

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
C12N 9/96
C12N 9/10 A61K 38/45



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 96102737.1

[45] 授权公告日 2004 年 5 月 12 日

[11] 授权公告号 CN 1149283C

[22] 申请日 1996.3.8 [21] 申请号 96102737.1
[30] 优先权
[32] 1995. 3. 9 [33] DE [31] 19508192.7
[71] 专利权人 阿温提斯百灵有限公司
地址 联邦德国法兰克福
[72] 发明人 H·莫茨纳 H·卡格斯
审查员 李 博

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所
代理人 杜京英

权利要求书 3 页 说明书 16 页

[54] 发明名称 稳定谷氨酰胺转移酶制剂及其生产方法

[57] 摘要

本发明涉及谷氨酰胺转移酶(例如 XIII 因子)的稳定剂型,此稳定剂型在冷冻干燥后容易溶解且没有混浊,它包括纯化谷氨酰胺转移酶以及除甘氨酸和精氨酸以外的适当与表面活性剂和/或还原剂结合的 D 和/或 L 氨基酸,它们的盐,衍生物和同系物,或二聚体或低聚体或其混合物,和/或糖或糖醇。本发明也涉及稳定蛋白制剂的制备方法及使用以上所叙的稳定剂型制备药品,此药品用于治疗以 FXIII 缺乏为特征的疾病。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 谷氨酰胺转移酶的一种稳定剂型，其中
 - i)含有纯化的谷氨酰胺转移酶；和
 - ii)含有至少一种选自除甘氨酸和精氨酸以外的 D- 和/或 L-氨基酸，其盐和其混合物；和/或
 - iii)糖或糖醇，或其混合物。
2. 权利要求 1 的稳定剂型，其还含有表面活性剂和/或还原剂。
3. 权利要求 1 中的稳定剂型，其中的谷氨酰胺转移酶是 FXIII，或者是 FXIII 的生物活性片断。
4. 权利要求 3 中的稳定剂型，其中的 FXIII 是从血浆、胎盘、血小板或巨噬/单核细胞中提取的 FXIII，或是 rFXIII，或是它们的生物活性片断。
5. 权利要求 1 的稳定剂型，其中的氨基酸是 His、Glu、Met、Thr、Lys、Ala、Ile 或 Cys，或者是他们的盐，或是其混合物。
6. 权利要求 1 的稳定剂型，其中的糖或糖醇是指蔗糖、麦芽糖、海藻糖、乳糖、山梨醇或甘露糖醇、或它们的混合物。
7. 权利要求 6 的稳定剂型，其中糖或糖醇是以与组氨酸、谷氨酸、异亮氨酸和/或丙氨酸相结合的状态存在。
8. 权利要求 2 的稳定剂型，其中的表面活性剂是 Tween80、Tween20、PEG、十六烷基醇、PVP、PVA、羊毛脂醇或脱水山梨糖醇单油酸酯。
9. 权利要求 2 的稳定剂型，其中的还原剂是任选的螯合剂存

在下的半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸、硫代甘油、硫化钠或谷胱甘肽、或其混合物。

10. 权利要求 1 的稳定剂型，其包括作为添加剂的 His/Tween80/蔗糖，His/Tween20/蔗糖，His/PEG/蔗糖或 His/Ile/PEG/蔗糖。

11. 权利要求 1 的稳定剂型，其包括作为添加剂的氨基酸/Cys/PEG/蔗糖，氨基酸/N-乙酰-Cys/PEG/蔗糖，氨基酸/硫代甘油/PEG/蔗糖或糖/还原剂/PEG，及任选的存在的螯合剂。

12. 权利要求 1 的稳定剂型，其中谷氨酰胺转移酶的浓度在 0.003 ~ 50mg/ml 范围内。

13. 权利要求 1 的稳定剂型，其中氨基酸、其盐的浓度范围为 0.01 ~ 10% 重量/体积百分比。

14. 权利要求 13 的稳定剂型，其中氨基酸、其盐、的浓度范围为 0.1 ~ 3% 重量/体积百分比。

15. 权利要求 1 的稳定剂型，其中糖或糖醇的浓度范围为 0.1 ~ 20% 重量/体积百分比。

16. 权利要求 15 的稳定剂，其中糖或糖醇的浓度范围为 0.2 ~ 10% 重量/体积百分比。

17. 权利要求 1 的稳定剂型，其中的表面活性剂的浓度在 0.00001 ~ 5% 重量/体积百分比之间。

18. 权利要求 17 的稳定剂型，其中的表面活性剂的浓度在 0.0002 ~ 0.1% 重量/体积百分比之间。

19. 权利要求 1 的稳定剂型，其中的还原剂浓度在 0.001 ~ 2% 重量/体积百分比范围内。

20. 权利要求 19 的稳定剂型, 其中的还原剂浓度在 0.005 ~ 0.5 % 重量/体积百分比范围内。
21. 权利要求 1 的稳定剂型, 其中 pH 范围为 6 ~ 9.
22. 权利要求 1 的稳定剂型, 其中 pH 范围为 7 ~ 8.
23. 权利要求 1 的稳定剂型, 其包含 pH 值在 6 ~ 9 内的硼酸盐缓冲液和/或螯合剂。
24. 权利要求 1 的稳定剂型, 其包括 pH 值在 6 ~ 9 范围内的 Tris 缓冲液和/或螯合剂。
25. 一种制备稳定蛋白质制剂的方法, 其包括将溶液或沉淀物形式的纯化蛋白质与含有权利要求 1 的稳定剂型的溶液混合并冷冻干燥。
26. 权利要求 25 的方法, 其中的蛋白质是谷氨酰胺转移酶。
27. 按照权利要求 25 的方法所稳定的谷氨酰胺转移酶用于配制治疗以 FXIII 缺乏为特征的疾病之药品。
28. 权利要求 1 的谷氨酰胺转移酶的稳定剂型在制备用于治疗以 FXIII 缺乏为特征的疾病的药物中的用途。

稳定谷氨酰胺转移酶制剂及其生产方法

本发明涉及稳定的谷氨酰胺转移酶制剂，特别是稳定的XⅢ因子制剂，及其生产方法。

XⅢ因子(FXⅢ，纤维蛋白稳定因子)是一种以酶原形式存在于血浆、血小板和单核/巨噬细胞内的谷氨酰胺转移酶，它具有重要作用，特别在保障有效的血液凝固和伤口愈合方面。从胎盘或血浆中分离出的FXⅢ，许多年来以新鲜冷冻的血浆形式已经成功地应用于XⅢ因子缺乏的治疗。同时，对于制备重组XⅢ因子(rFXⅢ)也已经成为可能。

市售的纯或次纯谷氨酰胺转移酶或FXⅢ制剂含有添加的稳定剂，比如人类血浆白蛋白(HSA)。而从加入HSA所伴有的酶制剂比活性的降低，额外的蛋白质负荷及/或潜在的致免疫性以及纯度评估上所起的不利作用这一角度讲，血浆白蛋白对蛋白质制剂是一个不利因素。尤其就高纯度蛋白(比如重组蛋白质)而言，有必要保持已获得的纯度不因加入外源性蛋白而再次降低。此外，当加入白蛋白时还有可能污染病毒抗原。

医疗上所用的蛋白制剂，其组成和活性一般在相对长时间内必须保持稳定。由于溶解状态的蛋白制剂几乎不可能达到这一要求，

因此,此类产品常以干燥状态出售。缓和的冷冻干燥是干燥此类产品所选择的方法。然而,即使使用了这种方法,满足成分完整及活性持久的稳定制剂也只能在特定条件下获得。

由于冷冻干燥破坏谷氨酰胺转移酶溶液的稳定性,例如,导致酶活性显著下降及酶溶液明显的混浊,因此,为使用纯FXⅢ制剂先前(DE-C-2063 070, JP 53/59018)已经阐述了以白蛋白和浓度相对较高的盐为基础的配方。但这些配方具有前述的加入外源蛋白的缺点及与此有关的所有问题。

也已经描述了在甘氨酸或精氨酸及非还原糖存在下rFXⅢ的冷冻干燥(WD 93/03147)。但在这一实例中,没有关于重构冷冻干燥物的稳定性、溶解性或溶解后清晰度的陈述。此外,冷冻干燥的最终产物储存于-20℃,推测可能是由于在4℃条件下不足以保持其稳定性而必须置于-20℃下。

因此,本发明的突出目的是依靠一种为谷氨酰胺转移酶、特别是为FXⅢ制定的适当配方,获得一稳定蛋白质产物,此蛋白质可以局部(例如表面)或非肠道用药,在2—8℃(或更高)条件下稳定,不需加入其他物质,比如HSA。此外,此冷冻干燥剂可以快速溶解产生一清亮溶液,溶液不混浊且足够稳定。

通过提供谷氨酰胺转移酶制剂的稳定剂型达到本发明的目的,应用特定的稳定剂或其混合物以及生产谷氨酰胺转移酶制剂的方法来获得稳定剂型,下文将详述所用的稳定剂。因而此发明涉及谷氨酰胺转移酶的稳定剂型。此稳定剂型在冷冻干燥后易溶解、不混浊,它包括纯化谷氨酰胺转移酶及除去甘氨酸和精氨酸之外的适当与表面活性剂和/或还原剂结合的D和/或L氨基酸、其盐、衍生物和

同系物、或二聚体或低聚体或其混合物和/或糖或糖醇。

虽然例举的实施方案表明的是关于重组 X^{III} 因子和从胎盘或血浆分离出来的 FX^{III} 的稳定剂型, 但此稳定剂型并不局限于此。所以在优选的具体方案里, 本发明涉及 X^{III} 因子的稳定剂型、及其生物活性片断、衍生物或其突变蛋白质。

在一特别优选的实施方案里, 稳定剂型是指包括来自血浆、胎盘、血小板或巨噬/单核细胞的 FX^{III}, 或包括重组 FX^{III} 的稳定剂型。

这一新颖的研究实际上可分为两个区域: (a) 对冷冻干燥本身的研究, 及 (b) 对储存中持续稳定性的研究。

应用 rFX^{III} (Metxner et al., in J. McDonagh, R. Seitz, R. Egbring: "Factor X^{III}", 87—93, Schttauer(1993)) 及胎盘和血浆 FX^{III} (Karges and Rapp, in J. McDonagh. R. Seitz, R. Egbring: "Factor X^{III}", 66—76, Schattauer (1993)) 进行研究。

冷冻干燥实验是在市售的装置内用具备和不具备硅烷化面的小玻璃瓶进行的。

(a) 冷冻干燥:

在冷冻干燥过程中比较不同的添加剂, 惊奇地发现, 在某些实例中当应用 D 和/或 L 氨基酸、其盐、衍生物或同系物中的某些添加剂(表 I) 时, 能使 FX^{III} 保持良好的活性和溶解性。

因此, 在进一步优选的实施方案里, 本发明涉及谷氨酰胺转移酶的稳定剂型, 它含有组氨酸、谷氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、赖氨酸、丙氨酸、异亮氨酸或半胱氨酸、其盐、衍生物或同系物、二聚体或低聚体或其混合物。

特别令人惊奇地是,组氨酸和谷氨酸,甚至在没有任何其它添加剂的条件下,在冷冻干燥过程中表现出良好的稳定作用。另一方面,当单独应用甘氨酸、蛋氨酸或丙氨酸等氨基酸时,在冷冻干燥过程中会使酶活性降低(表 I)。

在某些实例中,冷冻干燥过程中单独应用糖或糖醇能够为酶提供良好的稳定作用(表 I)。特别是蔗糖、海藻糖、乳糖、麦芽糖、山梨醇、甘露醇、或诸如此类的糖和糖醇均能发挥积极的稳定作用。在冷冻干燥过程中当加入的氨基酸(比如, Met, Ala)独自不能充分发挥作用而使酶活性下降时,可以通过氨基酸与糖或糖醇的结合来扭转酶活性的下降(表 I)。

因此在进一步的方案里,本发明涉及一种谷氨酰胺转移酶的稳定剂型,它含有蔗糖、乳糖、海藻糖、麦芽糖、山梨醇或甘露醇等糖或糖醇,其衍生物、同系物或其混合物。

当单独应用象 Tris 或磷酸盐之类的缓冲物质时,仅可得到微不足道的稳定作用。但在冷冻干燥中应用硼酸盐能产生明显的稳定作用(表 I)。

当冷冻干燥物溶解时偶而会出现少量的蛋白质沉淀物,在冷冻干燥过程中通过应用表面活性物质,例如,特别是 Tween80 或 Tween20,分子量位于 1000~35000Da 之间的聚乙二醇(PEG),十六烷基,聚乙烯吡咯烷酮(PVP),聚乙烯醇(PVA),羊毛脂醇,脱水山梨糖醇单油酸酯,可以防止蛋白沉淀物的产生,并且不会影响到 F X III 的活性(表 II 和表 III)。

因而,进一步优选的实施方案里,稳定剂型中包括做为表面活性物质的 Tween80、Tween20、PEG、十六烷基醇、PVP、PVA、羊毛脂

醇或是脱水山梨糖醇单油酸酯。

(b) 储存中的稳定性

配制的冷冻干燥物的一项关键性参数是它的储存稳定性，它是在 4℃ 和室温下，以及 37℃ 加速分解的条件下进行测定。

已发现氨基酸与糖、糖醇或糖衍生物结合有助于提高制剂的储存稳定性(表 IV)。用不同的糖进行研究表明，当应用象蔗糖、乳糖、海藻糖或麦芽糖之类的糖时，即使长期处于高温条件下也能稳定制剂的活性，当应用象葡萄糖或果糖之类的还原糖时，制剂的活性在 37℃ 条件下会发生缓慢下降(表 V)。能够独自提高制剂稳定性的 His 或 Glu，与糖类结合后能进一步提高制剂的稳定性。

在更加优选的实施方案里，稳定剂型因而包含作为稳定剂的与 His、Glu、Ile 和/或 Ala 结合的蔗糖、麦芽糖、海藻糖、乳糖、山梨醇或甘露糖醇、或其衍生物、同系物及其混合物。

正如上文已经提到的，当在适当浓度范围内应用表面活性物质时，对制剂的储存稳定性没有负作用(表 II 和表 III)。

尽管 FX III 不含有任何不稳定的巯基基团(SH)，但象半胱氨酸、N—乙酰半胱氨酸、硫代甘油或谷胱甘肽之类的 SH 试剂令人惊异地显示出对 FX III 储存稳定性起积极作用，特别在高温条件下。在这一点上，可以加入 EDTA 或柠檬酸盐之类的螯合剂来保护 SH 的功能。

在一进步优选的实施方案里，谷氨酰胺转移酶的稳定剂型因而在适量的螯合剂存在下包含 Cys、N—乙酰—Cys、硫代甘油、硫化钠或谷胱甘肽或及其混合物。

关于保持冷冻干燥制物的活性和溶解性方面，应用三元或四元

混合物(氨基酸、糖和表面活性成分),例如应用 His/Tween/蔗糖混合物, His/PEG/蔗糖混合物或 His/Ile/PEG/蔗糖混合物,得到了很好的结果。在又一优选的实施方案里,谷氨酰胺转移酶的稳定剂型因此包含作为添加剂的物质,除了氨基酸、糖或糖醇及表面活性物质外,此处特别优选 His/Tween20/蔗糖或 His/Tween80/蔗糖, His/PEG/蔗糖或 His/Ile/PEG/蔗糖添加剂混合物。

对于制剂的储存稳定性,由氨基酸及/或糖或糖醇、表面活性物质及还原剂组成的混合物,比如由氨基酸/Cys/或 N—乙酰—Cys/PEG/蔗糖,氨基酸/硫代甘油/PEG/蔗糖及糖/还原剂/PEG 等组成的混合物,证明同样是合适的配方系统,特别适用于较高温度条件下(表Ⅲ和表Ⅵ)。在又一优选实施方案中,新稳定剂型内因而包含作为添加剂的由氨基酸和/或糖或糖醇、表面活性物质及还原剂组成的混合物,在适量螯合剂存在的条件下,特别优选氨基酸/Cys/PEG/蔗糖,氨基酸/N—乙酰—Cys/PEG/蔗糖,氨基酸/硫代甘油/PEG/蔗糖及糖/还原剂/PEG 添加剂混合物。

在所叙述的配方中,使用的 FX Ⅲ 的浓度可在很大范围变动,优选浓度范围是 0.003~50mg/ml。

所用氨基酸的优选浓度范围在 0.01~10%(W/V)之间,但特别优选 0.1~3%(W/V)这一范围。糖的浓度范围优选为 0.1~20%(W/V),但特别优选为 0.2~10%(W/V)。表面活性成分的优选浓度范围为 0.00001~5%(W/V),特别优选为 0.0002~0.1%(W/V)。还原剂的使用浓度优选在 0.001~2%之间,但特别优选 0.005~0.5%。

在储存时间内,冷冻干燥蛋白质的残留水分对其稳定性也有重

要作用。应用给定添加剂后，温度可上升到 50—60℃持续几个小时而对其活性没有任何不利影响，只要这在冷冻干燥的最后阶段对减少冷冻干燥蛋白质的残留水分是必要的。

为冷冻干燥谷氨酰胺转移酶或 FX III 及其随后的储存稳定性，溶液的 PH 应当在 6—9 范围内，最好在 7—8 之间。为达到缓冲作用的目的，优选应用与螯合剂适当结合的 PH 值位于 6 至 9 之间的氨基酸或磷酸盐缓冲液、硼酸盐或 Tris 缓冲液。

本发明也包括以上所述稳定添加剂的应用，以制备包含一种或数种蛋白质的稳定液态制剂，因为对谷氨酰胺转移酶的实验结果适用于其他蛋白质。

此外，本发明还包括一种稳定蛋白质的方法，尤其适于谷氨酰胺转移酶，其中作为溶液或沉淀物的、最好为谷氨酰胺转移酶的纯蛋白质，与含有一种或数种新添加剂的、PH 调至有利于蛋白质稳定的范围的溶液按常规方法混合，然后对全部混合液进行冷冻干燥。

由于按照本方法制备的稳定谷氨酰胺转移酶所具备的优异特性，此酶非常适于配制药剂。

本发明也包括含有 X III 因子或其生物活性片断、衍生物或突变蛋白质的稳定剂型在制备用于治疗以 FX III 缺乏为特征的疾病的药物中的用途。

适当时按照已知的方法，用稳定的药学上可接受的已知赋形剂配制这种新药。可根据护理医生确定的适宜剂量以不同的给药方式给药，比如可静脉、腹膜内、皮下、肌肉内、真皮内及表面给药。

实例说明本发明。

实施例 1

通过在酵母细胞内的表达制备 rFX III，并通过适宜的方法使其纯化到 >98% 的纯度，以溶液或沉淀物形式的 rFX III 和同样纯化的胎盘 FX III 用稳定剂溶液进行处理，以获得特定的活性。过滤 FX III 溶液，将其分装于小玻璃瓶内，按适当的冷冻干燥程序进行干燥，然后，再用蒸馏水将冷冻干燥物配成原来的体积。冷冻干燥前后测定 FX III 的活性。另外，还要评定重配溶液的混浊度。

应用市售 Berichrom FX III[®] 检测试剂盒测定 FX III 的活性。

表 I、II 和表 III 中所列的结果明确表明，当冷冻干燥 FX III 时，有必要加入稳定成分，并且即使不用 HSA，通过加入氨基酸或糖或氨基酸和糖也能保持 FX III 的酶活性和溶解性。特别是在某些情况中，通过加入表面活性剂可以进一步提高酶的溶解性。

实施例 2

如实施例 1 中所述制备的 rFX III 和胎盘 FX III 的冷冻干燥品储存于 4℃ 或 37℃ 下，并在不同的储存时间与注射用水或氯化钠溶液再配制，以测定剩余的酶活性。

表 II 至表 VI 所示的结果表明，应用上文所叙的氨基酸和/或糖或糖衍生物混合物可使酶在相当长的时间内保持稳定。

在某些情况下，尤其在加速分解的条件下，还原成分的加入可致酶稳定性进一步提高。

表 I: 冷冻干燥 FXIII

	冷冻干燥前的活性(%)	冷冻干燥物的活性(以占起始值的百分比表示%)	溶解冷冻干燥物后的浊度
-	100	2	+++
10 mM Tris* HCl, pH 7.4	100	8	+
10 mM 硼酸钠 pH 8.0	100	68	(-)
1% L-His, 生理盐水 pH 7.4	100	39	++
1% L-His, pH 7.6	100	100	-
1% L-Arg, pH 7.6	100	96	+/-
1% L-Gly, pH 7.6	100	41	+/-
1% L-Ala, pH 7.6	100	67	+/-
1% L-Glu, pH 7.6	100	88	+
1% L-Met, pH 7.6	100	10	+++
1% L-His, 0.1% L-Ile, pH 7.6	100	99	-

1% 蔗糖	100	92	(-)
2.5% 蔗糖	100	91	(-)
5% 蔗糖	100	83	(-)
2.5% 乳糖	100	100	(-)
2.5% 山梨醇	100	92	(-)
2.5% 海藻糖	100	99	(-)
2.5% 麦芽糖	100	100	(-)

1% L-His, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	100	96	(-)
1% L-Arg, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	100	90	+

表 1(续)

	冷冻干燥前的 活性(%)	冷冻干燥物的 活性(以占起 始值的百分 比表示%)	溶解冷冻 干燥物后的 浊度
1% L-Ala, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	100	100	-
1% L-Glu, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	100	87	+
1% L-Lys, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	100	92	(-)
1% L-Met, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	100	91	(-)
1% L-Thr, 2.5% sucr., pH 7.6	100	94	+/-
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% sucr., pH 7.6	100	94	(-)
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 葡萄糖 pH 7.6	100	85	-
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 乳糖 pH 7.6	100	99	(-)
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 果糖, pH 7.6	100	92	-
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 山梨醇, pH 7.6	100	91	(-)

0.5% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 蔗糖, pH 7.6	100	95	(-)
1% L-His, 0.1% L-Ile, 1% sucr., pH 7.6	100	93	(-)
1% L-His, 0.1% L-Cys, 2.5% 蔗糖, pH 7.6	100	107	-

活性检测: Berichrom FXIII

浊度:

- 没有混浊
- (-) 最轻微的混浊
- +/- 非常轻微的混浊
- + 轻微但很明显的混浊
- ++ 显著混浊
- +++ 非常显著的混浊

表 II: 表面活性物质对 XIII 因子冷冻干燥制剂的溶解性或稳定性的作用

冷冻干燥前的活性	溶解以后 的浓度	在不同时间的活性 (U/ml)							
		0	0.5	1	2	3	6	12	24 月
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 蔗糖 pH 7.2	+	150	144	139		139	143	136	
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% suc. pH 7.6	+	141	151	132		132	133	136	
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% suc., pH 8.0	+	148	143	141		141	138	137	

1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% suc.	+	124		122	113	115	111	115	122
1% L-His, 2.5% suc.	(-)	125		126	114	117	108	118	120
1% L-His, 0.01% PEG 4000, 2.5% suc.	-	119		124	114	111	111	114	119
1% L-His, 0.001% PEG 4000, 2.5% suc.	-	123		125	112	114	112	114	119
1% L-His, 0.0001% PEG 4000, 2.5% suc.	-	118		120	107	114	107	107	116
1% L-His, 0.001% Tween 20, 2.5% suc.	-	123		124	112	114	113	119	119
1% L-His, 0.0001% Tween 20, 2.5% suc.	-	122		124	112	111	105	112	120

1% L-His, 10mM 柠檬酸盐 2.5% 蔗糖	(-)	149	146	138		143	136	147	
1% L-His, 0.01% PEG 4000, 2.5% suc.	-	147	138	137		140	134	135	
1% L-His, 0.1% L-Cys, 2.5% suc.	-	156	156	146		148	153	151	

如果没有其他说明, 样品储存于 4°C pH 为 7.6 的条件下。

活性检测: Berichrom FXIII (U/ml)

浊度 - 没有混浊 (-) 最轻微的混浊 + 轻微但很明显的混浊

表 III: FXIII 冷冻干燥制剂的储存

在室温下样品的储存

	储存前的活性 (U/ml)	不同时间的活性					不同存储时间后的浊度
		1月 (U/ml)	3月 (U/ml)	6月 (U/ml)	9月 (U/ml)	12月 (U/ml)	
1% His/0.001% PEG 4000/2.5%蔗糖/pH 7.6	85	99	89	84	86	69	(-)
1% His/0.1% 半胱氨酸/0.001% PEG 4000/2.5%蔗糖/pH 7.6	92	110	97	103	110	91	-
1% His/0.01% 半胱氨酸/0.001% PEG 4000/2.5%蔗糖/pH 7.6	87	108	96	98	104	85	-
1% His/0.005% PEG 4000/2.5%蔗糖/pH 7.6	99	109	103	99	94	79	-
1% His/0.01% PVP 15/2.5%蔗糖/pH 7.6	94	105	96	96	88	78	-
1% His/0.1% Ile/ 0.001- % PEG 4000/ 2.5% 蔗糖 pH 7.6	101	106	92	84	90	69	-

活性测定: Berichrom FXIII

浊度: - 没有混浊 (-) 最轻微的混浊

表 IV: 重组 XIII 因子冷冻干燥制品在 4℃ 下的储存

冷冻干燥 前的活性 (U/ml)	冷冻干燥品在不同时间的活性								
	0	0.5 月	1 月	3 月	6 月	12 月	18 月	24 月	
1% L-His pH 7.6	125	150	112	95	111	82	100	108	100
1% L-Gly pH 7.6	125	61	26	48	34	30	29	25	16
1% L-Glu pH 7.6	125	132	127	116	110	77	114	83	93
1% L-His, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	125	144	112	106	133	97	111	109	94
1% L-Arg, 2.5% sucrose pH 7.6	125	134	113	106	118	88	113	60	89
1% L-Ala, 2.5% sucrose pH 7.6	125	150	124	98	114	71	127	102	118
1% L-Glu, 2.5% sucrose pH 7.6	125	130	108	110	122	84	140	104	90
1% 蔗糖	160	153	130	139	136	137	141	129	146
2.5% 蔗糖	160	148	127	135	128	135	130	126	141
5% 蔗糖	160	130	109	117	113	109	114	107	121
2.5% 乳糖	160	163	136	146	137	137	137	131	158
2.5% 山梨醇	160	146	122	132	125	122	123	124	148
2.5% 海藻糖 trehalose	160	160	136	142	137	141	136	127	138
2.5% 麦芽糖	160	155	134	139	132	118	139	123	150
1% L-His, 0.1% L-Ile, pH 7.6	125	148	136	126	93	100	116	105	102
0.5% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% sucrose pH 7.6	125	142	123	113	119	93	116	106	100
1% L-His, 0.1% L-Ile, 1% sucrose pH 7.6	125	139	112	109	127	94	87	108	103
1% L-His 0.1% L-Cys 2.5% 蔗糖 pH 7.6	125	161	135	120	113	91	112	112	101

活性检测: Berichrom FXIII

表 V: XIII 因子冷冻干燥制品在 37℃ 下的储存

	冷冻干燥前的活性 (U/ml)	冷冻干燥制品在不同储存时间的活性				
		0	1月	3月	6月	12月
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	444	394	405	311	300	212
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 葡萄糖 pH 7.6	440	373	358	152	34	3
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 乳糖 pH 7.6	424	419	385	322	293	285
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 果糖 pH 7.6	423	387	385	37	11	3
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 山梨醇 pH 7.6	420	380	298	120	64	21
1% L-His, 0.1% L-Ile, 2.5% 麦芽糖 pH 7.6	425	366	393	316	293	293
1% L-His, 0.1% L-Ile, 0.1% L-Cys, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	413	408	418	350	354	393
1% L-Glu, 0.1% L-Ile, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	424	395	350	281	301	314
1% L-Lys, 0.1% L-Ile, 2.5% 蔗糖 pH 7.6	423	350	403	328	318	333

活性测定: Berichrom FXIII

表 VI: FXIII 冷冻干燥制剂在不同温度的储存

	冷冻干燥前的活性 (U/ml)	4℃条件下不同储存时间后的活性						
		0	0.5月	1月	3月	7月	12月	24月
1% His/ 0.001% PEG/2.5% 蔗糖/0.2% pH 7.6	112	118	119	117	116	115	122	120
1% His/ 0.001% PEG/2.5% 蔗糖/0.2% N-乙酰-半胱氨酸 pH 7.6	112	113	123	120	125	118	120	125
1% His/ 0.001% PEG/2.5% 蔗糖/0.2% 硫代甘油 pH 7.6	119	109	125	122	129	116	129	131
1% His/ 0.001% PEG/2.5% 蔗糖 pH 7.6	119	109	117	110	118	109	113	116

室温下的储存

		0	0.5月	1月	3月	7月	12月	24月
1% His/0.001% PEG/2.5% 蔗糖/0.2% 半胱氨酸 pH 7.6	112	118	119	115	116	114	120	112
1% His/0.001% PEG/2.5% 蔗糖/0.2% N-乙酰半胱氨酸 pH 7.6	112	113	112	114	120	122	122	120
1% His/0.001% PEG/2.5% 蔗糖/0.2% 硫代甘油/pH 7.6	119	109	123	121	120	116	118	116
1% His/0.001% PEG/2.5% 蔗糖/pH 7.6	119	109	117	108	109	105	100	98

表 VI(续): FXIII 冷冻干燥制剂在不同温度下的储存

在+37℃储存

		0	0.5 月	1 月	3 月	7 月	12 月	24 月
1% His/0.001% PEG/2.5%蔗糖/0.2% 半脱氨酸 pH 7.6	112	118	121	114	119	119	104	89
1% His/0.001% PEG/ 2.5%蔗糖/0.2% N-乙酰半脱氨酸 pH 7.6	112	113	119	111	112	102	107	89
1% His/0.001% PEG/2.5%蔗糖/0.2% 硫代甘油/pH 7.6	119	109	119	120	113	95	98	85
1% His/0.001% PEG/2.5%蔗糖/pH 7.6	119	109	107	108	100	85	78	57

活性检测: Berichrom FXIII