

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2014149089, 22.06.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.06.2012

(43) Дата публикации заявки: 10.08.2016 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 22.01.2015(86) Заявка РСТ:
IT 2012/000193 (22.06.2012)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2013/190582 (27.12.2013)Адрес для переписки:
190000, Санкт-Петербург, ВОХ 1125,
"ПАТЕНТИКА"

(71) Заявитель(и):

ДЖЕНТИУМ С.П.А. (ИТ)

(72) Автор(ы):

**ИНЬОНИ Теренцио (ИТ),
КУМАР Виджей (ИТ),
ИСЛАМ Кхалид (СН)**(54) **СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДЕФИБРОТИДА,
ОСНОВАННЫЙ НА ПРИМЕНЕНИИ ЭУГЛОБУЛИНА**

(57) Формула изобретения

1. Способ определения биологической активности дефибротида, включающий этапы:
а) приведения в контакт дефибротида, эуглобулина млекопитающего и субстрата, специфичного для плазмينا, который в результате реакции с плазмином дает измеряемый продукт; и

б) измерения количества образовавшегося продукта в последовательных временных точках для определения биологической активности дефибротида.

2. Способ по п. 1, в котором эуглобулин представляет собой эуглобулин млекопитающего.

3. Способ по п. 2, в котором эуглобулин представляет собой эуглобулин человека, кролика или животного подсемейства бычьих.

4. Способ по п. 1, в котором плазмин, реагирующий с субстратом, специфичным для плазмينا, высвобождается плазминогеном, содержащимся в эуглобулине.

5. Способ по п. 1, в котором субстрат, специфичный для плазмينا, представляет собой хромогенный субстрат.

6. Способ по п. 1, в котором субстрат, специфичный для плазмينا, представляет собой соединение формулы $A_1-A_2-A_3-X$, где A_1 и A_2 являются неполярными аминокислотами, A_3 является лизином или аргинином и X является измеряемым продуктом.

7. Способ по п. 6, в котором измеряемый продукт X выбирают из группы, состоящей

из пара-нитроанилина и 2-нафтиламина.

8. Способ по п. 4, в котором субстратом, специфичным для плазмينا, является Н-D-валил-L-лейцил-L-лизин-п-нитроанилин.

9. Способ по п. 6, в котором измеряемый продукт X измеряют при помощи спектрофотометрии или спектрофлуорометрии.

10. Способ по п. 2, в котором эуглобулин млекопитающего ресуспендируют до объема первоначальной плазмы или разбавляют до соотношения 1:10 с приемлемым буфером, а хромогенный / флуорогенный субстрат имеет концентрацию от 2.5 до 3.5 мМ, предпочтительно 3 мМ.

11. Способ по п. 1, в котором реакционной средой является водный раствор, забуференный до рН в пределах от 7 до 8, предпочтительно до рН 7.4.

12. Способ по п. 1, в котором температуру этой системы поддерживают при 35-39°C, предпочтительно при 37°C.

13. Способ по п. 1, в котором концентрация субстрата, специфичного для плазмина, составляет от 0.3 до 4 мМ, предпочтительно от 2.5 до 3.5 мМ, более предпочтительно 3 мМ.

14. Способ по п. 1, включающий также этапы: в) определения скорости высвобождения измеряемого продукта в ходе ферментативной реакции на стандартном и анализируемом образцах дефибротида; г) математической и/или графической корреляции скорости высвобождения и соответствующей концентрации дефибротида для определения биологической активности анализируемого образца дефибротида.

15. Жидкая композиция дефибротида с биологической активностью от 25 до 35 МЕ/мг дефибротида, предпочтительно от 27.5 до 32.5 МЕ/мг и, более предпочтительно, от 28 до 32 МЕ/мг.

16. Жидкая композиция дефибротида по п. 15, отличающаяся тем, что является водным раствором.

17. Жидкая композиция дефибротида по п. 16, отличающаяся тем, что является забуференной при рН в пределах от 6.5 до 8.5, предпочтительно от 7 до 8.

18. Жидкая композиция дефибротида по пп. 15-17 для применения в лечении и профилактике веноокклюзионной болезни.

19. Набор, который содержит жидкую композицию дефибротида и имеет биологическую активность от 5000 до 7000 МЕ, предпочтительно от 5500 до 6500 МЕ, более предпочтительно от 5600 до 6400.

20. Набор по п. 19, в котором упомянутая жидкая композиция дефибротида является водным раствором.