

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 037906

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.06.04

(21) Номер заявки
201591421

(22) Дата подачи заявки
2014.03.14

(51) Int. Cl. A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C12N 9/96 (2006.01)
A61K 38/48 (2006.01)

(54) ПРЕПАРАТЫ ПОЛИПЕПТИДА ФАКТОРА IX

(31) 61/794,874

(32) 2013.03.15

(33) US

(43) 2016.02.29

(86) PCT/US2014/029010

(87) WO 2014/144549 2014.09.18

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БИОВЕРАТИВ ТЕРАПЬЮТИКС
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Брэдер Марк (US)

(74) Представитель:
Строкова О.В. (RU)

(56) US-A1-20070135343
WO-A2-2012006624
US-A1-20110236412

(57) Изобретение обеспечивает препараты, содержащие фактор IX - полипептид, партнер по связыванию FcRn (FIXFBP), и способы введения FIXFBP.

037906 B1

037906 B1

037906

B1

Уровень техники

Изобретение, в целом, относится к области терапевтических средств для нарушений гемостаза.

Гемофилия В (также известная как Рождественская болезнь) является одним из наиболее распространенных в мире наследственных нарушений свертываемости крови. Это приводит к снижению активности свертывания крови *in vivo* и *in vitro* и требует активного медицинского наблюдения на протяжении всей жизни больного индивида. При отсутствии вмешательства пораженный болезнью человек будет страдать от спонтанного кровотечения в суставах, которое причиняет сильную боль и изнурительную неподвижность; кровотечение в мышцах приводит к накоплению крови в этих тканях; если немедленно не лечиться, спонтанные кровотечения в горле и шее могут вызвать удушье; почечное кровотечение; и сильное кровотечение после хирургической операции, незначительных случайных травм или удаления зубов также преобладают.

Нормальное *in vivo* свертывание крови, по меньшей мере, требует сериновых протеаз фактор II (протромбин), VII, IX, X и XI (растворимые белки плазмы); кофакторов, включая тканевый фактор трансмембранный белок и белков плазмы крови факторов V и VIII; фибриногена, фактора XIII трансклутаниназы, фосфолипида (в том числе активированных тромбоцитов) и кальция. Дополнительные белки, включая калликреин, высокомолекулярный кининоген и фактор XII необходимы для некоторых *in vitro* тестов свертываемости крови и могут играть роль *in vivo* при патологических состояниях.

При гемофилии свертывание крови нарушается из-за отсутствия некоторых факторов свертывания крови плазмы крови. Гемофилия В вызывается дефицитом фактора IX который может возникнуть в результате либо снижения синтеза белка фактора IX, либо дефектной молекулы с пониженной активностью. Лечение гемофилии осуществляется путем замещения недостающего фактора свертывания крови на экзогенные концентраты фактора, обогащенные на фактор IX. Тем не менее, создание такого концентрата из крови чревато техническими трудностями, как описано ниже.

Очистка фактора IX из плазмы (полученный из плазмы фактор IX; pdFIX) почти исключительно дает активный фактор IX. Тем не менее, такая очистка фактора IX из плазмы очень сложна, потому что фактор IX присутствует в плазме только в низкой концентрации (5 мкг/мл, Andersson, Thrombosis Research 7: 451 459 (1975)). Кроме того, очистка из крови требует устранения или инактивации инфекционных агентов, таких как ВИЧ и ВГС. Кроме того, pdFIX имеет короткий период полураспада и, следовательно, требует частого приема. Рекомбинантный фактор IX (rFIX) также имеется в распоряжении, но страдает от того же короткого периода полураспада и потребности в частом приеме (например, 2-3 раза в неделю для профилактики) так же, как и pdFIX. rFIX также имеет меньшее постепенное восстановление (значение K) по сравнению с pdFIX, что обуславливает необходимость использования более высоких доз rFIX, чем для pdFIX.

Снижение смертности, предотвращение повреждения суставов и улучшение качества жизни были важными достижениями в связи с разработкой полученного из плазмы и рекомбинантного фактора IX. Длительная защита от кровотечения будет представлять еще одно ключевое достижение в лечении субъектов с гемофилией В. Тем не менее, на сегодняшний день не разработаны продукты, которые предоставляют длительную защиту. Таким образом, из-за дефицита фактора IX остается необходимость в улучшенных способах лечения гемофилии, которые являются более приемлемыми и более эффективным, чем современные терапии.

Сущность изобретения

Изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей: (a) полипептид фактора IX, содержащий фактор IX человека, слитый с партнером по связыванию FcRn (rFIXFBP полипептид), при этом полипептид имеет активность длительного действия фактора IX; (b) смесь углеводов, содержащую сахарозу и маннитол; (c) хлорид натрия (NaCl); (d) L-гистидин; и (e) полисорбат 20 или полисорбат 80. В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 1% (м/о) до около 2% (м/о) сахарозы (например, около 1,2% (м/о) или около 1,7% (м/о) сахарозы) или от около 10 мг/мл до около 20 мг/мл сахарозы (например, около 11,9 мг/мл или около 16,7 мг/мл сахарозы). В другом варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит от около 2% (м/о) до около 4% (м/о) маннитола (например, около 2,4% (м/о) маннитола или около 3,3% (м/о) маннитола), или от около 20 мг/мл до около 40 мг/мл маннитола (например, около 23,8 мг/мл маннитола или около 33,3 мг/мл маннитола). В другом варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит от около 50 мМ до около 60 мМ NaCl (например, около 55,6 мМ NaCl) или от около 3 мг/мл до около 4 мг/мл NaCl (например, около 3,25 мг/мл NaCl). В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит от около 20 мМ до около 40 мМ L-гистидина (например, около 25 мМ L-гистидина или около 35 мМ L-гистидина) или от около 3 мг/мл до около 6 мг/мл L-гистидина (например, около 3,88 мг/мл L-гистидина или около 5,43 мг/мл L-гистидина). В определенных вариантах реализации изобретения, фармацевтическая композиция содержит от около 0,008% (м/о) до около 0,020% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80 (например, около 0,010% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80 или около 0,014 % (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80) или от около 0,08 мг/мл до около 0,2 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80 (например, около 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80 или около 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80).

Фармацевтическая композиция может содержать полипептид rFIXFBP, являющийся rFIXFc полипептидом, содержащим первую субъединицу, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90 или 95% идентичную аминокислотам 1-642 из SEQ ID NO: 2, и вторую субъединицу, которая содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90-100% идентичную аминокислотам 1-227 из SEQ ID NO: 4.

В некоторых аспектах полипептид rFIXFBP с активностью фактора IX присутствует в концентрации от около 25 МЕ/мл до около 1200 МЕ/мл (например, 50, 100, 200, 400 или 600 МЕ/мл полипептида rFIXFBP).

В одном аспекте фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 25 МЕ/мл до около 700 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (b) от около 1% (м/о) до около 2% (м/о) сахарозы; (c) от около 2% (м/о) до около 4% (м/о) маннитола; (d) от около 50 мМ до около 60 мМ NaCl; (e) от около 20 мМ до около 40 мМ L-гистидина; и (f) от около 0,008% (м/о) до около 0,015% полисорбата 20 или полисорбата 80. Например, фармацевтическая композиция может содержать: (a) около 50 МЕ/мл, около 100 МЕ/мл, около 200 МЕ/мл или около 400 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (b) около 1,2% (м/о) сахарозы; (c) около 2,4% (м/о) маннитола; (d) около 55,6 мМ NaCl; (e) около 25 мМ L-гистидина; и (f) около 0,010% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80.

В другом аспекте фармацевтическая композиция содержит: (a) около 600 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (b) около 1,7% (м/о) сахарозы; (c) около 3,3% (м/о) маннитола; (d) около 55,6 мМ NaCl; (e) около 35 мМ L-гистидина; и (f) около 0,014% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80.

В других аспектах фармацевтическая композиция содержит: (a) от около 25 МЕ/мл до около 700 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (b) от около 10 мг/мл до около 20 мг/мл сахарозы; (c) от около 20 мг/мл до около 40 мг/мл маннитола; (d) от около 3 мг/мл до около 4 мг/мл NaCl; (e) от около 3 мг/мл и до около 6 мг/мл L-гистидина; и (f) от около 0,08 мг/мл до около 0,15 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80. Например, фармацевтическая композиция содержит: (a) около 50 МЕ/мл, около 100 МЕ/мл, около 200 МЕ/мл или около 400 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (b) около 11,9 мг/мл сахарозы; (c) около 23,8 мг/мл маннитола; (d) около 3,25 мг/мл NaCl; (e) около 3,88 мг/мл L-гистидина; и (f) около 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80. В некоторых аспектах, фармацевтическая композиция содержит: (a) около 600 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (b) около 16,7 мг/мл сахарозы; (c) около 33,3 мг/мл маннитола; (d) около 3,25 мг/мл NaCl; (e) около 5,43 мг/мл L-гистидина; и (f) около 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

В определенных аспектах изобретение относится к фармацевтическому набору, включающему: (a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит: (i) полипептид rFIXFBP, (ii) сахарозу; (iii) маннитол; (iv) L-гистидин; и (v) полисорбат 20 или полисорбат 80; и (b) второй контейнер, содержащий 0,325% (м/о) NaCl для объединения с лиофилизированным порошком из первого контейнера. В одном варианте реализации изобретения фармацевтический набор содержит: (a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит (i) около 250 МЕ, около 500 МЕ, 1000 МЕ, или около 2000 МЕ полипептида rFIXFBP, (ii) около 59,5 мг сахарозы; (iii) около 119 мг маннитола; (iv) около 19,4 мг L-гистидина; и (v) около 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и (b) второй контейнер, содержащий 0,325% (м/о) NaCl в объеме, достаточном для получения, в сочетании с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего: (i) около 50 МЕ/мл, около 100 МЕ/мл, около 200 МЕ/мл, или около 400 МЕ полипептида rFIXFBP соответственно; (ii) около 1,2% (м/о) сахарозы; (iii) около 2,4% (м/о) маннитола; (iv) около 55,6 мМ NaCl; (v) около 25 мМ L-гистидина; и (vi) около 0,01% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80. В другом варианте реализации изобретения фармацевтический набор содержит: (a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит (i) около 3000 МЕ полипептида rFIXFBP, (ii) около 83,3 мг сахарозы; (iii) около 167 мг маннитола; (iv) около 27,2 мг L-гистидина; и (v) около 0,7 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и (b) второй контейнер, содержащий 0,325% (м/о) NaCl в объеме, достаточном для получения, в сочетании с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего: (i) около 600 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (ii) около 1,7% (м/о) сахарозы; (iii) около 3,3% (м/о) маннитола; (iv) около 55,6 мМ NaCl; (v) около 35 мМ L-гистидина; и (vi) около 0,014% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80.

В некоторых аспектах изобретение относится к способу введения полипептида rFIXFBP субъекту с гемофилией В, который нуждается в профилактике, содержащей внутривенное введение субъекту фармацевтической композиции настоящего изобретения в начальной дозе около 50 МЕ/кг, вводится один раз в неделю или в начальной дозе около 100 МЕ/кг, вводится один раз каждые 10-14 дней, при этом введение предотвращает или снижает частоту кровотечений у субъекта. В других аспектах изобретение относится к способу введения полипептида rFIXFBP субъекту с гемофилией В, нуждающемуся в лечении от малого до умеренного эпизода кровотечения, содержащему внутривенное введение субъекту фармацевтической композиции настоящего изобретения в начальной дозе около 30-60 МЕ/кг, при этом введение останавливает, облегчает или предотвращает эпизод кровотечения. Способ может дополнительно включать введение одной или более дополнительных доз каждые 48 ч, если объект имеет еще одно свидетельство кровотечения. В еще одних аспектах, изобретение относится к способу введения полипептида

гFIXFBP субъекту с гемофилией В, нуждающемуся в лечении крупного эпизода кровотечения, содержащему внутривенное введение субъекту фармацевтической композиции настоящего изобретения в начальной дозе около 100 МЕ/кг, при этом введение останавливает, облегчает или предотвращает эпизод кровотечения. В одном варианте реализации изобретения способ также включает введение дополнительной дозы фармацевтической композиции около 80 МЕ/кг через от около 6 до 10 ч, если эпизод кровотечения продолжается. В другом варианте реализации изобретения способ также включает введение одной или нескольких дополнительных доз фармацевтической композиции по 80 МЕ/кг каждые 24 ч в течение трех дней, если эпизод кровотечения продолжается. В другом варианте реализации изобретения способ также включает введение одной или более дополнительных доз фармацевтической композиции по 80 МЕ/кг каждые 48 ч, пока эпизод кровотечения не остановится.

В других аспектах изобретение включает способ введения полипептида гFIXFBP субъекту с гемофилией В, нуждающемуся в хирургической профилактике, содержащий внутривенное введение переносимому незначительные операции субъекту с гемофилией В фармацевтической композиции настоящего изобретения в дозе около 50-80 МЕ/кг, при этом введение останавливает кровотечение субъекта во время и после хирургической операции. В одном варианте реализации изобретения способ также включает введение дополнительной дозы фармацевтической композиции около 50-80 МЕ/кг в промежутке около 24-48 ч после хирургического вмешательства, если это необходимо, чтобы останавливать послеоперационное кровотечение.

В других аспектах изобретение относится к способу введения полипептида гFIXFBP субъекту с гемофилией В, нуждающемуся в хирургической профилактике, содержащему внутривенное введение переносимому значительные операции субъекту с гемофилией В фармацевтической композиции настоящего изобретения в дозе около 100 МЕ/кг, при этом введение останавливает кровотечение субъекта во время и после хирургической операции. В одном варианте реализации изобретения способ также включает введение дополнительной дозы фармацевтической композиции около 80 МЕ/кг через около 6-10 ч, если это необходимо, чтобы остановить послеоперационное кровотечение. В одном варианте реализации изобретения способ также включает введение одной или более дополнительных доз фармацевтической композиции по 80 МЕ/кг каждые 24 ч в течение трех дней, если это необходимо, чтобы остановить послеоперационное кровотечение. В других вариантах реализации изобретения способ также включает введение одной или более дополнительных доз фармацевтической композиции по 80 МЕ/кг каждые 48 ч, если это необходимо, чтобы остановить послеоперационное кровотечение.

В еще одних аспектах требуемая доза полипептида гFIXFBP может быть получена из одного фармацевтического набора изобретения или из двух, или более фармацевтических наборов изобретения, и при этом содержание двух или более фармацевтических наборов объединяют перед введением.

Подробное описание изобретения

Это изобретение обеспечивается способом лечения дефицита FIX, например гемофилии В, путем введения химерного полипептида гFIXFBP с использованием оптимальных препаратов, оптимальных интервалов дозирования, оптимальных частот дозирования и/или оптимальных фармакокинетических параметров. Также обеспечивается препаратами и фармацевтическими наборами для введения гFIXFBP.

Определения.

В данном описании форма единственного числа может относиться к одному или более объектам; например, выражение "полинуклеотид" стоит понимать, как обозначающее один или более полинуклеотидов. Таким образом, термины, обозначающие форму единственного числа, "один или более" и "по меньшей мере один" могут быть использованы в данном описании взаимозаменяемо.

Кроме того, "и/или", используемые в данном описании, следует рассматривать как конкретное раскрытие каждой из двух указанных особенностей или компонентов с другим или без него. Таким образом, термин "и/или", используемый в фразе, такой как "А и/или В", в данном описании включает "А и В", "А или В", "А" (одно), и "В" (одно). Таким же образом, термин "и/или", используемый в фразе, такой как "А, В и/или В", предназначен для обозначения каждого из следующих аспектов: А, В и В; А, В или В; А или В; А или В; В или В; А и В; А и В; В и В; А (одно); В (одно); и В (одно).

Следует понимать, что, где бы ни были в данном документе описаны аспекты с формулировкой "содержащий", "включающий", иные аналогичные аспекты, описанные в терминах "состоящий из" и/или "состоящий в основном из", также предусмотрены.

Если не указано иное, технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, как обычно понимается специалистом в данной 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, обеспечивают любому специалисту с общим словарем многие термины, используемые в данном описании.

Единицы, префиксы и символы обозначены в их общепринятой форме Международной системы единиц (СИ). Числовые диапазоны представлены с учетом чисел, определяющих диапазон. Если не указано иное, аминокислотные последовательности написаны слева направо в направлении от аминогруппы к карбоксильной группе. Представленные в данном документе заголовки не являются ограничениями

различных аспектов настоящего изобретения, которые могут быть со ссылками на описание в целом. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более подробно определяются ссылкой на описание во всей своей полноте.

Термин "около" в данном описании означает приблизительно, примерно, ориентировочно, или в районах. Когда термин "около" используется в сочетании с численным диапазоном, он модифицирует этот диапазон, расширяя границы выше и ниже изложенных числовых значений. В целом, термин "около" может изменить числовое значение выше и ниже указанного значения с помощью дисперсии, например 10%, вверх или вниз (выше или ниже).

Термин "полипептид", "пептид" и "белок" используются взаимозаменяемо и относятся к полимерному соединению, состоящему из ковалентно связанных аминокислотных остатков.

Термин "полинуклеотид" и "нуклеиновая кислота" используются взаимозаменяемо и относятся к полимерному соединению, состоящему из ковалентно связанных нуклеотидных остатков. Полинуклеотиды могут быть ДНК, кДНК, РНК, одноцепочечными или двухцепочечными, векторами, плазмидами, фагами или вирусами.

Термин "введение" в данном описании означает, например, предписывать или давать субъекту фармацевтическую композицию, содержащую полипептид gFIXFBP длительного действия. Примеры путей введения включают, но не ограничиваются ими, внутривенные, например внутривенные инъекции и внутривенные инфузии, например, через центральный венозный доступ. Дополнительные способы введения включают подкожное, внутримышечное, пероральное, назальное и легочное введение. Фармацевтическая композиция, содержащая полипептид gFIXFBP длительного действия, может включать один или более вспомогательных веществ, как описано в данном документе. Преимущества способов, композиций и фармацевтических наборов, представленных в данном документе, включают: улучшение ситуации с соблюдением режима; уменьшение прорыва кровотечений; повышение защиты от кровотечений суставов; предотвращение повреждения суставов; снижение заболеваемости; снижение смертности; продолжительную защиту от кровотечения; снижения тромбообразования; и улучшение качества жизни.

Термины "gFIXFBP" или "полипептид gFIXFBP" в данном описании относятся к рекомбинантному слитому белку, содержащему фактор свертывания крови IX (FIX) человека, и партнеру по связыванию FcRn (gFIXFBP). Партнер по связыванию FcRn (FcRn binding partner - "FBP") содержит партнеров по связыванию с функциональным неонатальным рецептором Fc (FcRn), если не указано иное. Партнер по связыванию FcRn является любой молекулой, которая может быть специфически связанной с рецептором FcRn с последующим активным транспортом с помощью рецептора FcRn связывающего партнера FcRn. Таким образом, термин FcRn BP включает любые варианты IgG Fc, которые являются функциональными. Например, регион части Fc IgG, который связывается с рецептором FcRn, был описан на основании рентгеновской кристаллографии (Burmeister et al., 1994, Nature 372:379, включено в данном документе в качестве ссылки во всей ее полноте). Основная площадь контакта Fc с FcRn располагается возле места соединения доменов CH2 и CH3. Контакты Fc-FcRn находятся в пределах одной тяжелой цепи Ig. Партнеры по связыванию FcRn включают весь IgG, фрагмент Fc IgG и другие фрагменты IgG, которые включают полный связывающий регион FcRn. Основные контактные участки включают аминокислотные остатки 248, 250-257, 272, 285, 288, 290-291, 308-311 и 314 домена CH2 и аминокислотные остатки 385-387, 428 и 433-436 домена CH3. Приведенные ссылки аминокислотной нумерации иммуноглобулинов или фрагментов иммуноглобулинов, или регионов, все основаны на Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Public Health, Bethesda, MD, включенной в данном документе в качестве ссылки во всей ее полноте. (Рецептор FcRn был выделен из нескольких видов млекопитающих, включая человека. Последовательности FcRn человека, FcRn крысы и FcRn мыши известны (Story et al., 1994, J. Exp. Med. 180: 2377), включены в данном документе в качестве ссылки во всей ее полноте.) Партнер по связыванию FcRn может содержать CH2 и CH3 домены иммуноглобулина с шарнирным регионом или без шарнирного региона иммуноглобулина. Примерные варианты партнеров по связыванию FcRn представлены в WO 2004/101740 и WO 2006/074199, включены в данном документе в качестве ссылки во всей ее полноте.

В одном варианте реализации изобретения gFIXBP является gFIXFc, рекомбинантным слитым белком, содержащим человеческий фактор IX коагуляции крови (FIX) человека и домен антитела человека (изотип IgG1). См., например, заявку PCT № PCT/US2011/043569, поданную 11 июля 2011 года и опубликованную как WO 2012/006624, которая включена в данном документе в качестве ссылки во всей ее полноте. Полипептид gFIXFc является гетеродимерным белком с одноцепочечным FIXFc (FIXFc-sc) и одноцепочечным Fc (Fc-sc) связанными друг с другом через две дисульфидные связи в шарнирном регионе Fc. Белку gFIXFc необходимо две белковые субъединицы, FIXFc-sc (642 аминокислоты, SEQ ID NO: 2) и Fc-sc (227 аминокислот, SEQ ID NO: 4), чтобы собраться в трансфицированной линии клеток с образованием конечного белкового продукта, gFIXFc. Полинуклеотидные последовательности, кодирующие FIXFc-sc и Fc-sc, представлены как SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 3 соответственно.

Часть gFIXFc фактора IX имеет первичную аминокислотную последовательность, идентичную аллельной форме Thr148 фактора IX, полученного из плазмы, и имеет структурные и функциональные характеристики, аналогичные эндогенному фактору IX.

Домен Fc rFIXFc содержит шарнир, регионы CH2 и CH3 IgG1. Зрелая форма собранного гетеродимера rFIXFc содержит 869 аминокислот с молекулярной массой около 98 кДа.

rFIXFBR производится с помощью технологии рекомбинантной ДНК в линии человеческих эмбриональных клеток почек (НЕК). Линия клеток экспрессирует rFIXFBR в определенной клеточной культуральной среде, которая не содержит каких-либо белков, полученных из источников животного или человека. rFIXFBR очищается с помощью ряда хроматографических этапов, которые не требуют использования моноклонального антитела. Процесс включает несколько этапов элиминации вирусов, в том числе 15 нм нанофильтрацию вирусов. Добавки человеческого или животного происхождения не используются в клеточной культуре, очистке и технологии приготовления препарата.

Термины "длительного действия" и "длительный" используются в данном описании взаимозаменяемо. В одном варианте реализации изобретения термин "длительного действия" и "длительный" указывает на то, что активность FIX в результате введения полипептида rFIXFBR длится дольше, чем активность FIX дикого типа (например, BENEFIX® или полученный из плазмы FIX ("pdFIX")). "Длительная" активность FIX может быть измерена с помощью любых известных в данной области техники способов, например АЧТВ тестом, хромогенным анализом, ROTEM, TGA и т.д. В одном варианте реализации изобретения "длительная" активность FIX может быть показана с помощью $T_{1/2\beta\text{ста}}$ (активность). В другом варианте реализации изобретения "длительная" активность FIX может быть оценена по уровню активности антигена FIX в плазме крови, например, с помощью $T_{1/2\beta\text{ста}}$ (антиген).

Активность коагулянта фактора IX выражается через Международную(ые) Единицу(ы) (МЕ). Одна МЕ активности фактора IX примерно соответствует количеству фактора IX в одном миллилитре нормальной плазмы человека. Несколько тестов доступны для измерения фактора IX активности, в том числе одноэтапный анализ коагулирующей активности (активированное частичное тромбопластиновое время; аЧТВ), время тромбинообразования (TGA) и ротационная тромбоэластометрия (ROTEM®).

Термин "лиофилизат" в данном документе в связи с формулировкой и в соответствии с изобретением обозначает препарат, который изготовлен посредством способов лиофилизации известных в данной области техники как таковой. Растворитель (например, вода) удаляется при замораживании с последующим высушиванием в вакууме и десорбцией остаточной воды при повышенной температуре. В фармацевтической области лиофилизат имеет, как правило, остаточную влагу около 0,1-5% (м/м) и присутствует в виде порошка или физически стабильного пористого вещества. Лиофилизат характеризуется быстрым растворением после добавления растворяющей среды.

Термин "восстановленный препарат" в данном описании обозначает препарат, который лиофилизирован и повторно растворен с добавлением растворителя. Растворитель может содержать, без ограничения, воду для инъекций (WFI), бактериостатическую воду для инъекций (BWFI), хлорид натрия (например, 0,9% (м/о) NaCl), раствор глюкозы (например, 5% глюкоза), растворы, содержащие поверхностно-активное вещество (например, 0,01% полисорбата 20 или полисорбата 80), pH буферный раствор (например, буферные растворы фосфата) и их комбинации.

Термин "интервал дозирования" в данном описании означает количество времени, которое проходит между неоднократными дозами введения субъекту. Интервал дозирования таким образом может быть указан как диапазоны. Интервал дозирования для полипептида rFIXFBR в способах, представленных в данном документе, может быть по меньшей мере около одного и от одного с половиной до восьми раз дольше, чем интервал дозирования необходимый для эквивалентного количества (в МЕ/кг) фактора IX дикого типа.

Термин "частота дозирования" в данном описании относится к частоте введения доз полипептида rFIXFBR в течение установленного срока. Частота дозирования может быть указана как количество доз, введенных в течение установленного срока, например один раз в неделю или раз в две недели.

Термины "профилактика одного или более эпизодов кровотечения" или "профилактическое лечение" в данном описании обозначает введение полипептида rFIXFBR в регулярных, многократных дозах субъекту в течение времени, чтобы повысить уровень активности фактора IX в плазме крови субъекта, тем самым предотвращая возникновение эпизодов кровотечений. В одном варианте реализации изобретения "профилактика одного или более эпизодов кровотечения" указывает на использование полипептида rFIXFBR, чтобы предотвратить или ингибировать возникновение одного или более спонтанных, или неконтролируемых кровотечений или эпизодов кровотечений, или снизить частоту одного или более спонтанных, или неконтролируемых кровотечений или эпизодов кровотечения. В другом варианте реализации изобретения повышение уровня активности FIX является достаточным, чтобы снизить частоту спонтанных кровотечений или предотвратить кровотечение в случае непредвиденного повреждения. Профилактическое лечение уменьшает или предотвращает эпизоды кровотечения, например, те, что описаны в лечении при необходимости. Профилактическое лечение может быть индивидуализировано, как обсуждалось в разделе "интервал дозирования", например, чтобы компенсировать вариабельность между субъектами.

Термин "около раза в неделю" в данном описании указывается приблизительно и может включать каждые семь дней $\pm$ два дня, т.е. каждые пять-девять дней. Частота дозирования "около раза в неделю",

таким образом, может быть каждые пять дней, каждые шесть дней, каждые семь дней, каждые восемь дней или каждые девять дней.

Термины "индивидуализированный интервал профилактики" или "индивидуальная профилактика", или "адаптированная профилактика" в данном описании обозначают использование полипептида rFIXFBR для индивидуального интервала дозирования или частого повторения для предотвращения или ингибирования возникновения одного или более спонтанного и/или неконтролируемого кровотечения или эпизодов кровотечений, или чтобы снизить частоту одного или более спонтанного и/или неконтролируемого кровотечения или эпизодов кровотечений. В одном варианте реализации изобретения "индивидуализированный интервал" включает каждые 10 дней ± 3 дня, т.е. каждые 7-13 дней. Частота дозирования в "индивидуализированном интервале профилактики", таким образом, может быть каждые 7 дней, каждые 8 дней, каждые 9 дней, каждые 10 дней, каждые 11 дней, каждые 12 дней или каждые 13 дней.

Термин "лечение при необходимости" в данном описании означает лечение, предназначенное для прохождения в течение короткого курса времени и в ответ на существующие условия, такие как эпизод кровотечения, или воспринимается как краткосрочная необходимость, например, когда планируется операция. Термин "лечение при необходимости" используется как взаимозаменяемое с "эпизодическим" лечением. Условия, которые могут потребовать лечения при необходимости включают эпизод кровотечения, гемартроз, кровотечение мышц, кровотечение полости рта, кровоизлияние, кровоизлияние в мышцы, оральное кровоизлияние, травмы, травмы волосистой части головы, желудочно-кишечное кровотечение, внутричерепное кровоизлияние, внутрибрюшное кровоизлияние, кровоизлияние в грудной клетке, перелом кости, кровотечение центральной нервной системы, кровотечение в заглоточном пространстве, кровотечения в забрюшинном пространстве, или кровотечение в подвздошно-поясничной оболочке. Эпизоды кровотечения, отличающиеся от перечисленных, также включены. Субъект может нуждаться в хирургической профилактике, периоперационном управлении, или в лечении для хирургического вмешательства. Такие операции включают небольшую хирургическую операцию, большую хирургическую операцию, удаление зуба, миндалин, другие стоматологические/торако-лицевые операции, паховую герниотомию, синовэктомию, полную замену коленного сустава, замену другого сустава, трепанацию черепа, остеосинтез, травматологическую хирургию, внутричерепную хирургию, внутрибрюшную хирургию, внутригрудную хирургию. Операции, отличающиеся от перечисленных, также включены.

Дополнительные условия, которые может потребовать лечение, при необходимости включают незначительное кровоизлияние, гемартроз, поверхностное кровоизлияние в мышцах, кровоизлияние мышц мягких тканей, умеренное кровоизлияние, межмышечное кровоизлияние или кровоизлияние мягких тканей с рассечением, кровоизлияние слизистой мембраны, гематурию, сильное кровоизлияние, кровоизлияние глотки, кровоизлияние в заглоточном пространстве, кровоизлияние в забрюшинном пространстве, кровоизлияние в центральной нервной системе, ушибы, порезы, ссадины, кровоизлияние суставов, носовое кровотечение, ротовое кровотечение, кровотечение из десен, внутричерепное кровотечение, внутрибрюшинное кровотечение, незначительное спонтанное кровоизлияние, кровотечение после обширной травмы, умеренные кровоподтеки кожи, или спонтанное кровоизлияние в суставы, мышцы, внутренние органы или мозг. Дополнительные причины для лечения при необходимости включают необходимость периоперационного управления для хирургии или удаления зубов, серьезной операции, обширной челюстно-лицевой хирургии, урологической хирургии, хирургии грыжи, ортопедической хирургии, такой как замена колена, бедра, или другого крупного сустава.

Термин "лечение" или "лечить" в данном описании обозначает улучшение или уменьшение одного или более симптомов болезни или нарушения свертываемости крови, включая, но не ограничиваясь этим, гемофилию В. В одном варианте реализации изобретения термин "лечение" или "лечить" болезнь или нарушения свертываемости крови включает предотвращение одного или более симптомов болезни или нарушения свертываемости крови. В болезни или нарушении свертываемости крови, вызванных дефицитом FIX (например, низкой базовой активностью FIX), термин "лечение" или "лечить" может означать заместительную терапию FIX. При введении полипептида FIXFc субъект может достичь и/или поддерживать минимальный уровень активности FIX около 1 МЕ/дл или выше 1 МЕ/дл. В других вариантах реализации изобретения, "лечение" или "лечить" означает уменьшение частоты одного или более симптомов болезни или нарушения свертываемости крови, например спонтанных или неконтролируемых эпизодов кровотечения. "Лечение", однако, не обязательно должно означать исцеление.

Термин "периоперационное управление" в данном описании обозначает использование полипептида FIXFc до, одновременно с или после оперативного вмешательства, например хирургической операции. Использование "периоперационного управления" одного или более эпизодов кровотечения включает хирургическую профилактику до (т.е. предоперационную), во время (т.е. интраоперационную), или после (т.е. послеоперационную) операции для предотвращения одного или более кровотечений, или эпизодов кровотечения или снижения или ингибирования спонтанных и/или неконтролируемых эпизодов кровотечения до, во время и после операции.

Фармакокинетические (ФК) параметры включают вышеуказанные термины и следующие термины, которые имеют свое обычное значение в этой области техники, если не указано иное. Некоторые термины объясняются более подробно в примерах. ФК-параметры могут быть основаны на уровне антигена

FIX (часто обозначается в скобках в данном документе как "антиген") или уровня активности FIX (часто обозначается в скобках здесь как "активность"). В литературе параметры ФК зачастую основаны на уровне активности FIX в связи с наличием в плазме некоторых субъектов эндогенного, неактивного FIX, который препятствует способности измерять введенный (т.е. экзогенный) FIX с помощью антитела против FIX. Однако, когда FIX вводится как часть слитого белка Fc, как представлено в данном документе, введенный (т.е. экзогенный) антиген FIX может быть точно измерен с помощью антитела к гетерологичному полипептиду. Кроме того, некоторые параметры ФК могут быть основаны на модели, предсказывающей данные (часто обозначается в скобках в данном документе как "модельный предсказывающий"), или наблюдаемых данных (часто обозначается в скобках в данном документе как "наблюдаемый") и предпочтительно основаны на наблюдаемых данных.

Термин "исходный уровень" в данном описании является самым низким измеренным уровнем фактора IX в плазме субъекта перед введением дозы. Уровни плазмы фактора IX могут быть измерены в двух точках времени перед дозированием: на отборочном визите и сразу перед дозированием. Кроме того, (a) исходный уровень у субъектов с предварительной активностью FIX <1%, которые имеют не детектируемый антиген FIX, и имеют бессмысленные генотипы могут быть определены как 0%, (b) исходный уровень для субъектов с предварительной активностью FIX <1%, а также имеющих детектируемый антиген FIX может быть установлен на уровне 0,5%, (c) исходный уровень для субъектов с предварительной активностью FIX между от 1-2% Смин (наименьшая активность на протяжении всего исследования ФК), и (d) исходный уровень для субъектов с предварительной активностью FIX $\geq 2\%$ может быть установлен на уровне 2%. Активность выше исходного уровня предварительной дозировки можно считать остатком препарата из предшествующего лечения и может распасться до исходного уровня и вычитаться из данных ФК последующего дозирования tFIXBP.

" $T_{1/2\beta}$ " или " $T_{1/2\text{бета}}$ ", или "Бета HL" в данном описании является связанной с периодом полувыведения фазой элиминации, $t_{1/2\beta} = (\ln 2) / \text{константой скорости элиминации}$, связанной с терминальной фазой. $T_{1/2\text{бета}}$ может быть измерена активностью FIX или уровнем антигена FIX в плазме. $T_{1/2\text{бета}}$ основана на активности показана как $T_{1/2\text{бета}}$ (активность), и $T_{1/2\text{бета}}$ основана на уровне антигена FIX может быть показана как $T_{1/2\text{бета}}$ (антиген). Обе $T_{1/2\text{бета}}$ (активность) и $T_{1/2\text{бета}}$ (антиген) могут быть показаны как диапазоны или среднее геометрическое.

Термин "минимальный уровень" в данном описании обозначает наименьший уровень активности фактора IX плазмы крови, достигнутый после введения дозы химерного полипептида изобретения или другой молекулы фактора IX и прежде чем следующая доза будет введена, если таковая имеется. Минимальный уровень используется здесь взаимозаменяемо с "пороговая величина". Исходный уровень фактора IX вычитается из измеряемого уровня фактора IX для расчета минимального уровня.

Термин "годовая интенсивность кровотечений" ("ГИК") в данном описании относится к числу кровотечений (в том числе спонтанных и травматических кровотечений), испытываемых субъектом в течение определенного периода времени, экстраполированный на 1 год. Например, два кровотечения за шесть месяцев будут указывать на значение ГИК четыре. Средняя ГИК обеспечивает единственное число для описания всех субъектов, указывая, что половина субъектов имела индивидуальную ГИК меньше или равную среднему, а половина была ГИК больше или равную среднему.

Термин "субъект" в данном описании обозначает человека. Субъект в данном описании включает человека, имеющего, как известно, по меньшей мере один случай эпизодов неконтролируемых кровотечений, у которого было диагностировано заболевание или расстройство, связанное с эпизодами неконтролируемых кровотечений, например болезни или нарушения свертываемости, например гемофилия В, при этом такой человек восприимчив к эпизодам неконтролируемого кровотечения, например гемофилии, или любых комбинации вышеозначенного. Субъекты могут также включать человека, который находится под угрозой одного или более эпизодов неконтролируемых кровотечений до начала определенного вида деятельности, например хирургии, спортивной активности, или какой-либо напряженной деятельности. Субъект может иметь базовую активность FIX менее 1%, менее 0,5%, менее 2%, менее 2,5%, менее 3% или менее 4%. Субъекты также включают субъектов детского возраста. Субъекты детского возраста являются рожденными до 20 лет, предпочтительно рожденными до 18 лет, рожденными до 16 лет, рожденными до 15 лет, рожденными до 12 лет, рожденными до 11 лет, рожденными до 6 лет, рожденными до 5 лет, рожденными до 2 лет и до 2-11 лет.

Термины "терапевтическая доза", "доза", "эффективная доза" или "дозированное количество", используемые (взаимозаменяемо) в данном описании, обозначают дозу, достигающую минимального уровня активности FIX в плазме крови по меньшей мере около 1 МЕ/дл или выше 1 МЕ/дл у субъекта, которому вводили полипептид FIXFc. В одном варианте реализации изобретения "доза" относится к количеству доз, при котором минимальный уровень активности FIX в плазме крови сохраняется по меньшей мере около 1 МЕ/дл или выше 1 МЕ/дл, по меньшей мере около 2 МЕ/дл или выше 2 МЕ/дл, по меньшей мере около 3 МЕ/дл или выше 3 МЕ/дл, по меньшей мере около 4 МЕ/дл или выше 4 МЕ/дл, или по меньшей мере около 5 МЕ/дл или выше 5 МЕ/дл на протяжении введения полипептида FIXFc. В другом варианте реализации изобретения "эффективная доза" снижает или уменьшает частоту кровотечения или

нарушения свертываемости крови. В других вариантах реализации изобретения "эффективная доза" останавливает текущее, неконтролируемое кровотечение или эпизоды кровотечения. В других вариантах реализации изобретения "эффективная доза" предотвращает спонтанное кровотечение или эпизоды кровотечений у субъекта восприимчивого к такому спонтанному кровотечению или эпизодам кровотечения. "Терапевтическая доза" не должна лечить гемофилию. Примеры терапевтических доз полипептида rFIXFBP при различных ситуациях кровотечения приведены в данном документе.

Препараты фактора IX-Fc.

Данное изобретения обеспечивает препараты, или фармацевтические композиции, содержащие rFIXFBP. В некоторых препаратах, обеспеченных данным документом, rFIXFBP сформулирован как стерильный, не содержащий консервантов, апиогенный, лиофилизированный, белый или не совсем белый порошок, или пористое вещество для внутривенного введения (IV). Препарат может быть представлен в флаконе одноразового использования. Некоторые примерные препараты rFIXFBP также называют *ef-treponasog alfa*.

В определенных вариантах реализации изобретения препарат rFIXFBP предоставляется в одноразовом флаконе, изготовленном так, чтобы содержать, после разведения с соответствующим количеством растворителя, около 50 МЕ/мл, около 100 МЕ/мл, около 200 МЕ/мл, около 400 МЕ/мл, или около 600 МЕ/мл rFIXFBP. В определенных вариантах реализации изобретения, в которых разбавитель добавлен до конечного объема около 5 мл, одноразовый флакон может номинально содержать около 250, около 500, около 1000, около 2000 или около 3000 Международных Единиц (МЕ) rFIXFBP. В определенных вариантах реализации изобретения, rFIXFBP является rFIXFc. В некоторых вариантах реализации изобретения полипептид rFIXFc содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90, 95 или 100% идентичную аминокислотам 1-642 SEQ ID NO: 2.

В определенных вариантах реализации изобретения препарат включает, кроме активного rFIXFBP: сахарозу (которая может действовать в качестве стабилизатора или наполнителя), маннитол (который может действовать как стабилизатор или наполнитель), L-гистидин (который может действовать как буфер) и полисорбат 20 или полисорбат 80 (которые могут действовать в качестве стабилизатора). Препарат предоставляется с растворителем, содержащим стерильный раствор хлорида натрия. В определенных вариантах реализации изобретения растворитель представлен в предварительно заполненном шприце.

Соответственно, представленная в данном документе фармацевтическая композиция содержит определенное количество rFIXFBP (в МЕ), вместе с наполнителями сахароза, маннитол, L-гистидин, NaCl и полисорбат 20 или полисорбат 80. Представленные в данном документе составы включают различные концентрации различных наполнителей, и концентрации могут быть выражены различными способами. Например, концентрация данного наполнителя может быть выражена как молярная концентрация (например, М или mM) как % вес./об., например, грамм на 100 мл растворителя) или в миллиграммах на миллилитр (мг/мл). Препараты, представленные в данном документе, могут содержать указанные количества различных наполнителей на уровне точности в диапазоне от приблизительного, например, концентрация выражена только к одной значащей цифре (например, около 0,1% (вес./об.)), или с более точного, например более 2, 3, 4, 5 или 6 значащих цифр (например, около 3,88 мг/мл, с точностью до трех значащих цифр). Необходимый уровень точности может варьироваться в зависимости от, например, требования данного регулирующего ведомства, или производственного процесса. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит восстановленный препарат, который может быть предоставлен в виде лиофилизата, дополнительно сопровождаемого растворителем.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 25-1200 МЕ/мл rFIXFBP, например 50, 100, 200, 400 или 600 МЕ/мл rFIXFBP. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит 50, 100, 200 или 400 МЕ/мл rFIXFBP в препарате, содержащем около 3,88 мг/мл или около 25 mM L-гистидина, около 23,8 мг/мл или около 2,4% (м/о) маннитола, около 11,9 мг/мл или около 1,2% (м/о) сахарозы, около 0,10 мг/мл или около 0,010% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80 и около 3,25 мг/мл или около 55,6 mM NaCl.

В определенных вариантах реализации изобретения, фармацевтическая композиция содержит 600 МЕ/мл rFIXFBP в препарате, содержащем около 5,43 мг/мл или около 35 mM L-гистидина, около 33,3 мг/мл или около 3,3% (м/о) маннитола, около 16,7 мг/мл или около 1,7% (м/о) сахарозы, около 0,14 мг/мл или около 0,014% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80, и около 3,25 мг/мл или около 55,6 mM NaCl.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемое количество сахарозы. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 1-2% (м/о) сахарозы, например, около 1,2% (м/о) сахарозы или около 1,7% (м/о) сахарозы. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 10-20 мг/мл сахарозы, например, около 11,9 мг/мл сахарозы или около 16,7 мг/мл сахарозы.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемое количество маннитола. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 2-4% (м/о) маннитола, например около 2,4% (м/о) маннитола или около 3,3% (м/о) маннитола. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевти-

ческая композиция содержит около 20-40 мг/мл маннитола, например около 23,8 мг/мл маннитола или около 33,3 мг/мл маннитола.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемое количество как сахарозы, так и маннитола. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 1,0-2,0% сахарозы и около 2,0-4,0% (м/о) маннитола, например около 1,2% (м/о) сахарозы и около 2,4% (м/о) маннитола или около 1,7% (м/о) сахарозы и около 3,3% (м/о) маннитола. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 10-20 мг/мл сахарозы и около 20-40 мг/мл маннитола, например около 11,9 мг/мл сахарозы и около 23,8 мг/мл маннитола или около 16,7 мг/мл сахарозы и около 33,3 мг/мл маннитола. В определенных вариантах реализации изобретения сахароза и маннитол предоставляются как часть лиофилизата, который при разведении с соответствующим количеством растворителя обеспечивает сахарозу и маннитол в нужной концентрации.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 50-60 мМ NaCl, например около 55,6 мМ NaCl. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 3-4 мг/мл NaCl, например около 3,25 мг/мл NaCl. В определенных вариантах реализации изобретения NaCl предоставляется в нужной концентрации в растворе растворителя, в котором восстановлен лиофилизат, содержащий rFIXFBP.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемое количество L-гистидина. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 20-40 мМ L-гистидина, например около 25 мМ L-гистидина или около 35 мМ L-гистидина. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 3-6 мг/мл L-гистидина, например около 3,88 мг/мл L-гистидина или около 5,43 мг/мл L-гистидина. В определенных вариантах реализации изобретения L-гистидин предоставляется как часть лиофилизата, который при разведении с соответствующим количеством растворителя обеспечивает L-гистидин в нужной концентрации.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемое количество полисорбата 20 или полисорбата 80. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 0,008-0,020% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80, например около 0,010% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80 или около 0,014% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит около 0,08-0,2 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80, например около 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80 или около 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80. В определенных вариантах реализации изобретения полисорбат 20 или полисорбат 80 предоставляется как часть лиофилизата, который при разведении с соответствующим количеством растворителя обеспечивает полисорбат 20 или полисорбат 80 в нужной концентрации.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит от около 25 МЕ/мл до около 700 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; от около 1% (м/о) до около 2% (м/о) сахарозы; от около 2% (м/о) до около 4% (м/о) маннитола; от около 50 мМ до около 60 мМ NaCl; от около 20 мМ до около 40 мМ L-гистидина; и от около 0,008% (м/о) до около 0,015% полисорбата 20 или полисорбата 80. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция предоставляется как лиофилизат и растворитель. В определенных вариантах реализации изобретения количество лиофилизата обеспечивает около 5 мл фармацевтической композиции с желаемыми ингредиентами в желаемой концентрации.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит от около 25 МЕ/мл до около 700 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; от около 10 мг/мл до около 20 мг/мл сахарозы; от около 20 мг/мл до около 40 мг/мл маннитола; от около 3 мг/мл до около 4 мг/мл NaCl; от около 3 мг/мл до около 6 мг/мл L-гистидина; и от около 0,08 мг/мл до около 0,15 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция предоставляется как лиофилизат и растворитель. В определенных вариантах реализации изобретения количество лиофилизата обеспечивает около 5 мл фармацевтической композиции с желаемыми ингредиентами в желаемой концентрации.

Примерные составы представлены в табл. 1 и 2 в примерах.

Например, изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 50 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 1,2% (м/о) сахарозы; около 2,4% (м/о) маннитола; около 55,6 мМ NaCl; около 25 мМ L-гистидина; и около 0,010% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80. Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 100 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 1,2% (м/о) сахарозы; около 2,4% (м/о) маннитола; около 55,6 мМ NaCl; около 25 мМ L-гистидина; и около 0,010% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80. Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 200 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 1,2% (м/о) сахарозы; около 2,4% (м/о) маннитола; около 55,6 мМ NaCl; около 25 мМ L-гистидина; и около 0,010% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80. Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 400 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 1,2% (м/о) сахарозы; около

2,4% (м/о) маннитола; около 55,6 мМ NaCl; около 25 мМ L-гистидина; и около 0,010% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80. Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 600 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 1,7% (м/о) сахарозы; около 3,3% (м/о) маннитола; около 55,6 мМ NaCl; около 35 мМ L-гистидина; и около 0,014% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80.

Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 50 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 11,9 мг/мл сахарозы; около 23,8 мг/мл маннитола; около 3,25 мг/мл NaCl; около 3,88 мг/мл L-гистидина; и около 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80. Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 100 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 11,9 мг/мл сахарозы; около 23,8 мг/мл маннитола; около 3,25 мг/мл NaCl; около 3,88 мг/мл L-гистидина; и около 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80. Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 200 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 11,9 мг/мл сахарозы; около 23,8 мг/мл маннитола; около 3,25 мг/мл NaCl; около 3,88 мг/мл L-гистидина; и около 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80. Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую: около 400 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 11,9 мг/мл сахарозы; около 23,8 мг/мл маннитола; около 3,25 мг/мл NaCl; около 3,88 мг/мл L-гистидина; и около 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80. Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую около 600 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; около 16,7 мг/мл сахарозы; около 33,3 мг/мл маннитола; около 3,25 мг/мл NaCl; около 5,43 мг/мл L-гистидина; и около 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

Данное изобретение также обеспечивает компоненты фармацевтического набора. Такой набор включает один или более контейнеров и дополнительные принадлежности. Комплект, как представлено в данном документе, облегчает введение эффективного количества rFIXFBP нуждающемуся в нем субъекту. В определенных вариантах реализации изобретения комплект облегчает введение rFIXFBP посредством внутривенной инфузии. В определенных вариантах реализации изобретения комплект облегчает самостоятельное введение rFIXFBP посредством внутривенной инфузии.

В определенных вариантах реализации изобретения относится к фармацевтическому набору, включающему: первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок или пористое вещество, в котором порошок или пористое вещество содержит (i) полипептид rFIXFBP, (ii) сахарозу; (iii) маннитол; (iv) L-гистидин; и (v) полисорбат 20 или полисорбат 80; и второй контейнер, содержащий 0,325% (м/о) раствора растворителя NaCl для объединения с лиофилизированным порошком из первого контейнера. В определенных вариантах реализации изобретения достаточное количество растворителя обеспечивает получение около 5 мл препарата rFIXFBP с заданными свойствами, как описано в данном документе. В определенных вариантах реализации изобретения второй контейнер является предварительно заполненным шприцем, сопряженным с поршнем, чтобы обеспечить добавление разбавителя в первый контейнер, растворение содержимого первого контейнера, и передачу обратно в шприц. В определенных вариантах реализации изобретения набор дополнительно содержит переходник для крепления шприца к первому контейнеру. В определенных вариантах реализации изобретения набор дополнительно содержит иглу и инфузионную трубку, прикрепленную к шприцу, содержащему растворенный препарат rFIXFBP для внутривенной инфузии препарата.

В определенных вариантах реализации изобретения rFIXFBP предоставляется в общем количестве от около 200 МЕ до около 4000 МЕ, например около 250 МЕ, около 500 МЕ, около 1000 МЕ, около 2000 МЕ или около 3000 МЕ.

В одном варианте реализации изобретения предоставляется фармацевтический набор, который содержит первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит (i) около 250 МЕ полипептида rFIXFBP, (ii) около 59,5 мг сахарозы; (iii) около 119 мг маннитола; (iv) около 19,4 мг L-гистидина; и (v) около 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и второй контейнер, содержащий 0,325% (м/о) NaCl в объеме, достаточном для получения, в сочетании с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего: (i) около 50 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (ii) около 1,2% (м/о) сахарозы; (iii) около 2,4% (м/о) маннитола; (iv) около 55,6 мМ NaCl; (v) около 25 мМ L-гистидина; и (vi) около 0,01% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80.

В еще одном варианте реализации изобретения предоставляется фармацевтический набор, который содержит первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит (i) около 500 МЕ полипептида rFIXFBP, (ii) около 59,5 мг сахарозы; (iii) около 119 мг маннитола; (iv) около 19,4 мг L-гистидина; и (v) около 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и второй контейнер, содержащий 0,325% (м/о) NaCl в объеме, достаточном для получения, в сочетании с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего: (i) около 100 МЕ/мл полипептида rFIXFBP; (ii) около 1,2% (м/о) сахарозы; (iii) около 2,4% (м/о) маннитола; (iv) около 55,6 мМ NaCl; (v) около 25 мМ L-гистидина; и (vi) около 0,01% (м/о) полисорбата 20 или полисорбата 80.

В еще одном варианте реализации изобретения предоставляется фармацевтический набор, который содержит первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит (i) около 1000 МЕ полипептида rFIXFBP, (ii) около 59,5 мг сахарозы; (iii) около 119 мг маннитола; (iv) около 19,4 мг L-гистидина; и (v) около 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и второй контейнер, со-

В определенных вариантах реализации изобретения второй контейнер фармацевтического набора, представленного в данном документе, является корпусом шприца, сопряженного с поршнем. В определенных вариантах реализации изобретения шприц является предварительно заполненным шприцем, содержащим растворитель. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтический набор, представленный в данном документе, дополнительно содержит переходник для соединения стеклянного флакона с корпусом шприца. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтический набор, представленный в данном документе, дополнительно содержит инфузионную трубку, сопряженную с иглой, для соединения со шприцем, подходящим для внутривенного вливания.

В определенных вариантах реализации изобретения требуемая доза gFIXFBP может быть достигнута посредством использования одного фармацевтического набора, как представлено в данном документе. В определенных вариантах реализации изобретения более одного фармацевтического набора может быть использовано для достижения требуемой дозы. Представленный в данном документе, является способом комбинирования, или объединения препаратов, содержащихся в двух или более фармацевтических наборах, как представлено в данном документе, для того, чтобы достичь требуемой дозы.

Способы введения.

Настоящее изобретение обеспечивает способы введения полипептида 1 gFIXFBP субъекту человека при такой необходимости, включающие введение субъекту указанной или расчетной дозы полипептида gFIXFBP в указанный или расчетный интервал дозирования.

Введение полипептида gFIXFBP является заместительной терапией путем добавления рекомбинантного FIX субъекту с дефицитом FIX. Введение полипептида gFIXFBP может уменьшить или предотвратить ряд кровотечений или эпизодов кровотечений у субъекта.

gFIXFBP является противовоспалительным фактором (рекомбинантный) длительного действия, отмеченным у взрослых и детей (≥ 12 лет) с гемофилией В (врожденный дефицит фактора IX) для, например, остановки и профилактики эпизодов кровотечения, плановой профилактики для предотвращения или уменьшения частоты эпизодов кровотечения, и периоперационного управления (хирургической профилактики).

Субъект в данном описании обозначает человека, нуждающегося в остановке и профилактике кровотечения или эпизодов кровотечения. Субъект может кровоточить во время введения или ожидать кровотечения, или может быть восприимчив к кровотечению при незначительном кровоизлиянии, гемартрозе, поверхностном кровоизлиянии в мышцах, кровоизлиянии мышц мягких тканей, умеренном кровоизлиянии, межмышечном кровоизлиянии или кровоизлиянии мягких тканей с рассечением, кровоизлиянии слизистой мембраны, гематурии, сильном кровоизлиянии, кровоизлиянии глотки, кровоизлиянии в заглоточном пространстве, кровоизлиянии в забрюшинном пространстве, кровоизлиянии в центральной нервной системе, ушибах, порезах, ссадинах, кровоизлиянии суставов, носовом кровотечении, ротовом кровотечении, кровотечении из десен, внутричерепном кровотечении, внутрибрюшинном кровотечении, незначительном спонтанном кровоизлиянии, кровотечении после обширной травмы, умеренных кровоподтеках кожи, или спонтанном кровоизлиянии в суставы, мышцы, внутренние органы или мозг. Такие субъекты также включают нуждающихся в периоперационном управлении, таком как управление кровотечением, связанным с хирургическим вмешательством или удалением зубов. В одном варианте реализации изобретения субъект нуждается в профилактике одного или нескольких эпизодов кровотечения. В другом варианте реализации изобретения субъект нуждается в индивидуализированных интервалах профилактики. В других вариантах реализации изобретения субъект нуждается в лечении при необходимости одного или нескольких эпизодов кровотечения. В еще одних вариантах реализации изобретения субъект нуждается в периоперационном управлении одного или более эпизодов кровотечения.

Приводимые в данном документе оптимизированные и/или соответствующие количества дозирования и интервалы дозирования для использования с препаратами, фармацевтическими композициями, и/или одним или более фармацевтическим набором, приведенными здесь, могут лечить или предотвратить один или более эпизодов кровотечения. Введение соответствующего дозирующего количества для интервала дозирования может достичь минимального уровня активности FIX в плазме по меньшей мере около 1 МЕ/дл или выше 1 МЕ/дл в течение интервала у субъекта, которому вводили полипептид gFIXFBP. В одном варианте реализации изобретения включает количество дозирования (или диапазоны количества дозирования) и интервал дозирования (или диапазоны интервала дозирования), которые могут поддерживать минимальный уровень активности FIX в плазме крови по меньшей мере около 1 МЕ/дл (1%) или выше 1 МЕ/дл (1%), по меньшей мере около 2 МЕ/дл (2%) или выше 2 МЕ/дл (2%), по меньшей мере около 3 МЕ/дл (3%) или выше 3 МЕ/дл (3%), по меньшей мере около 4 МЕ/дл (4%) или выше 4 МЕ/дл (4%), или по меньшей мере около 5 МЕ/дл (5%) или выше 5 МЕ/дл (5%) на всем интервале. В другом варианте реализации изобретения количество дозирования (или диапазоны количества дозирования) и интервал дозирования (или диапазоны интервала дозирования), снижают или уменьшают частоту кровотечения или эпизодов кровотечения.

В определенных вариантах реализации изобретения желаемый минимальный уровень активности FIX достигается за счет профилактического лечения gFIXFBP путем фиксированной дозы с фиксированным интервалом, фиксированной дозы с индивидуализированным интервалом, индивидуализированной

дозы с фиксированным интервалом, или индивидуализированной дозы с индивидуализированным интервалом.

В определенных вариантах реализации изобретения желаемый минимальный уровень активности FIX достигается за счет профилактического введения фиксированного количества rFIXFBR с фиксированным интервалом. Например, rFIXFBR может быть введен в количестве около 50 МЕ/кг с интервалом около одной недели (например, каждые семь дней), или rFIXFBR может быть введен в количестве около 100 МЕ/кг с интервалом от около 10 дней до около 14 дней. В определенных вариантах реализации изобретения минимальный уровень активности FIX субъекта может быть измерен в течение графика фиксированной дозы или фиксированного интервала, и доза и/или интервал могут быть скорректированы для достижения желаемого минимального уровня. В определенных вариантах реализации изобретения средняя индивидуализированная недельная доза в группе субъектов с гемофилией В составляет от около 30 МЕ/кг до около 60 МЕ/кг, например около 32 МЕ/кг и около 54 МЕ/кг, например 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 56, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 или 54 МЕ/кг, например около 41 МЕ/кг. В определенных вариантах реализации изобретения средний индивидуальный интервал дозирования для введения 100 МЕ/кг составляет около 10 дней и около 14 дней, например 10, 11, 12, 13 или 14 дней, например около 13 дней.

В определенных вариантах реализации изобретения профилактическое введение rFIXFBR может уменьшить годовую интенсивность кровотечений (ГИК) субъекта по меньшей мере на 70% по сравнению со средней годичной интенсивностью кровотечений у субъектов, лечившихся по эпизодическому (при необходимости) протоколу.

В определенных вариантах реализации изобретения, в которых субъект с гемофилией В лечится профилактически с помощью фиксированной дозы с фиксированным интервалом, например 50 МЕ/кг один раз в неделю или 100 МЕ/кг один раз каждые 10, 11, 12, 13 или 14 дней.

В определенных вариантах реализации изобретения в которых субъект с гемофилией В лечится профилактически с помощью индивидуализированной дозы с фиксированным интервалом, например от около 30 МЕ/кг и до около 60 МЕ/кг один раз в неделю, например от около 32 МЕ/кг и до около 54 МЕ/кг один раз в неделю, например 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 56, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 или 54 МЕ/кг один раз в неделю, например около 41 МЕ/кг один раз в неделю, ГИК субъекта снижается, по отношению к средней ГИК после эпизодического лечения или лечения по требованию, от около 70% и до около 90%, например ГИК снижается от около 76% и до около 89%, например ГИК снижается от около 70%, около 75%, около 76%, около 77%, около 78%, около 79%, около 80%, около 81%, около 82%, около 83%, около 84%, около 85%, около 86%, около 87%, около 88%, около 89% или около 90%, например ГИК снижается до около 83%.

В определенных вариантах реализации изобретения в которых субъект с гемофилией В лечится профилактически с помощью фиксированной дозы с индивидуализированным интервалом, например около 100 МЕ/кг вводится от около каждых 10 дней и до около каждых 14 дней, например каждые 10 дней, каждые 11 дней, каждые 12 дней, каждые 13 дней, или каждые 14 дней, например или около каждых 13 дней, ГИК субъекта снижается, по отношению к средней ГИК после эпизодического лечения или лечения по требованию, от около 80% и до около 95%, например ГИК снижается от около 80% и до около 92%, например ГИК снижается от около 80%, около 81%, около 82%, около 83%, около 84%, около 85%, около 86%, около 87%, около 88%, около 89%, около 90%, около 91%, около 92%, около 93%, около 94% или около 95%, например около 87%.

В определенных вариантах реализации изобретения профилактическое лечение субъектов с гемофилией В с помощью rFIXFBR путем фиксированной дозы с фиксированным интервалом, фиксированной дозы с индивидуализированным интервалом, индивидуализированной дозы с фиксированным интервалом, или индивидуализированной дозы с индивидуализированным интервалом может достичь ГИК за менее чем 1, менее чем два, менее чем три, менее чем 4, или менее чем 5 эпизодов кровотечения в год, например от около 1 и до около 5 эпизодов кровотечения в год.

В других вариантах реализации изобретения количество дозирования (или диапазоны количества дозирования) и интервал дозирования (или диапазоны интервала дозирования) полипептида rFIXFBR останавливает продолжающееся, неконтролируемое кровотечение или эпизоды кровотечения у субъектов с введенным количеством дозирования в течение интервала дозирования. В еще одних вариантах реализации изобретения количество дозирования (или диапазоны количества дозирования) и интервал дозирования (или диапазоны интервала дозирования) полипептида rFIXFBR предотвращает спонтанное кровотечение или эпизоды кровотечения у субъектов, восприимчивых к такому спонтанному кровотечению или эпизодам кровотечений. Различные количества дозирования и интервалы дозирования описаны в Международной заявке № PCT/US2011/043569, поданной 11 июля 2011 года и опубликованной как WO 2012/006624 12 января 2012 года, которая включена в данном документе в качестве ссылки во всей ее полноте.

В одном аспекте данное изобретение относится к способу введения полипептида rFIXFBR субъекту с гемофилией В, который нуждается в профилактике, содержащей внутривенное введение субъекту фармацевтической композиции, как описано в данном документе, восстановленной из одного или несколь-

ких фармацевтических наборов, представленных в данном документе, например, в начальной дозе около 50 МЕ/кг, вводится один раз в неделю, например около раза в семь дней, что может включать, например, каждые 6, 7, или 8 дней. В соответствии с данным аспектом введение может предотвратить или уменьшить частоту кровотечений у субъекта. В еще одном аспекте данное изобретение относится к способу введения полипептида rFIXFBR субъекту с гемофилией В, который нуждается в профилактике, содержащей внутривенное введение субъекту фармацевтической композиции, как описано в данном документе, например восстановленной из одного или нескольких фармацевтических наборов, представленных в данном документе, в начальной дозе около 100 МЕ/кг, вводится один раз каждые 10-14 дней, например около раза каждые 10, 11, 12, 13, или 14 дней. В соответствии с данным аспектом введение может предотвратить или уменьшить частоту кровотечений у субъекта. В еще одном аспекте любой из этих способов, что объем профилактической дозы или дозовая частота могут быть в дальнейшем уточнены на основе реакции субъекта, измеряемой, например, с помощью одноэтапного анализа коагулирующей активности (активированное частичное тромбопластиновое время; АЧТВ), анализа времени тромбообразования (TGA) или анализа ротационной тромбоэластометрии (ROTEM®). Специалисты в данной области техники, например врачи, лечащие субъектов с гемофилией В, могут легко предположить, как и в какой степени доза субъекта или дозовая частота должны быть скорректированы, с целью заблаговременно предотвратить и/или уменьшить эпизоды кровотечения у субъекта.

В одном аспекте данное изобретение относится к способу введения полипептида rFIXFBR субъекту с гемофилией В, который нуждается в лечении от малого до умеренного эпизода кровотечения, содержащего внутривенное введение субъекту фармацевтической композиции, как описано в данном документе, например восстановленной из одного или более фармацевтических наборов, представленных в данном документе, в начальной дозе от около 30 МЕ/кг до около 60 МЕ/кг, например 30, 40, 50 или 60 МЕ/кг. В соответствии с данным аспектом, введение может остановить, облегчить, или отменить эпизод кровотечения. Способ может дополнительно включать введение одной или более дополнительных доз, с первой дополнительной дозы, введенной в около 48 ч, и последующих доз введенных каждые 48 ч, если у субъекта наблюдалось дальнейшее доказательство кровотечения. Введение может продолжаться в соответствии с этим аспектом, пока эпизод кровотечения не ослабнет. Специалисты в данной области техники, например врачи, лечащие субъектов с гемофилией В, могут определить начальную дозу, основываясь на тяжести эпизода кровотечения, реакции субъекта и по уровню активности FIX в крови субъекта.

В одном аспекте данное изобретение относится к способу введения, который нуждается в лечении от малого до умеренного эпизода кровотечения, содержащего внутривенное введение субъекту фармацевтической композиции, как описано в данном документе, например восстановленной из одного или нескольких фармацевтических наборов, представленных в данном документе, в начальной дозе около 100 МЕ/кг. В соответствии с данным аспектом введение может остановить, облегчить или отменить эпизод кровотечения. Способ может также включать введение дополнительной дозы фармацевтической композиции около 80 МЕ/кг через около 6-10 ч, если эпизод кровотечения продолжается. Способ может также включать введение одной или более дополнительных доз по около 80 МЕ/кг около каждые 24 ч в течение трех дней, если эпизод кровотечения продолжается. Способ может также включать введение одной или нескольких дополнительных доз по 80 МЕ/кг каждые 48 ч, пока эпизод кровотечения не будет остановлен. Введение может продолжаться в соответствии с этим аспектом, пока эпизод кровотечения не ослабнет.

В одном аспекте данное изобретение относится к способу введения полипептида rFIXFBR субъекту с гемофилией В, нуждающемуся в хирургической профилактике, содержащему внутривенное введение субъекту, переносящему незначительные операции, например несложное удаление зубов, фармацевтической композиции, как описано в данном документе, например восстановленной из одного или нескольких фармацевтических наборов, представленных в данном документе, в начальной дозе от около 50 МЕ/кг до около 80 МЕ/кг, например 50, 60, 70 или 80 МЕ/кг, введенной периоперационно, т.е. перед, одновременно с или после незначительной оперативной процедуры. В соответствии с данным аспектом введение может останавливать кровотечение у субъекта во время и после хирургической операции. Способ может также включать введение дополнительной дозы фармацевтической композиции от около 50 МЕ/кг до около 80 МЕ/кг в промежутке от около 24 ч до около 48 ч после хирургического вмешательства, если это необходимо, чтобы остановить послеоперационное кровотечение.

В одном аспекте данное изобретение относится к способу введения полипептида rFIXFBR субъекту с гемофилией В, который нуждается в хирургической профилактике, содержащему внутривенное введение субъекту переносящему значительные операции фармацевтической композиции, как описано в данном документе, например, восстановленной из одного или нескольких фармацевтических наборов, представленных в данном документе, в начальной дозе около 100 МЕ/кг введенной периоперационно, т.е. перед, одновременно с или после значительной оперативной процедуры. В соответствии с данным аспектом введение может останавливать кровотечение у субъекта во время и после хирургической операции. Значительные операции могут включать, без ограничения, полную замену коленного сустава, артроскопическую процедуру, например артроскопию голеностопного сустава, закрытие прямокишечного свища, внешнюю фиксацию колена, пересадку сухожилий, разрез и дренирование зубного абсцесса с экстракции-

ей, разрез и дренирование пилонидальной кисты, хирургическую обработку раны, частичную ампутацию или ампутацию пальца. Способ может также включать введение дополнительной дозы фармацевтической композиции около 80 МЕ/кг через около 6-10 ч, если это необходимо, чтобы остановить послеоперационное кровотечение. Способ может также включать введение одной или более дополнительных доз по около 80 МЕ/кг каждые около 24 ч в течение трех дней, если эпизод кровотечения продолжается. Способ может также включать введение одной или более дополнительных доз по 80 МЕ/кг каждые 48 ч, пока эпизод кровотечения не будет остановлен. Введение может продолжаться в соответствии с этим аспектом, пока эпизод кровотечения не ослабнет.

В одном аспекте данное изобретение обеспечивает фармакокинетические параметры фармацевтической композиции, представленной в данном документе, в сравнении с коммерчески доступным rFIX (полипептид, состоящий из полноразмерного зрелого фактора IX, например BENEFIX®).

В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция, представленная в данном документе, имеет среднее значение $T_{1/2\beta}$ (активность) от около 70 ч до около 95 ч, например среднее значение $T_{1/2\beta}$ (активность) от около 82 ч после одной внутривенной инфузии 50 МЕ/кг rFIXFBR. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция, представленная в данном документе, вводится в виде внутривенной инфузии 50 МЕ/кг rFIXFBR, имеет среднее значение $T_{1/2\beta}$ (активность) по меньшей мере в около 2-3 раза выше чем BENEFIX®, например среднее значение $T_{1/2\beta}$ (активность) в около 2,4 раза выше, чем BENEFIX®, после одной внутривенной инфузии 50 МЕ/кг BENEFIX®.

В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция, представленная в данном документе, имеет среднее значение $C_{\max}$ от около 30 МЕ/дл до около 50 МЕ/дл, например около 40,8 МЕ/дл, после одной внутривенной инфузии 50 МЕ/кг rFIXFBR. В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция, представленная в данном документе, имеет среднюю площадь под кривой на дозу (ППК/Доза) от около 27 МЕ·ч/дл на МЕ/кг до около 35 МЕ·ч/дл на МЕ/кг, например около 31,32 МЕ·ч/дл на МЕ/кг, после одной внутривенной инфузии 50 МЕ/кг rFIXFBR. В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция, представленная в данном документе, вводится в виде внутривенной инфузии 50 МЕ/кг rFIXFBR, имеет среднюю ППК/доза по меньшей мере от около 1,8 раза до около 2,1 раза, например около 1,99 раза выше, чем BENEFIX®, после одной внутривенной инфузии 50 МЕ/кг BENEFIX®.

В определенных вариантах реализации изобретения способ изобретения дополнительно содержит измерение исходного уровня активности FIX субъекта до первоначального введения полипептида rFIXFBR. Измерение исходного уровня активности FIX может применять любые известные анализы коагулирующей активности в данной области техники, например одноэтапный анализ АЧТВ, двухэтапный хромогенный анализ, ROTEM, TGA или т.д.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ изобретения дополнительно содержит измерение $T_{1/2\beta}$ (активность) или $T_{1/2\beta}$ (антиген) полипептида rFIXFBR у субъекта до введения полипептида rFIXFBR.

Теперь с подробным описанием данного изобретения то же самое будет более понятно со ссылкой на следующие примеры, которые включены в данный документ только для иллюстрационных целей и не предназначены для ограничения изобретения. Все патенты и публикации, указанные в данном документе, прямо включены в виде ссылки.

Примеры

Пример 1. Описание продукта.

rFIXFc является полностью рекомбинантным слитым белком длительного действия, состоящим из фактора коагуляции IX (FIX) человека, ковалентно связанного с доменом Fc иммуноглобулина G1 (IgG1) человека. Часть rFIXFc фактора IX имеет первичную аминокислотную последовательность, идентичную аллельной форме Thr¹⁴⁸ фактора IX, полученного из плазмы, и имеет структурные и функциональные характеристики, аналогичные эндогенному фактору IX. Домен Fc rFIXFc содержит шарнир, регионы CH2 и CH3 IgG1. rFIXFc содержит 869 аминокислот с молекулярной массой около 98 кДа.

rFIXFc производится с помощью технологии рекомбинантной ДНК в линии эмбриональных клеток почек человека (НЕК), которая была подробно охарактеризована. Линия клеток экспрессирует rFIXFc в определенной клеточной культуральной среде, которая не содержит каких-либо белков, полученных из источников животного или человека. rFIXFc очищается с помощью ряда хроматографических этапов, которые не требуют использования моноклонального антитела. Процесс включает несколько этапов элиминации вирусов, в том числе 15 нм нанофильтрацию вирусов. Добавки человеческого или животного происхождения не используются в клеточной культуре, очистке и технологии приготовления препарата.

rFIXFc находится в фармакотерапевтической группе: гемостатики, B02BD04. Он предоставляется как стерильный, не содержащий консервантов, апиогенный, лиофилизированный, белый или не совсем белый порошок, или пористое вещество для внутривенного введения (IV) в одноразовом флаконе, в сопровождении жидкого растворителя в предварительно заполненном шприце. В дополнение к rFIXFc, фармацевтическая композиция включает лиофилизат сахарозы, l-гистидина, маннитола или полисорбата

20 и содержит в стерильном растворителе раствор хлорида натрия (0,325%). Каждый одноразовый флакон содержит номинально 250, 500, 1000, 2000 или 3000 Международных Единиц (МЕ) rFIXFc. При разведении с представленным растворителем продукт содержит следующие наполнители: сахарозу, хлорид натрия, L-гистидин, маннитол и полисорбат 20, в концентрациях, указанных в табл. 1 или 2 ниже. Фармацевтическая композиция составлена для внутривенного введения только после разведения.

Каждый контейнер содержит порошковый флакон (стекло 1-го типа) с пробкой (бутил) и резиновую пробку с алюминиевым колпачком, 5 мл растворителя в предварительно заполненном шприце (стекло 1-го типа) с уплотнителем на поршне (бутил), винтовым колпачком (бутил) и стерильным устройством переходника к флакону для растворения.

Таблица 1. Препараты rFIXFc

rFIXFc МЕ/мл*	% (м/о) Сахароза	% (м/о) Маннитол	NaCl (мМ)	L-гистидин (мМ)	% (м/о) Полисорбат- 20
50 МЕ/мл	1,2	2,4	55,6	25	0,010
100 МЕ/мл	1,2	2,4	55,6	25	0,010
200 МЕ/мл	1,2	2,4	55,6	25	0,010
400 МЕ/мл	1,2	2,4	55,6	25	0,010
600 МЕ/мл	1,7	3,3	55,6	35	0,014

Таблица 2. Препараты rFIXFc

Компонент	Концентрация				
	250 МЕ/флакон	500 МЕ/флакон	1000 МЕ/флакон	2000 МЕ/флакон	3000 МЕ/флакон
rFIXFc*	50 МЕ/мл	100 МЕ/мл	200 МЕ/мл	400 МЕ/мл	600 МЕ/мл
L-гистидин	3,88 мг/мл	3,88 мг/мл	3,88 мг/мл	3,88 мг/мл	5,43 мг/мл
Маннитол	23,8 мг/мл	23,8 мг/мл	23,8 мг/мл	23,8 мг/мл	33,3 мг/мл
Сахароза	11,9 мг/мл	11,9 мг/мл	11,9 мг/мл	11,9 мг/мл	16,7 мг/мл
Полисорбат 20	0,10 мг/мл	0,10 мг/мл	0,10 мг/мл	0,10 мг/мл	0,14 мг/мл
NaCl	3,25 мг/мл	3,25 мг/мл	3,25 мг/мл	3,25 мг/мл	3,25 мг/мл
Вода для инъекций	5 мл				

*Содержание действующих веществ (МЕ) определяется с помощью одноэтапного активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) в соответствии с Европейской Фармакопеей 2.7.11 и Фармакопеей США против внутреннего стандарта, который ссылается на стандарт концентраций ВОЗ. Удельная активность rFIXFc составляет ≥ 55 МЕ/мг белка.

Пример 2. Способ приготовления лекарственной формы.

Продукт препарата rFIXFc является стерильным лиофилизированным порошком для инъекций, предназначенных для внутривенного введения. Он поставляется в асептических заполненных одноразовых флаконах, которые содержат номинально 250, 500, 1000, 2000 и 3000 МЕ в флаконе. Флаконы имеют емкость 10 мл согласно Фармакопее США/Европейской Фармакопее. Флаконы со стеклом 1-го типа герметично закрывают 20 мм пробкой для лиофилизации из бутилового каучука с тефлоновым покрытием и отламываемым алюминиевым колпачком. До лиофилизации номинальный целевой объем заполнения флаконов для 250 по 2000 МЕ составляет 5 и 7 мл для 3000 МЕ флакона. До лиофилизации состав наполнителей препарата является одинаковым для всех дозировок. Порошок для инъекций разводят с помощью 5 мл растворителя, содержащего 0,325% (м/о) хлорида натрия, поставляемого в стерильном предварительно заполненном шприце.

Составы растворов лекарственного продукта до лиофилизации представлены в табл. 3. Состав лиофилизированных порошков представлен в табл. 4. Составы растворов лекарственного продукта после разведения представлены в табл. 1 или 2 (пример 1).

Таблица 3. Состав rFIXFc порошка для инъекций на миллилитр до лиофилизации

Компонент	Функция	Количество ⁱ⁾				
		250 ME Флакон	500 ME Флакон	1000 ME Флакон	2000 ME Флакон	3000 ME Флакон
rFIXFc	Действующее вещество	50 ME	100 ME	200 ME	400 ME	429 ME
L-Гистидин ⁱⁱ⁾	Буфер	3,88 мг	3,88 мг	3,88 мг	3,88 мг	3,88 мг
D-Маннитол	Наполнитель	23,8 мг	23,8 мг	23,8 мг	23,8 мг	23,8 мг
Сахароза	Стабилизатор	11,9 мг	11,9 мг	11,9 мг	11,9 мг	11,9 мг
Полисорбат 20	Стабилизатор	0,10 мг	0,10 мг	0,10 мг	0,10 мг	0,10 мг
Вода для инъекций	Растворитель	Достаточное количество для 1 мл				

ⁱ⁾ Количества являются номинальными.

ⁱⁱ⁾ Небольшие количества соляной кислоты и/или гидроксида натрия добавляются во время приготовления для доведения pH до 7,1.

Таблица 4. Номинальный состав rFIXFc порошка для инъекций на флакон

Компонент	Функция	Количество ⁱ⁾				
		250 ME Флакон	500 ME Флакон	1000 ME Флакон	2000 ME Флакон	3000 ME Флакон
rFIXFc	Действующее вещество	250 ME	500 ME	1000 ME	2000 ME	3000 ME
L-Гистидин ⁱⁱ⁾	Буфер	19,4 мг	19,4 мг	19,4 мг	19,4 мг	27,2 мг
Маннитол	Стабилизатор/ наполнитель	119 мг	119 мг	119 мг	119 мг	167 мг
Сахароза	Стабилизатор/ наполнитель	59,5 мг	59,5 мг	59,5 мг	59,5 мг	83,3 мг
Полисорбат 20	Стабилизатор	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,5 мг	0,7 мг

Введение может быть осуществлено путем присоединения шприца к комплекту стандартной внутривенной инфузионной трубки/иглы, и доставки rFIXFc внутривенно с помощью стандартных способов, известных специалистам в данной области техники.

Пример 3. Дозировка и способ введения/способ расчета первоначальной оценочной дозы rFIXFbP является противовоспалительным фактором (рекомбинантный) длительного действия, отмеченным у взрослых и детей (≥ 12 лет) с гемофилией В (врожденный дефицит фактора IX) для, например, остановки и предотвращения эпизодов кровотечения, плановой профилактики для предотвращения или уменьшения частоты эпизодов кровотечения и периоперационного управления (хирургической профилактики).

Дозирование rFIXFc, сформулированное, как описано в примере 1, может быть оценено, как описано в данном примере, но также может быть определено с помощью стандартных тестов, таких как анализы активности FIX, описанные в другом месте данного документа.

1 ME rFIXFc на килограмм массы тела предположительно увеличит уровень циркулирующего фактора IX на 1% [ME/дл]. Как было показано, rFIXFc имеет продленный период полужизни в кровотоке.

Корректировка дозы для восстановления, как правило, не требуется. Поскольку субъекты могут отличаться в их фармакокинетических (например, период полувыведения, *in vivo* восстановление) и клинических реакциях на rFIXFc, предполагаемый *in vivo* пик повышения уровня фактора IX выражается в ME/дл (или % от нормального), или необходимая доза может быть рассчитана с помощью следующей формулы:

$$\text{ME/дл (или \% от нормального)} = [\text{Общая доза (ME)/масса тела (кг)}] \times \text{восстановление (ME/дл за ME/кг)}$$

ИЛИ

$$\text{Доза (ME)} = \text{масса тела (кг)} \times \text{Желаемое повышение фактора IX (ME/дл или \% от нормального)} \times \text{величину, обратную восстановлению (ME/кг за ME/дл)}$$

Следующая таблица (табл. 5) может быть использована для руководства дозирования в эпизодах кровотечения.

Таблица 5. Руководство дозирования rFIXFc для лечения кровотечений

Тяжесть кровотечения	Необходимый уровень фактора IX (МЕ/дл или % от нормального)	Доза (МЕ/кг)/частота доз (ч)
Незначительное и Среднее Например: сустава, поверхностной мышцы/без нейрососудистого риска (кроме подвздошно-поясничной мышцы), поверхностных мягких тканей, слизистых оболочек	30-60	30-60 МЕ/кг Повторять каждые 48 часов, если имеются новые свидетельства кровотечения
Сильное Например: подвздошно-поясничной мышцы и глубокой мышцы с нейрососудистой травмой, или при существенной потере крови, абдоминального пространства, ЦНС	80-120	Для повторного дозирования, следовать рекомендациям для крупных операций [см. Таблицу 6]

Взято из: Roberts and Eberst, WFH 2008 и WFH 2012.

Последующее дозирование и продолжительность лечения зависят от индивидуальной клинической реакции, выраженности дефицита фактора IX, и расположения, и масштабов кровотечения (см. фармакокинетику в примере 5 ниже).

Следующая таблица (табл. 6) может быть использована для руководства дозирования в периперационном управлении (хирургической профилактике).

Таблица 6. Руководство дозирования rFIXFc для периперационного управления (хирургической профилактики)*

Разновидность операций	Необходимый первоначальный уровень фактора IX (МЕ/дл или % от нормального)	Доза (МЕ/кг)/частота доз (ч)
Незначительные Незначительное операции, включая неосложненное удаление зубов	50-80	50-80 МЕ/кг Однократной инфузии может быть достаточно. При необходимости повторить через 24-48 часов.
Сильное	60-120 (первоначальный уровень) Дни 1-3: поддерживать уровень 40-60% Дни 4-6: поддерживать уровень 30-50% Дни 7-14: поддерживать уровень 20-40%	100 МЕ/кг (начальная доза) Повторную дозу при 80 МЕ/кг следует рассматривать через 6-10 часов и затем через каждые 24 часов в течение первых 3 дней. На основании длительного периода полужизни rFIXFc, доза может быть уменьшена и частота введения дозы в послеоперационной обстановке может быть увеличена после 3-го дня каждые 48 часов.

Взято из: Roberts and Eberst WFH 2008 и WFH 2012.

*См. фармакокинетику (пример 5 ниже).

Для плановой профилактики рекомендуемые начальные схемы лечения могут быть: 50 МЕ/кг один раз в неделю или 100 МЕ/кг один раз каждые 10-14 дней. Любая схема лечения может быть скорректирована, основываясь на реакции субъекта (см. фармакокинетику, пример 5 ниже).

rFIXFc противопоказан субъектам, которые проявляют тяжелые реакции гиперчувствительности, включая анафилаксию, к продукту или его компонентам.

Клинический ответ на rFIXFc может варьировать. Если кровотечение не останавливается несмотря на рекомендованную дозу, уровень фактора IX плазмы крови может быть определен, и достаточная доза rFIXFc может быть введена для достижения удовлетворительной клинической реакции. Если уровень фактора IX в плазме субъекта не повышается, как ожидалось, или если кровотечение не останавливается после введения rFIXFc, плазма субъекта может быть проверена на наличие ингибиторов, например нейтрализующих антител. Субъекты, использующие rFIXFc, могут следить за развитием ингибиторов фактора IX с помощью соответствующих клинических наблюдений и лабораторных тестов, известных специалистам в данной области техники.

Плазма субъекта может быть обследована на уровень активности фактора IX путем выполнения, например, одноэтапного анализа коагулирующей активности, для подтверждения того, что надлежащий уровень фактора IX был достигнут и поддерживается при наличии клинических показаний. Плазма субъекта также может быть обследована на развитие ингибиторов фактора IX.

Пример 4. Дизайн клинического исследования B-LONG

Дизайн является всемирным, открытым, многоцентровым исследованием Фазы 3.

Задачи состоят в оценке эффективности и безопасности внутривенного введения рекомбинантного Fc слитого белка фактора IX (rFIXFc), в остановке и предотвращении эпизодов кровотечения, плановой профилактики и периперационном управлении у лиц с тяжелой формой гемофилии В.

Основные критерии включения: (a) мужчина, (b) старше 12 лет, (c) имеющий диагноз тяжелой фор-

мы гемофилии В определенной как $\leq 2\%$ (≤ 2 МЕ/дл FIX:C) активности эндогенного фактора IX, и (d), имеющий историю с ≥ 100 ранее документально доказанными днями экспозиции с любым находящимся сегодня на рынке продуктом FIX.

Группа лечения включает группу 1 (еженедельная профилактика), группу 2 (индивидуализированный интервал профилактики), группу 3 (эпизодическое [при необходимости] лечение) и группу 4 (периоперационное управление).

В группе 1 (еженедельная профилактика) субъекты получали лечение еженедельно с начальной дозой 50 МЕ/кг, которая впоследствии была отрегулирована, для поддержания достаточных для предотвращения кровотечения минимальных уровней фактора.

В группе 2 (индивидуализированный интервал профилактики), субъекты получали 100 МЕ/кг при начальном интервале в 10 дней, которые впоследствии были отрегулированы, для поддержания достаточных для предотвращения кровотечения минимальных уровней фактора.

В группе 3 (эпизодическое [при необходимости] лечение), субъекты получали эпизодическое лечение rFIXFc по мере необходимости из-за кровотечения.

В группе 4 (периоперационное управление), rFIXFc вводился до и после серьезной операции; субъектам было разрешено записываться непосредственно в хирургические группы и затем переходить в одну из групп лечения (группу 1, 2 или 3) после операции; или переходить в хирургическую группу из другой группы в периоперативный период, если они имели необходимость в операции во время клинического исследования.

Для оценки ФК все субъекты во всех группах имели первоначальную оценку ФК после их первой дозы rFIXFc. Подгруппа субъектов из группы 1 была отнесена к определенной в протоколе последовательной ФК подгруппе для сравнения ФК rFIXFc с рекомбинантным фактором IX (rFIX, BENEFIX®) следующим образом: (1) до лечения в группе 1, ФК оценивали после однократной дозы BENEFIX® 50 МЕ/кг. ФК затем оценивали в этих же субъектах после однократной дозы rFIXFc 50 МЕ/кг; и (2) ФК rFIXFc повторили на неделе 26.

Ключевые критерии эффективности результатов включают (1) годовую интенсивность кровотечений (ГИК) в группах 1, 2 и 3 ((i) группа еженедельной профилактики сравнивалась с группой эпизодического лечения, и (ii) группа индивидуализированного интервала профилактики сравнивалась с группой эпизодического лечения); (2) количество инъекций необходимое для остановки эпизода кровотечения; и (3) обработку наблюдений врачей относительно реакции субъектов на хирургию с rFIXFc по 4-балльной шкале.

Фармакокинетические (ФК) критерии эффективности включают ФК rFIXFc и рекомбинантного фактора IX (rFIX, BENEFIX®).

Ключевые критерии эффективности безопасности включают: (a) частоту развития ингибитора, и (b) частоту нежелательных явлений (НЯ), возникающую вне группы периоперационного управления (группа 1, 2 и 3, но не 4).

Результаты B-LONG.

Субъекты.

Безопасность, эффективность и фармакокинетика rFIXFc была оценена в многоцентровом, открытом, проспективном исследовании в сравнении с эффективностью каждой из 2 профилактических схем лечения в эпизодическом (при необходимости) лечении; определена кровоостанавливающая эффективность при лечении эпизодов кровотечения; и определена кровоостанавливающая эффективность во время периоперационного управления субъектами, подвергающихся крупным хирургическим вмешательствам. В общей сложности 123 ранее лечившихся субъектов (PTR) в возрасте 12-71 лет с тяжелой формой гемофилии В ($\leq 2\%$ эндогенной активности FIX) находились под наблюдением до 77 недель. 93,5% субъектов завершили исследование, из них 115 субъектов получали лечение по меньшей мере 26 недель и 56 субъектов получали лечение в течение по меньшей мере 52 недель.

Шестьдесят три (63) субъекта в группе с фиксированным еженедельным интервалом получали rFIXFc для плановой профилактики, начиная с начальной дозы 50 МЕ/кг. Доза была скорректирована для поддержания минимального уровня от 1 до 3% выше исходного уровня или выше клинических показаний для предотвращения кровотечения. Средняя еженедельная доза в течение последних 6 месяцев исследования у 58 субъектов, которые были на исследовании, по меньшей мере 9 месяцев составляла 40,7 МЕ/кг (межквартильный диапазон, 32,3, 54,1).

Двадцать девять (29) субъектов в группе с индивидуализированным интервалом получали rFIXFc для плановой профилактики в дозе 100 МЕ/кг каждые 10 дней, с интервалом, скорректированным для поддержания минимального уровня от 1 до 3% выше исходного уровня согласно клиническим показаниям для предотвращения кровотечения. Средний интервал в течение последних 6 месяцев у 26 субъектов, которые были на исследовании, по меньшей мере 9 месяцев составил 13,8 дня (межквартильный диапазон, 10,5, 14,0).

Двадцать семь (27) субъектов получали rFIXFc по мере необходимости для лечения эпизодов кровотечения в группе эпизодического (при необходимости) лечения.

Двенадцать (12) субъектов получали rFIXFc для периоперационного управления в 14 крупных хирургических вмешательствах. Четыре субъекта не участвовали в других группах.

Эффективность в плановой профилактике.

Наблюдалось снижение в годичной интенсивности кровотечений (ГИК) на 83% (от 76 до 89%) у субъектов, находящихся в группе с фиксированным еженедельным интервалом и снижение на 87% (от 80 до 92%) у субъектов в группе с индивидуализированным интервалом в сравнении с группой эпизодического (при необходимости) лечения на основе отрицательной биномиальной модели.

Средняя продолжительность лечения исследования составляла 51,4 недели (диапазон <1-77). Сравнение ГИК у субъектов, подходящих для анализа на эффективность, представлено в табл. 7.

Таблица 7. Сводка результатов средней (IQR*) годичной интенсивности кровотечения (ГИК) по группе лечения

Этиология эпизода кровотечения	Профилактический фиксированный еженедельный интервал (N=61)	Профилактический индивидуализированный интервал (N=26)	Эпизодический (при необходимости) (N=27)
Средняя общая ГИК (IQR)	2,95 (1,01, 4,35)	1,38 (0,00, 3,43)	17,69 (10,77, 23,24)
Средняя спонтанная ГИК (IQR)	1,04 (0,00, 2,19)	0,88 (0,00, 2,30)	11,78 (2,62, 19,78)
Средняя травматическая ГИК (IQR)	0,99 (0,00, 2,13)	0,00 (0,00, 0,78)	2,21 (0,00, 6,81)

*IQR - межквартильный диапазон.

Эффективность в остановке кровотечения.

В общей сложности 636 кровотечений наблюдались в группах с фиксированной дозой, фиксированным интервалом и эпизодическим (при необходимости). Оценка реакции на каждую инъекцию была зафиксирована у субъектов в 8-12 ч после лечения. Эпизоды кровотечения представлены в табл. 8.

Таблица 8. Сводка результатов эффективности в остановке кровотечения

Новые эпизоды кровотечения (N= 636)	
# Инъекций для лечения эпизодов кровотечения	
1 инъекция	575 (90,4%)
2 инъекции	44 (6,9%)
3 инъекции	17 (2,7%)
Средняя доза на инъекцию (МЕ/кг) для лечения эпизодов кровотечения (IQR)	46,07 (32,86, 57,03)
Средняя общая доза (МЕ/кг) для лечения эпизода кровотечения (IQR)	46,99 (33,33, 62,50)
Реакция на первую инъекцию (N= 613)	
Отлично или хорошо	513 (83,7%)
Средне	90 (14,7%)
Нет реакции	10 (1,6%)

Эффективность в периоперационном управлении (хирургической профилактике).

Четырнадцать (14) крупных хирургических вмешательств проводились у 12 субъектов. Гемостаз был оценен исследователем через 24 ч после операции, пользуясь 4-балльной шкалой: отлично, хорошо, удовлетворительно и отсутствует. Гемостатическая реакция получила оценку отлично или хорошо в 100% крупных операций. Ни у одного субъекта не было клинических признаков тромботических осложнений. Гемостатическая реакция на дозирование во время операции и в послеоперационном периоде представлена в табл. 9.

Таблица 9. Сводка результатов гемостатической реакции во время операции и за послеоперационный период

Значительная Операция	Количество Процедур (Количество Пациентов)	Отлично	Реакция		
			Хорошо	Удовлетворительно	Слабо/Отсутствует
Полная замена коленного сустава	5 (5)	4	1		
Артроскопическая процедура	1 (1)	1			
Артроскопия голеностопного сустава	1 (1)	1			
Закрытие прямокишечного свища	1 (1)	1			
Внешняя фиксация колена	1 (1)	1			
Транспозиция сухожилия	1 (1)	1			
В и Д ¹ зубного абсцесса с экстракцией	1 (1)	1			
В и Д ¹ пионидальной кисты	1 (1)	1			
Хирургическая обработка раны, частичная ампутация	1 (1)	1			
Ампутация пальца	1 (1)	1			
Незначительная операция²	15 (13)	10	1	1	

¹Вскрытие и дренирование.²Оценка реакции не предусмотрена для 3 незначительных операций.

Влияние на качество жизни.

Качество жизни оценивалось с помощью НАЕМ-A-QoL, качество жизни, характерное для больных гемофилией. НАЕМ-A-QoL осуществлялась у взрослых (в возрасте 18 лет и старше) в группах профилактического лечения. Изменение от исходного уровня на 26-й неделе в объединенных группах профилактики по схеме лечения предварительного исследования приведены в табл. 10.

Таблица 10. Среднее изменение от исходного уровня по Анкете Наем-A-QoL (группы фиксированного еженедельного интервала и индивидуализированного интервала объединены)

	Схема лечения предварительного исследования					
	Профилактика			Эпизодическая (при необходимости)		
	N	Изменение от исходного уровня		N	Изменение от исходного уровня	
Общее количество	27	-6,82	(-22,8, 6,1)	26	-6,25	(-25,5, 12,8)
Области, в течение прошлого месяца						
1. Физическое здоровье	27	-10,00	(-45,0, 20,0)	31	-15,00	(-60,0, 15,0)
2. Самочувствие	27	0,00	(-43,8, 50,0)	31	0,00	(-43,8, 62,5)
3. Вид	27	-5,00	(-25,0, 15,0)	30	-5,00	(-35,0, 25,0)
4. Спорт и отдых	22	-7,50	(-70,0, 25,0)	21	-20,00	(-40,0, 35,0)
5. Работа и школа	22	0,00	(-31,3, 52,1)	25	-6,25	(-31,3, 18,8)

	Схема лечения предварительного исследования					
	Профилактика			Эпизодическая (при необходимости)		
	N	Изменение от исходного уровня		N	Изменение от исходного уровня	
6. Борьба с гемофилией	27	0,00	(-100,0, 100,0)	31	-8,33	(-66,7, 75,0)
7. Лечение	27	-6,25	(-18,8, 18,8)	31	0,00	(-53,1, 37,5)
Области, в последнее время						
8. Будущее	26	-5,00	(-25,0, 10,0)	30	0,00	(-30,0, 20,0)
9. Планирование семьи	15	0,00	(-29,2, 12,5)	13	0,00	(-43,8, 25,0)
10. Партнерство и половая жизнь	26	0,00	(-50,0, 66,7)	30	0,00	(-25,0, 25,0)
ПРИМЕЧАНИЕ: Сводные статистические данные средние (минимум, максимум).						

Средний интервал дозирования в группе индивидуализированного интервала профилактики составил 14 дней в течение последних 6 месяцев исследования.

Остановка кровотечения: более 90% (90,4%) эпизодов кровотечения были остановлены одноразовой инъекцией rFIXFc.

Периоперационное управление. Лечащие врачи оценили гемостатическую эффективность rFIXFc как отличную или хорошую в 100% операций.

Нежелательные лекарственные реакции (НЛР) были зарегистрированы в 10 из 119 (8,4%) субъектов, получавших плановую профилактику или эпизодическую (при необходимости) терапию. Нежелательные лекарственные реакции считаются побочными эффектами, определенные исследователем как соответствующие или, возможно, связанные с лечением rFIXFc. Нежелательные лекарственные реакции приведены в табл. 11.

Ни один субъект не был досрочно исключен из исследования из-за побочных эффектов препарата. В исследовании не были обнаружены ингибиторы и не было зарегистрировано ни одного случая анафилаксии.

Таблица 11. Нежелательные лекарственные реакции, подтвержденные для rFIXFc

Класс системы органов по MedDRA	Термин предпочтительного употребления по MedDRA	N=119* Количество пациентов n (%)
Расстройства нервной системы	Головная боль	2 (1,7)
	Головокружение	1 (0,8)
	Дисгевзия	1 (0,8)
Желудочно-кишечные расстройства	Парестезия слизистой оболочки рта	2 (1,7)
	Запах изо рта	1 (0,8)
Общие нарушения и состояние места ввода препарата	Усталость	1 (0,8)
	Боль в месте инфузии	1 (0,8)
Сердечные заболевания	Учащенное сердцебиение	1 (0,8)
Расстройства почек и мочеиспускания	Обструктивная уретопатия	1 (0,8)
Сосудистые расстройства	Гипотония	1 (0,8)

*119 - ранее лечившиеся субъекты (RTPs) на рутинной профилактике или эпизодической (при необходимости) терапии.

Приведенная ниже частота побочных реакций выражается в соответствии со следующими категориями:

- очень часто ($\geq 1/10$);
- часто (от $\geq 1/100$ до $< 1/10$);
- не часто (от $\geq 1/1000$ до $< 1/100$);
- редко (от $\geq 1/10000$ до $< 1/1000$);

очень редко ($<1/10000$).

Пример 5. Фармакодинамика и фармакокинетика.

Фармакодинамика.

rFIXFc является полностью рекомбинантным слитым белком длительного действия, который временно заменяет отсутствующий фактор IX свертывания крови, необходимый для эффективного гемостаза. rFIXFc содержит Fc-область иммуноглобулина G1 (IgG1) человека, который связывается с неонатальным рецептором Fc (FcRn), являющимся частью естественного пути, задерживающего деградацию лизосом иммуноглобулинов циклически возвращая их обратно в кровоток, и также отвечает за их длительный период полувыведения из плазмы.

rFIXFc является полностью рекомбинантным слитым белком длительного действия, содержащим фактор коагуляции IX (FIX) человека ковалентно связанным с доменом Fc иммуноглобулина G1 (IgG1) человека, и производящимся с помощью технологии рекомбинантной ДНК.

Фактор IX (FIX) является витамин К-зависимой сериновой протеазой с массой около 55 кДа, которая является существенным фактором свертывания в каскаде коагуляции, важном для процесса гемостаза. FIX обычно преобразуется в активированный FIX (FIXa) с помощью комплекса активированный фактор VII/Тканевой фактор, или активированного фактора XI. FIXa образует комплекс с активированным фактором VIII на фосфолипидных поверхностях для преобразования фактора X в активированный фактор X, и который, в конечном счете превращает протромбин в тромбин и приводит к образованию фибринового сгустка.

Субъекты с гемофилией В имеют дефицит функционального FIX, что приводит к длительному кровотечению после травмы и периодическим спонтанным кровотечениям в мягкие ткани и суставы. FIX часть rFIXFc имеет аналогичные структурные и функциональные характеристики, что и эндогенный FIX, а также способствует гемостазу путем коррекции дефицита функционального FIX.

Другая часть rFIXFc является Fc-областью иммуноглобулина G1 (IgG1) человека, который связывается с неонатальным Fc (FcRn) рецептором. Этот рецептор экспрессируется на протяжении всей жизни как часть естественного пути, который защищает от лизосомальной деградации иммуноглобулина, циклически возвращая эти белки обратно в кровоток, что приводит к их длительному периоду полувыведения из плазмы.

rFIXFc используется в качестве заместительной терапии для повышения уровня активности фактора IX в плазме крови, таким образом обеспечивая временную коррекцию дефицита фактора и устранение склонности к кровотечениям.

Гемофилия является расстройством кровотечения и характеризуется дефицитом функционального фактора свертывания IX (FIX), что приводит к продленному времени свертывания крови в анализе активированного частичного тромбопластинового времени (аЧТВ), обычный *in vitro* тест на биологическую активность FIX. Лечение rFIXFc может сократить аЧТВ за эффективный период дозирования.

Фармакокинетика.

Фармакокинетика (ФК) rFIXFc против BENEFIX® [nonacog alfa] (rFIX) оценивалась после 10-минутной внутривенной инфузии у 22 анализируемых субъектов (≥ 19 лет) клинического исследования. Субъекты подверглись 5-дневному периоду вымывания до приема 50 МЕ/кг BENEFIX®. Отбор ФК проводили перед введением дозы с последующей оценкой на 8 временных точках до 96 ч после введения дозы. После периода вымывания в 120 ч (5 дней), субъекты получили одну дозу 50 МЕ/кг rFIXFc. Образцы ФК были собраны перед введением дозы и затем соответственно на 11 временных точках до 240 ч (10 дней) после введения дозы. Повторная оценка ФК rFIXFc была проведена на 26-й неделе.

Показатели ФК для rFIXFc были оценены на основе активности FIX плазмы крови по профилю времени. Для rFIXFc максимальная активность ($C_{\text{макс}}$) наблюдалась сразу после инфузии, например через 10 м от начала приема препарата. Среднее геометрическое увеличение активности циркулирующего FIX от преинфузного уровня составляет 0,92 МЕ/дл на МЕ/кг, и период полувыведения составлял 82 ч. Этот период полувыведения зависит от Fc-области rFIXFc, который, как было показано на животных моделях, опосредованный циклом метаболического пути FcRn. Профиль ФК rFIXFc был стабильным на протяжении повторных дозировок, как показано на сопоставимых параметрах ФК 26-й недели.

Сводка показателей ФК для rFIXFc и BENEFIX® предоставлена в табл. 12.

Таблица 12. Фармакокинетические параметры rFIXFc и BENEFIX® (rFIX)

ФК Параметры ¹	rFIXFc (95% ДИ)	BeneFIX® (95% ДИ)	Соотношение rFIXFc к BeneFIX® (95% ДИ)
	N=22	N=22	N=22
C _{макс} (МЕ/дл)	40,81 (33,60, 49,58)	43,08 (36,69, 50,59)	0,95 (0,81, 1,11)
ППК/Доза (МЕ*ч/дл на МЕ/кг)	31,32 (27,88, 35,18)	15,77 (14,02, 17,74)	1,99 (1,82, 2,17)
t _{1/2α} (ч)	5,03 (3,20, 7,89)	2,41 (1,62, 3,59)	2,09 (1,18, 3,68)
t _{1/2β} (ч)	82,12 (71,39, 94,46)	33,77 (29,13, 39,15)	2,43 (2,02, 2,92)
КО (мл/ч/кг)	3,19 (2,84, 3,59)	6,34 (5,64, 7,13)	0,50 (0,46, 0,55)
СВУ (ч)	98,60 (88,16, 110,29)	41,19 (35,98, 47,15)	2,39 (2,12, 2,71)
V _{ss} (мл/кг)	314,8 (277,8, 356,8)	261,1 (222,9, 305,9)	1,21 (1,06, 1,38)
Постепенное Восстановление (МЕ/дл на МЕ/кг)	0,92 (0,77, 1,10)	0,95 (0,81, 1,10)	0,97 (0,84, 1,12)

¹Параметры ФК представлены как среднее геометрическое (95% ДИ).

Сокращения: ДИ - доверительный интервал; C_{макс} - максимальная активность; ППК - площадь под кривой времени активности FIX; t_{1/2α} - период полураспределения; t_{1/2β} - период полувыведения; КО - коэффициент очищения; СВУ - среднее время удержания; V_{ss} - объем распределения в равновесном состоянии.

Модель совокупности ФК была разработана на основе данных от 135 субъектов, от 12 до 76 лет и весом от 45 до 186,7 кг, в двух клинических исследованиях (12 субъектов в фазе 1/2а исследования и 123 субъекта в фазе 3 исследования). Оценка численности населения для обычного КО rFIXFc составляет 2,39 дл/ч, типичный объем центральной камеры (V_i) составляет 71,4 дл, и V_{ss} составляет 198,3 дл. Среднее геометрическое конечного периода полувыведения rFIXFc составляло около 82 ч, что в 2,4 раза больше, чем такое у BENEFIX® (около 34 ч).

Все субъекты имели первоначальную оценку ФК для характеристики ФК rFIXFc в репрезентативной популяции субъектов с гемофилией В.

Более обширный отбор ФК был проведен в подгруппе субъектов в группе еженедельной профилактики (группа 1) при базовом уровне после однократной дозы BENEFIX® 50 МЕ/кг с последующей однократной дозой rFIXFc 50 МЕ/кг. Образцы крови были взяты на BENEFIX® в течение 96 ч. Образцы крови были взяты на rFIXFc в течение 240 ч. Оценка ФК rFIXFc была повторена через 26 недель.

100-МЕ/кг доза была выбрана на основании результатов ФК из фазы 1/2 исследования, которые показали, что эта доза повышает уровни FIX на около 100% от нормального (Shapiro et al., 2011). В фазе 1/2 исследования, с rFIXFc 100 МЕ/кг (n=5), время до уровней FIX 1% выше исходного уровня составляло около 11 дней, и варьировалось от 9 до 14 дней. Основываясь на этих данных, группа 2 была разработана для проверки, может ли фиксированная доза в 100 МЕ/кг обеспечить защиту от кровотечения после одной недели.

Конечный период полувыведения BENEFIX®, определенный в B-LONG, составлял около 34 ч и был дольше, чем сообщалось в инструкции по применению препарата BENEFIX® (~18 ч), а также в ряде исследований (от 13,7 до 19,3 ч) (Ewenstein 2002; Kisker et al. 2003; Negrier et al., 2011), что соответствует руководящим принципам ЕМА оценки FIX ФК с использованием отбора проб продолжительностью в 48 ч. Тем не менее, в опубликованных исследованиях ФК, в которых BENEFIX® отбирался до 72 ч после дозирования, более длительный конечный период полувыведения, как сообщалось, был от 21,3 до 33,4 ч (Ragni et al., 2002, Lambert et al., 2007, Chang et al., 2007 и Martinowitz et al., 2012).

Чтобы определить, есть ли расхождение в конечном периоде полувыведения BENEFIX® в результате более длительного 96-часового графика отбора ФК, принятого в данном исследовании, данные ФК BENEFIX® были также проанализированы с использованием данных только до 48 ч после введения до-

зы. Этот анализ дал существенно сокращенный конечный период полувыведения BENEFIX® (~17 ч), что согласуется с предыдущими докладами, использующими 48-часовую продолжительность отбора проб.

В исследовании B-LONG между rFIXFc и BENEFIX® было сделано прямое сравнительное исследование, в то время как в фазе 1/2 исследования период полувыведения rFIXFc был сравнен с предыдущими данным отмеченными в листке-вкладыше BENEFIX® (2009). Таким образом, измерение улучшения ФК rFIXFc над BENEFIX® из исследования B LONG, является более надежным и точным.

Предшествующее описание конкретных вариантов реализации изобретения настолько полно раскрывает общий характер изобретения, что другие могут, применяя знания в данной области техники, с готовностью модифицировать и/или адаптировать для различных приложений такие конкретные варианты реализации изобретения без излишнего экспериментирования, не отходя от общей концепции настоящего изобретения. Следовательно, такие адаптации и модификации предназначены для того, чтобы находиться в пределах смысла и диапазона эквивалентов раскрытых вариантов реализации изобретения, на основании обучения и рекомендаций, представленных в данном документе. Следует понимать, что фразеология или терминология в данном документе предназначены для описания, а не ограничения, так что терминологию или фразеологию настоящего описания следует интерпретировать специалисту в данной области техники в свете учений и руководств.

Другие варианты реализации изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники из рассмотрения описания и практического применения изобретения, раскрытого в данном документе. Предполагается, что описание и примеры рассматриваются только в качестве примеров, с истинным объемом и сущностью изобретения указаны в прилагаемой формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для уменьшения или предотвращения эпизода кровотечения у субъекта, нуждающегося в этом, содержащая:

(а) от 25 до 800 МЕ/мл полипептида фактора IX, содержащего фактор IX человека, слитый с партнером по связыванию FcRn (FBP) (полипептид rFIXFBP), причем партнер по связыванию FcRn является Fc-областью и причем полипептид фактора IX является rFIXFc полипептидом, содержащим первую субъединицу, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную аминокислотам 1-642 из SEQ ID NO: 2, и вторую субъединицу, которая содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную аминокислотам 1-227 из SEQ ID NO: 4;

(b) от 10 до 20 мг/мл сахарозы;

(c) от 20 до 40 мг/мл маннитола;

(d) от 3 до 4 мг/мл NaCl;

(e) от 3 до 6 мг/мл L-гистидина; и

(f) от 0,08 до 0,2 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, содержащая:

(a) от 50 до 800 МЕ/мл полипептида фактора IX;

(b) от 11,9 до 16,7 мг/мл сахарозы;

(c) от 23,8 до 33,3 мг/мл маннитола;

(d) 3,25 мг/мл NaCl;

(e) от 3,88 до 5,43 мг/мл L-гистидина; и

(f) от 0,1 до 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

3. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая 11,9 мг/мл сахарозы.

4. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая 16,7 мг/мл сахарозы.

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-4, содержащая 23,8 мг/мл маннитола.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-4, содержащая 33,3 мг/мл маннитола.

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1 и 3-6, содержащая 3,25 мг/мл NaCl.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-7, содержащая 3,88 мг/мл L-гистидина.

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-7, содержащая 5,43 мг/мл L-гистидина.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, содержащая 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

11. Фармацевтическая композиция формулы изобретения по любому из пп.1-9, содержащая 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, содержащая 50 МЕ/мл полипептида фактора IX.

13. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, содержащая 100 МЕ/мл полипептида фактора IX.

14. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, содержащая 200 МЕ/мл полипептида фактора IX.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, содержащая 400 МЕ/мл полипептида фактора IX.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, содержащая 600 МЕ/мл полипептида фактора IX.

17. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-11, содержащая 800 МЕ/мл полипептида фактора IX.

18. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая:

- (a) 50 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (b) 11,9 мг/мл сахарозы;
- (c) 23,8 мг/мл маннитола;
- (d) 3,25 мг/мл NaCl;
- (e) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
- (f) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

19. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая:

- (a) 100 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (b) 11,9 мг/мл сахарозы;
- (c) 23,8 мг/мл маннитола;
- (d) 3,25 мг/мл NaCl;
- (e) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
- (f) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

20. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая:

- (a) 200 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (b) 11,9 мг/мл сахарозы;
- (c) 23,8 мг/мл маннитола;
- (d) 3,25 мг/мл NaCl;
- (e) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
- (f) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

21. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая:

- (a) 400 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (b) 11,9 мг/мл сахарозы;
- (c) 23,8 мг/мл маннитола;
- (d) 3,25 мг/мл NaCl;
- (e) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
- (f) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

22. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая:

- (a) 600 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (b) 16,7 мг/мл сахарозы;
- (c) 33,3 мг/мл маннитола;
- (d) 3,25 мг/мл NaCl;
- (e) 5,43 мг/мл L-гистидина; и
- (f) 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

23. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая:

- (a) 600 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (b) 11,9 мг/мл сахарозы;
- (c) 23,8 мг/мл маннитола;
- (d) 3,25 мг/мл NaCl;
- (e) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
- (f) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

24. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, содержащая:

- (a) 800 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (b) 11,9 мг/мл сахарозы;
- (c) 23,8 мг/мл маннитола;
- (d) 3,25 мг/мл NaCl;
- (e) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
- (f) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

25. Фармацевтический набор для уменьшения или предотвращения эпизода кровотечения у субъекта, нуждающегося в этом, содержащий:

а) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок или пористое вещество, при этом порошок или пористое вещество содержит:

(а) от 200 до 4000 МЕ полипептида фактора IX, содержащего фактор IX человека, слитый с партнером по связыванию FcRn (FBP) (полипептид rFIXFBP), причем партнер по связыванию FcRn является Fc-областью и причем полипептид фактора IX является rFIXFc полипептидом, содержащим первую субъединицу, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную аминокислотам 1-642 из SEQ ID NO: 2, и вторую субъединицу, которая содержит аминокислотную последо-

вательность, по меньшей мере на 95% идентичную аминокислотам 1-227 из SEQ ID NO: 4;

- (ii) 59,5 мг или 83,3 мг сахарозы;
- (iii) 119 мг или 167 мг маннитола;
- (iv) 19,4 мг или 27,2 мг L-гистидина; и
- (v) 0,50 мг или 0,7 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и

б) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) раствора NaCl в объеме, достаточном для получения, при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:

- (a) от 50 до 800 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (ii) 11,9 или 16,7 мг/мл сахарозы;
- (iii) 23,8 или 33,3 мг/мл маннитола;
- (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
- (v) 3,88 или 5,43 мг/мл L-гистидина; и
- (vi) 0,10 или 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

26. Фармацевтический набор по п.25, содержащий:

(a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит:

- (i) от 200 до 4000 МЕ полипептида фактора IX;
- (ii) 59,5 или 83,3 мг сахарозы;
- (iii) 119 или 167 мг маннитола;
- (iv) 19,4 или 27,2 мг L-гистидина; и
- (v) 0,50 или 0,7 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и

(b) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) NaCl в объеме, достаточном для получения,

при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:

- (i) 50, 100, 200, 400, 600 или 800 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (ii) 11,9 или 16,7 мг/мл сахарозы;
- (iii) 23,8 или 33,3 мг/мл маннитола;
- (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
- (v) 3,88 или 5,43 мг/мл L-гистидина; и
- (vi) 0,10 или 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

27. Фармацевтический набор по п.25 или 26, содержащий:

(a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит:

- (i) 250 МЕ полипептида фактора IX,
- (ii) 59,5 мг сахарозы;
- (iii) 119 мг маннитола;
- (iv) 19,4 мг L-гистидина; и
- (v) 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и

(b) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) NaCl в объеме, достаточном для получения,

при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:

- (i) 50 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (ii) 11,9 мг/мл сахарозы;
- (iii) 23,8 мг/мл маннитола;
- (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
- (v) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
- (vi) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

28. Фармацевтический набор по п.25 или 26, содержащий:

(a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит:

- (i) 500 МЕ полипептида фактора IX;
- (ii) 59,5 мг сахарозы;
- (iii) 119 мг маннитола;
- (iv) 19,4 мг L-гистидина; и
- (v) 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и

(b) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) NaCl в объеме, достаточном для получения,

при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:

- (i) 100 МЕ/мл полипептида фактора IX;
- (ii) 11,9 мг/мл сахарозы;
- (iii) 23,8 мг/мл маннитола;
- (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
- (v) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
- (vi) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.

29. Фармацевтический набор по п.25 или 26, содержащий:

(a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит:

- (i) 1000 МЕ полипептида фактора IX;

- (ii) 59,5 мг сахарозы;
 - (iii) 119 мг маннитола;
 - (iv) 19,4 мг L-гистидина; и
 - (v) 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и
 - (b) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) NaCl в объеме, достаточном для получения, при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:
 - (i) 200 МЕ/мл полипептида фактора IX;
 - (ii) 11,9 мг/мл сахарозы;
 - (iii) 23,8 мг/мл маннитола;
 - (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
 - (v) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
 - (vi) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.
30. Фармацевтический набор по п.25 или 26, содержащий:
- (a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит:
 - (i) 2000 МЕ полипептида фактора IX,
 - (ii) 59,5 мг сахарозы;
 - (iii) 119 мг маннитола;
 - (iv) 19,4 мг L-гистидина; и
 - (v) 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и
 - (b) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) NaCl в объеме, достаточном для получения, при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:
 - (i) 400 МЕ/мл полипептида фактора IX;
 - (ii) 11,9 мг/мл сахарозы;
 - (iii) 23,8 мг/мл маннитола;
 - (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
 - (v) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
 - (vi) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.
31. Фармацевтический набор по п.25 или 26, содержащий:
- (a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит:
 - (i) 3000 МЕ полипептида фактора IX,
 - (ii) 83,3 мг сахарозы;
 - (iii) 167 мг маннитола;
 - (iv) 27,2 мг L-гистидина; и
 - (v) 0,7 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и
 - (b) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) NaCl в объеме, достаточном для получения, при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:
 - (i) 600 МЕ/мл полипептида фактора IX;
 - (ii) 16,7 мг/мл сахарозы;
 - (iii) 33,3 мг/мл маннитола;
 - (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
 - (v) 5,43 мг/мл L-гистидина; и
 - (vi) 0,14 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.
32. Фармацевтический набор по п.25 или 26, содержащий:
- (a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит:
 - (i) 3000 МЕ полипептида фактора IX,
 - (ii) 59,5 мг сахарозы;
 - (iii) 119 мг маннитола;
 - (iv) 19,4 мг L-гистидина; и
 - (v) 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и
 - (b) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) NaCl в объеме, достаточном для получения, при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:
 - (i) 600 МЕ/мл полипептида фактора IX;
 - (ii) 11,9 мг/мл сахарозы;
 - (iii) 23,8 мг/мл маннитола;
 - (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
 - (v) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
 - (vi) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.
33. Фармацевтический набор по п.25 или 26, содержащий:
- (a) первый контейнер, содержащий лиофилизированный порошок, при этом порошок содержит:
 - (i) 4000 МЕ полипептида фактора IX;
 - (ii) 59,5 мг сахарозы;
 - (iii) 119 мг маннитола;

- (iv) 19,4 мг L-гистидина; и
- (v) 0,50 мг полисорбата 20 или полисорбата 80; и
- (b) второй контейнер, содержащий 0,325% (мас./об.) NaCl в объеме, достаточном для получения, при объединении с лиофилизированным порошком из первого контейнера, раствора, содержащего:
 - (i) 800 МЕ/мл полипептида фактора IX;
 - (ii) 11,9 мг/мл сахарозы;
 - (iii) 23,8 мг/мл маннитола;
 - (iv) 3,25 мг/мл NaCl;
 - (v) 3,88 мг/мл L-гистидина; и
 - (vi) 0,10 мг/мл полисорбата 20 или полисорбата 80.
- 34. Набор по любому из пп.25-33, отличающийся тем, что первый контейнер является стеклянным флаконом, содержащим резиновую пробку.
- 35. Набор по любому из пп.25-34, отличающийся тем, что второй контейнер является корпусом шприца и отличающийся тем, что корпус шприца сопряжен с поршнем.
- 36. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-24, отличающаяся тем, что полипептид rFIXFc содержит первую субъединицу, содержащую аминокислоты от 1 до 642 из SEQ ID NO: 2, и вторую субъединицу, содержащую аминокислоты 1-227 из SEQ ID NO: 4.
- 37. Фармацевтический набор по любому из пп.25-35, отличающийся тем, что полипептид rFIXFc содержит первую субъединицу, содержащую аминокислоты от 1 до 642 из SEQ ID NO: 2, и вторую субъединицу, содержащую аминокислоты 1-227 из SEQ ID NO: 4.
- 38. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-24, которая является жидким составом, лиофилизированным порошком или суспензией.
- 39. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-24, 36 или 38, отличающаяся тем, что первая субъединица и вторая субъединица связаны друг с другом через две дисульфидные связи в шарнирном регионе Fc.
- 40. Фармацевтический набор по любому из пп.25-35 или 37, отличающийся тем, что первая субъединица и вторая субъединица связаны друг с другом через две дисульфидные связи в шарнирном регионе Fc.
- 41. Способ уменьшения или предотвращения эпизода кровотечения у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-24, 36, 38 или 39.
- 42. Способ лечения гемофилии В у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-24, 36, 38 или 39.

