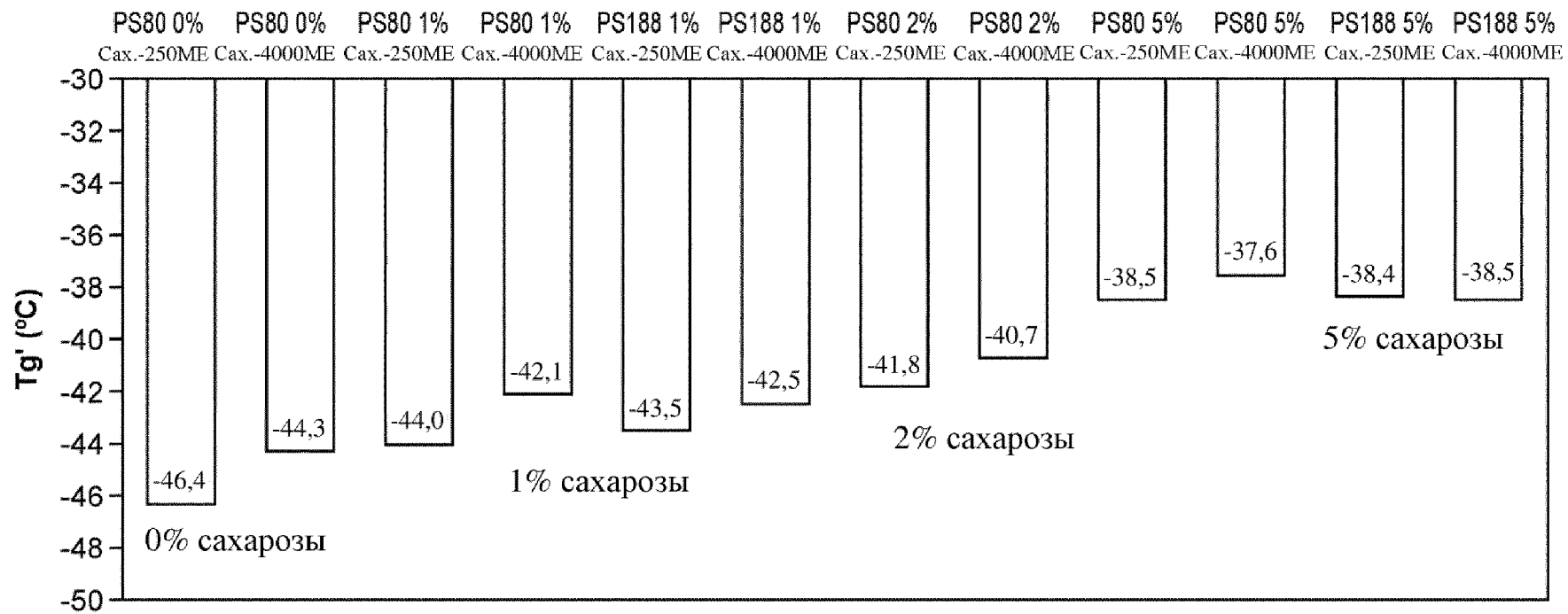


ФИГ. 16В

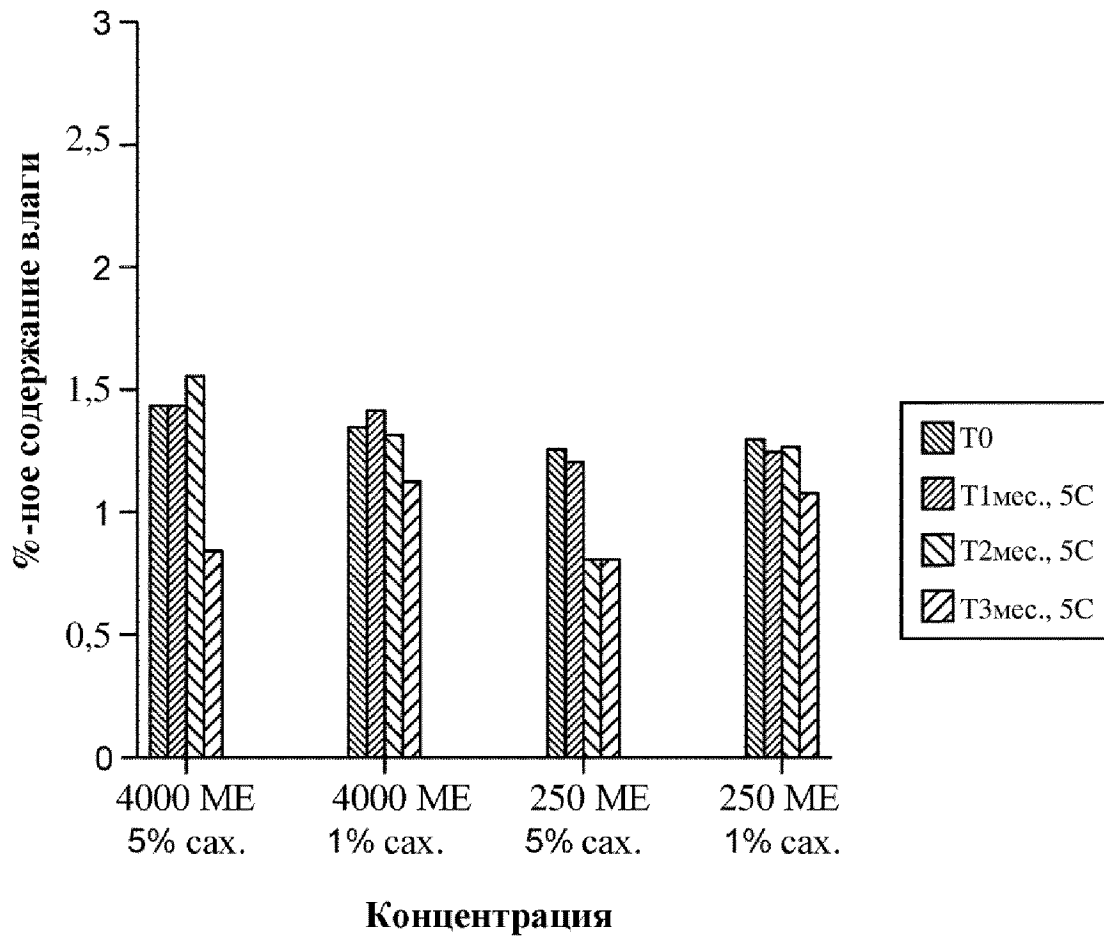


Концентрация

ФИГ. 16С

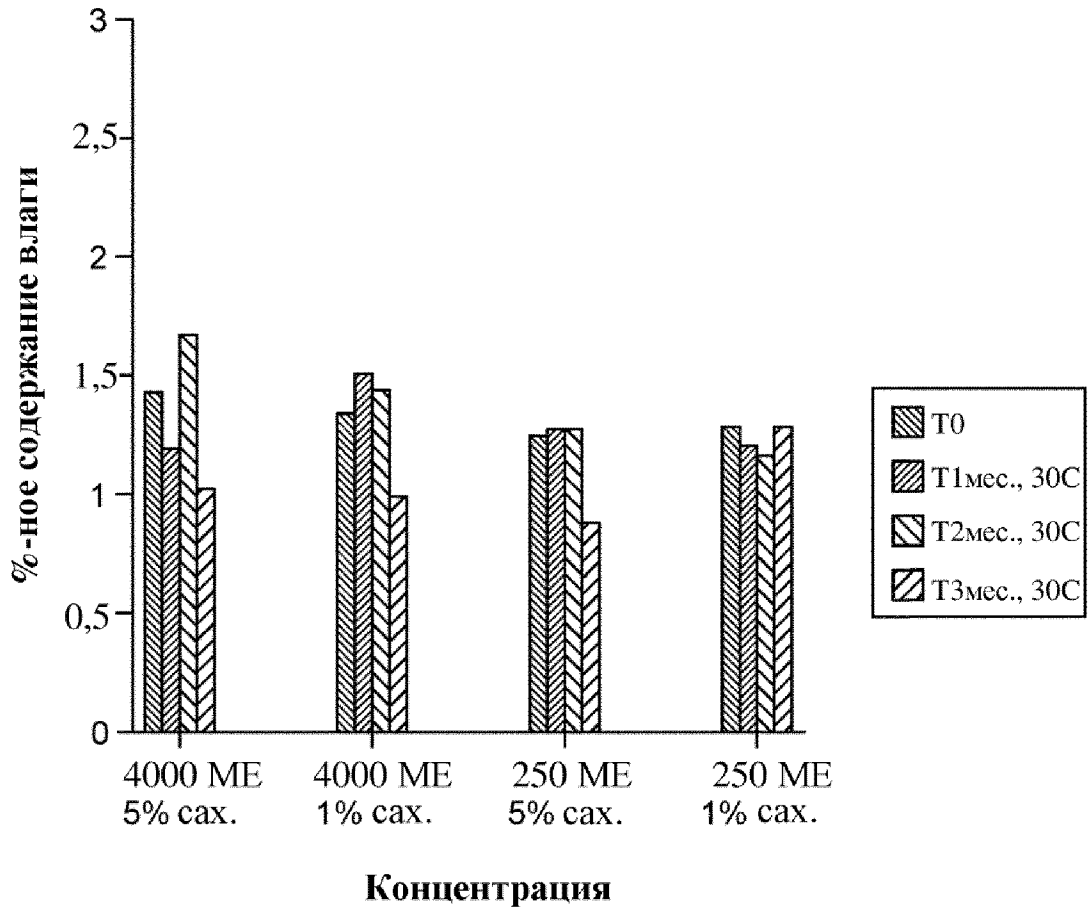


ФИГ. 17

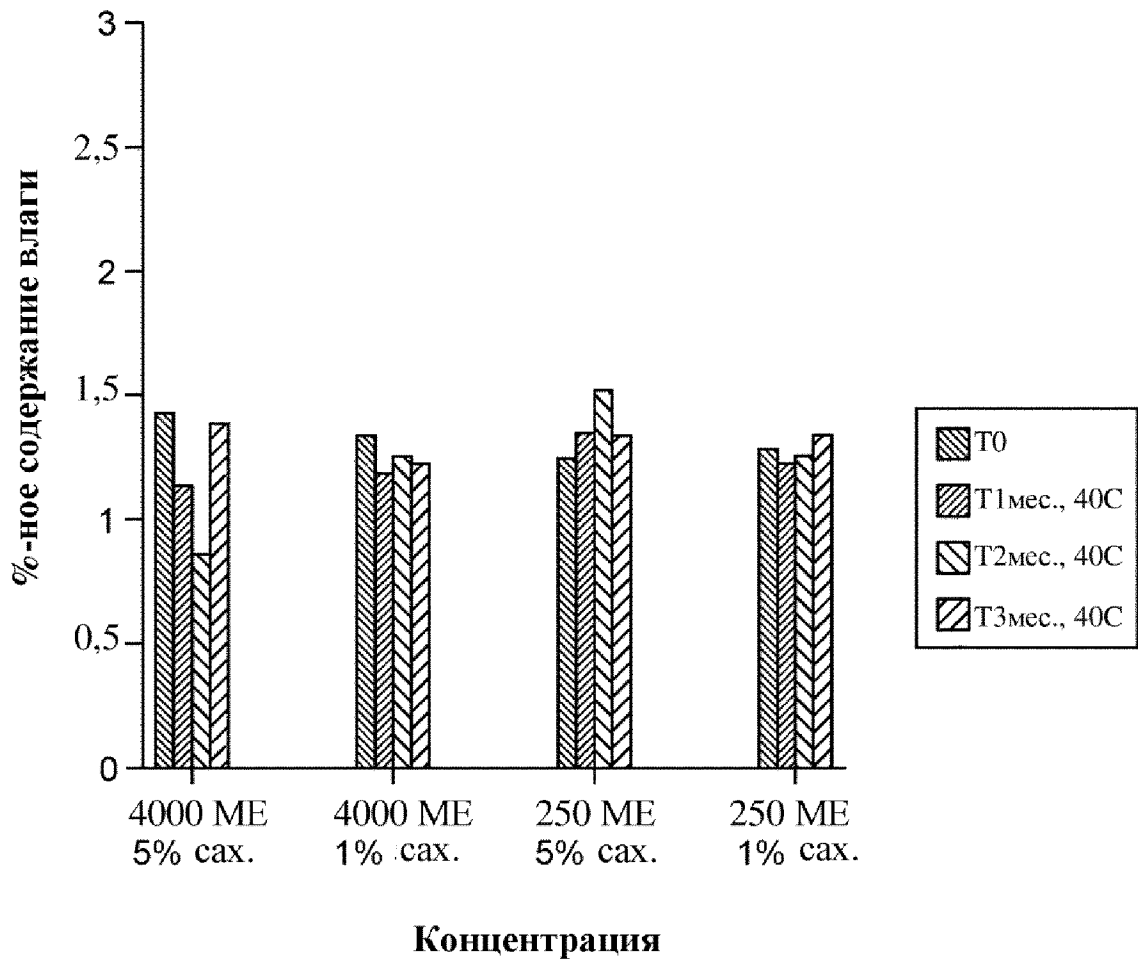


Концентрация

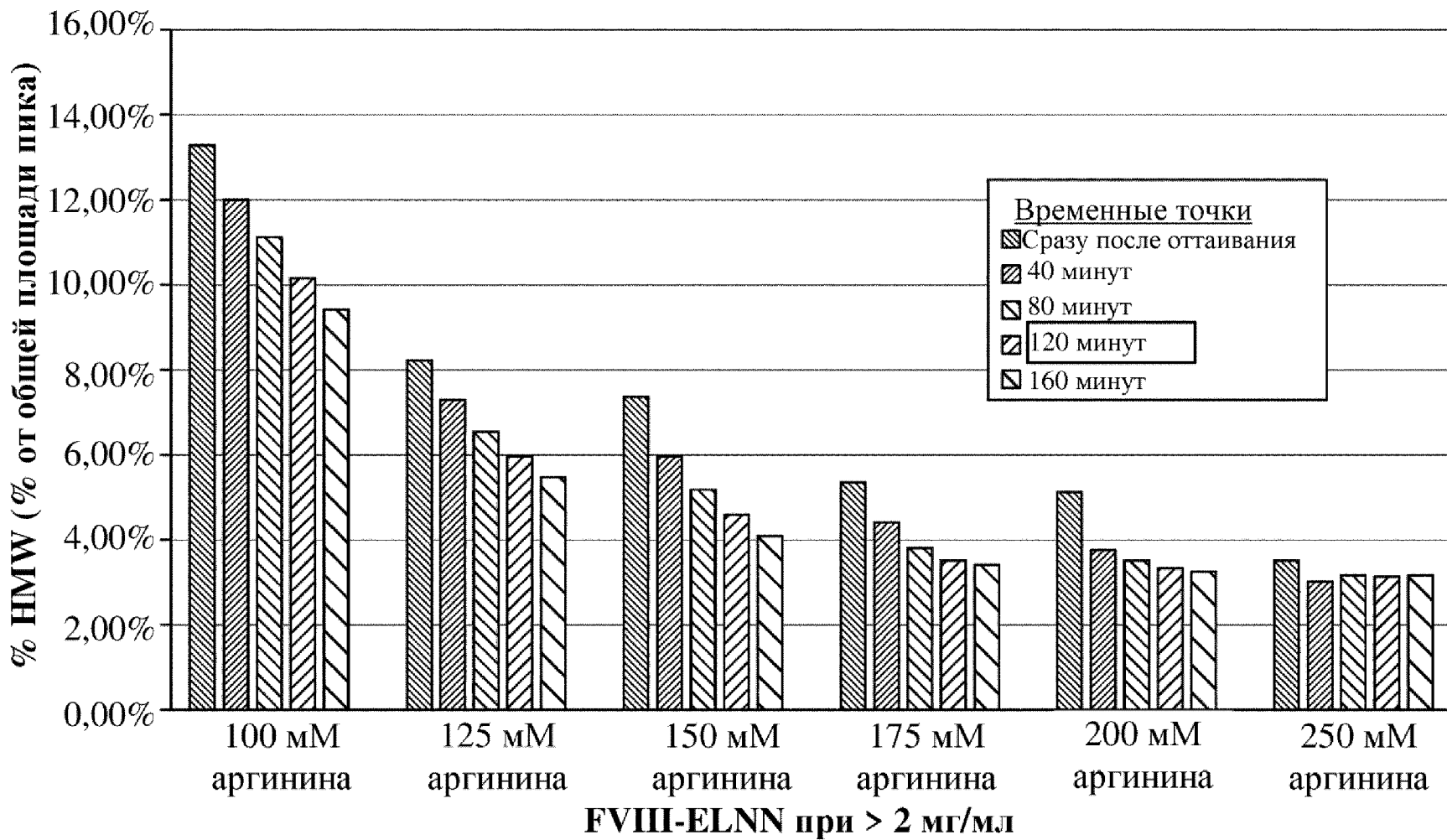
ФИГ. 18А



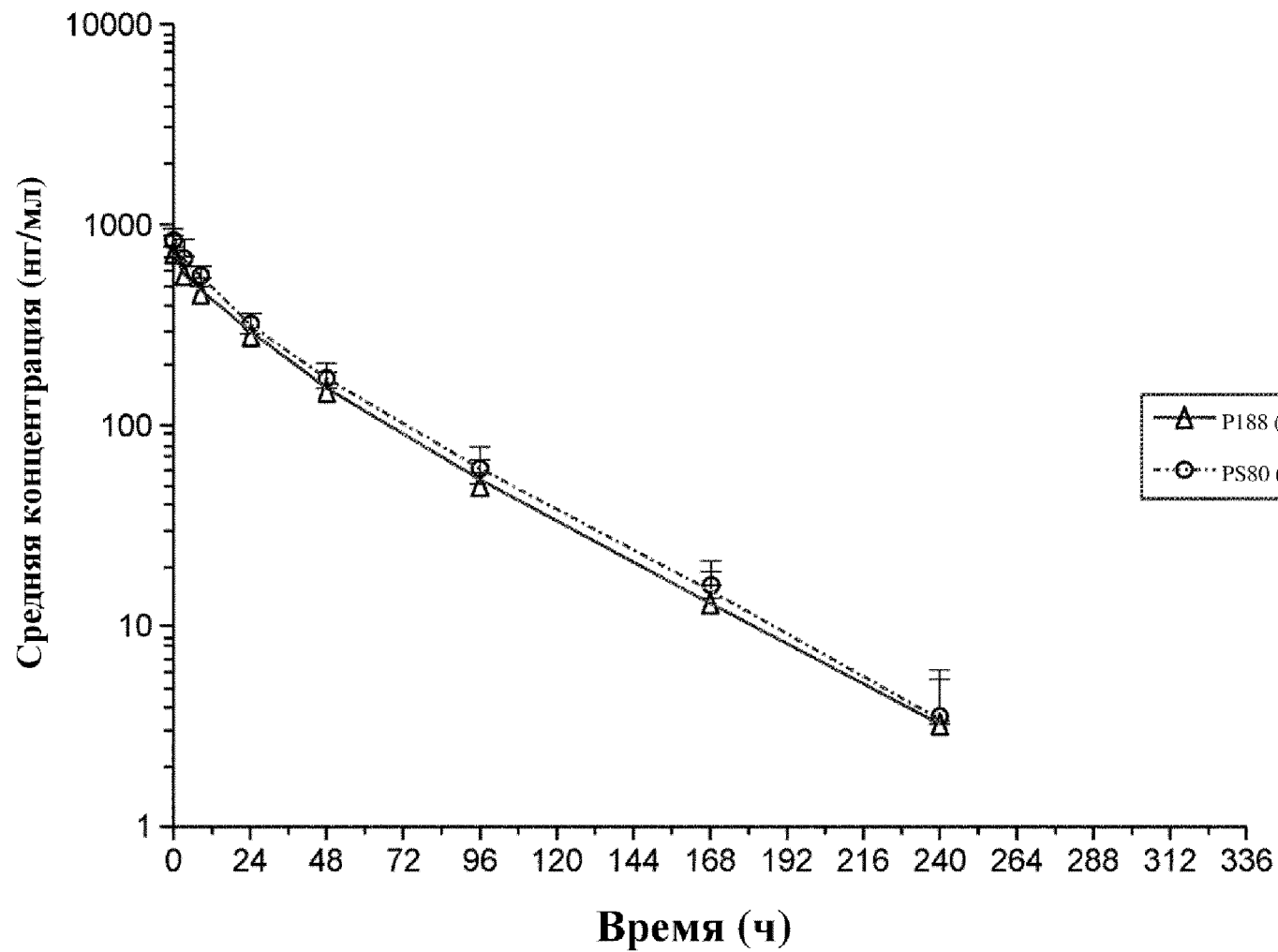
ФИГ. 18В



ФИГ. 18С

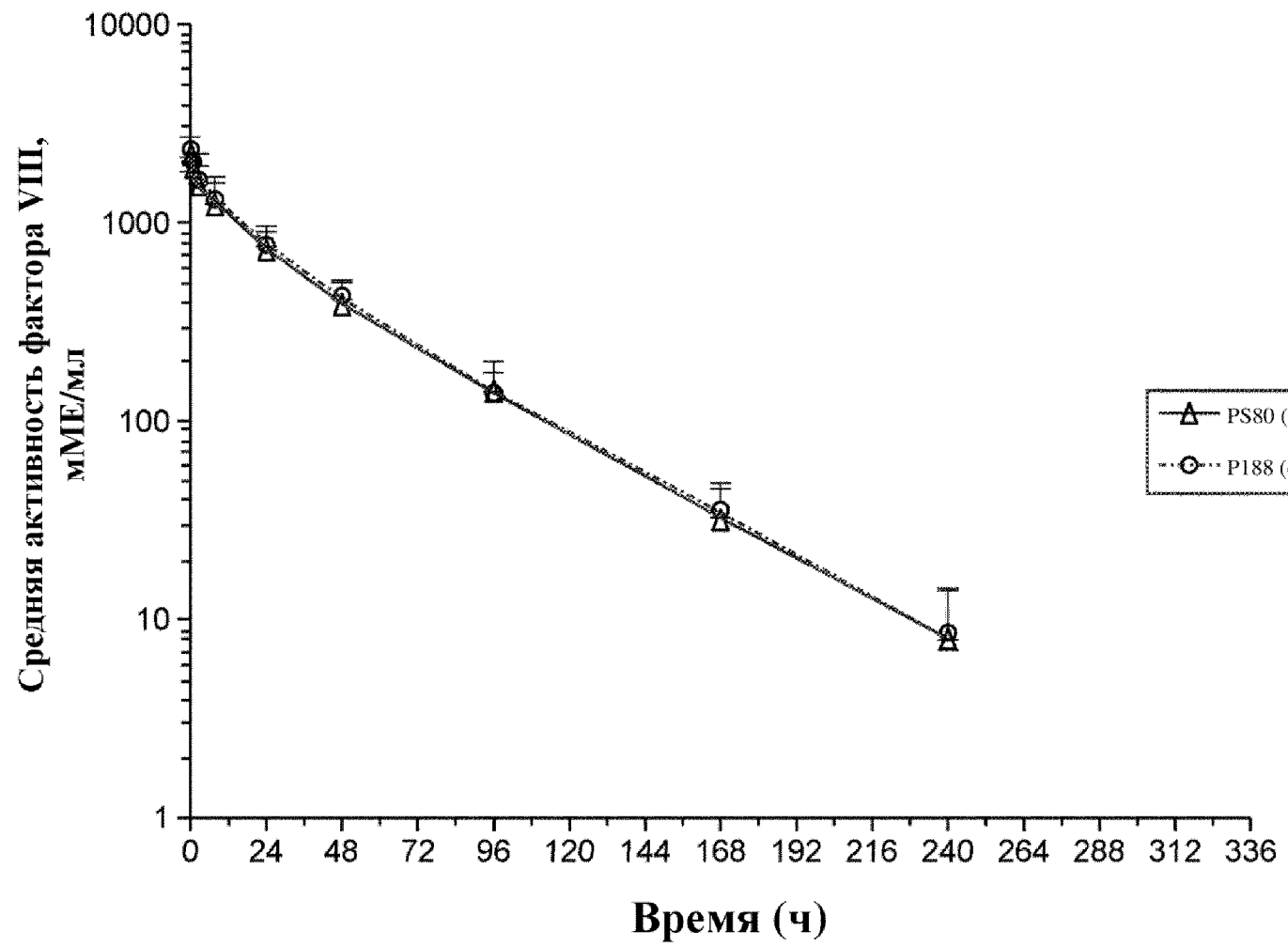


ФИГ. 19



ФИГ. 20





ФИГ. 21