

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202490935** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.06.10

(51) Int. Cl. *A61P 9/12* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.10.11

(54) **СПОСОБЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОГО ИЗМЕНЕНИЯ ПУТЕМ
ВВЕДЕНИЯ АНТИТЕЛА ПРОТИВ NPR1**

(31) **63/254,447**

(32) **2021.10.11**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/077908**

(87) **WO 2023/064769 2023.04.20**

(71) Заявитель:

РИДЖЕНЕРОН

ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Данн Майкл, Киткарт Аарон,
Оленчок Бенджамин Адам (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способам снижения артериального давления или осуществления гемодинамических изменений у пациента, причем способы включают введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей агонист рецептора 1 натрийуретического пептида (NPR1) (например, агонистическое антитело против NPR1).

A1

202490935

202490935

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580841EA/042

СПОСОБЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОГО ИЗМЕНЕНИЯ ПУТЕМ ВВЕДЕНИЯ АНТИТЕЛА ПРОТИВ NPR1

Область техники

[001] Настоящее изобретение относится к способам лечения заболевания, ассоциированного с измененной гемодинамикой, способам снижения артериального давления и способам осуществления гемодинамических изменений у пациента, включающим введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с NPR1.

Перекрестные ссылки на родственные заявки

[002] Настоящая заявка подана 11 октября 2022 г. в качестве международной заявки на патент PCT, в которой заявлен приоритет и преимущества в отношении временной заявки на патент США № 63/254447, поданной 11 октября 2021 г., все содержание которой включено посредством ссылки в настоящее описание.

ССЫЛКА НА XML-СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[003] Настоящая заявка содержит список последовательностей в формате XML. XML-файл включен сюда посредством ссылки. Указанный XML-список, созданный 7 октября 2022 года, называется 40848_0111WOU1_SL.xml и имеет размер 9933 байта.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[004] Рецептор 1 натрийуретического пептида (NPR1) представляет собой мембраносвязанную гуанилатциклазу, которая опосредует внутриклеточное превращение гуанозинтрифосфата в циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) (Martinez-Rumayor, et al., 2008 Am J Cardiol 101(3a):3-8). NPR1 широко экспрессируется, в том числе в почках, сосудистой сети, надпочечниках и головном мозге (Yancy, et al., 2017 Circulation 136(6):e137-e161). Агонизм NPR1 приводит к изменениям системного артериального давления (АД) за счет цГМФ-опосредованного воздействия на внутрисосудистый объем, вазорелаксацию, натрийурез и диурез.

[005] NPR1 активируется сердечными гормонами - предсердным натрийуретическим пептидом (ANP) и мозговым натрийуретическим пептидом (BNP), которые синтезируются в виде пропептидов (proANP и proBNP) и локализованы в сердце в секреторных гранулах, расположенных в миокарде предсердий и/или желудочков (Martinez Rumayor) 2008). При высвобождении в ответ на растяжение, вызванное повышенным давлением или нейрогормональными стимулами, proANP и proBNP ферментативно расщепляются на биологически активные ANP и BNP. Выведение этих пептидов из кровообращения происходит главным образом за счет деградации матриксными металлопротеиназами, включая неприлизин, и через рецептор клиренса натрийуретического пептида, NPR3 (Martinez Rumayor 2008). Натрийуретические пептиды играют важную роль в регуляции диуреза и натрийуреза, а также ингибируют ренин-

ангиотензин-альдостероновую систему, причем их эффекты достигают кульминации в модуляции местной и системной гемодинамики. Ингибирование неприлизина, металлопротеазы, которая расщепляет натрийуретические пептиды, снижает клиренс натрийуретических пептидов и изучалось у пациентов с сердечной недостаточностью. Ингибирование неприлизина приводит к увеличению эндогенных ANP и BNP, что, в свою очередь, стимулирует активность NPR1.

[006] Моноклональные антитела к NPR1 были впервые описаны Kitano, et al. в 1995 году (Immunol. Lett. 47:215-22). Активирующие или агонистические антитела против NPR1 раскрыты, например, в патентах/публикациях США №№ 9090695, 20160168251 и WO2010065293. Полностью человеческие антитела, которые специфически связываются с белком NPR1 с высокой аффинностью и активируют его, могут иметь важное значение для профилактики и лечения, например, гипертензии, ожирения и сердечной недостаточности.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[007] REGN5381 представляет собой моноклональное антитело на основе человеческого иммуноглобулина G4 (mAb), которое связывает и активирует NPR1 как в присутствии, так и в отсутствие эндогенных лигандов ANP и BNP. Передача сигналов напрямую через NPR1 может воспроизводить многие физиологические реакции, наблюдаемые при других методах лечения натрийуретическим путем. REGN5381 является прямым агонистом NPR1, чья длительная продолжительность действия может обеспечить устойчивый гемодинамический контроль и разгрузку сердца по сравнению с современными методами лечения, такими как комбинация ингибитора неприлизина, сакубитрила и валсартана или рекомбинантного пептида BNP несиридида. Как показано в настоящем описании, REGN5381 индуцировал предсказуемое и стойкое снижение системного АД у самцов яванских макаков с нормотензией с телеметрическим контролем (нечеловекообразные приматы (NHP)). Соответственно, REGN5381 рассматривается в настоящем описании для лечения заболеваний, связанных с измененной гемодинамикой, включая сердечную недостаточность, гипертензию и хроническое заболевание почек.

[008] Важно отметить, что введение REGN5381 приводит к устойчивому снижению артериального давления по сравнению с другими известными агентами, не сопровождаясь возможными негативными эффектами, обычно связанными с гипотензией. В результате антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить реже.

[009] В одном аспекте описание относится к способу лечения заболевания, ассоциированного с измененной гемодинамикой у пациента, включающий: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст. мм рт.ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1). В дополнительных вариантах осуществления заболевание выбрано из группы, состоящей из сердечной недостаточности, гипертензии и хронического заболевания почек.

[010] В другом аспекте описание относится к способу снижения артериального

давления у пациента, причем способ включает: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1). В дополнительных вариантах осуществления артериальное давление выбрано из группы, состоящей из систолического артериального давления, диастолического артериального давления, среднего артериального давления и пульсового давления.

[011] В еще одном аспекте описание относится к способу осуществления гемодинамического изменения у пациента, причем способ включает: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1). В дополнительных вариантах осуществления гемодинамическое изменение представляет собой снижение венозного давления, конечного диастолического давления в левом желудочке (КДДЛЖ) и/или артериального пульсового давления (ПД). В других вариантах осуществления снижение венозного давления представляет собой снижение центрального венозного давления (ЦВД).

[012] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию введение не влияет на диурез и системную перфузию органов.

[013] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию частота сердечных сокращений (ЧСС) пациента увеличивается.

[014] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три области, определяющие комплементарность (CDR) тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в переменной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в переменной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2.

[015] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три области, определяющие комплементарность (CDR) тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность VAS, а LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8.

[016] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи

(HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1, и переменную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2.

[017] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9.

[018] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

[019] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, а легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

[020] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в низкой дозе.

[021] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе от примерно 0,031 до примерно 25 мг/кг массы тела пациента.

[022] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе от примерно 1 мг до примерно 200 мг.

[023] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту внутривенно, подкожно, внутривенно, внутримышечно или внутримышечно.

[024] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в виде однократной дозы.

[025] В некоторых вариантах осуществления способ согласно изобретению дополнительно включает введение пациенту дополнительного/второго терапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент может быть выбран из группы, состоящей из антагониста альдостерона, альфа-адренергического блокатора, ингибитора ангиотензинпревращающего фермента (ACE), артериолярного вазодилататора, вегетативного ганглионного вазодилататора, бета-адренергического блокатора, симпатолитика, разрушающего катехоламины, центрального альфа-2-адренергического агониста, блокатора кальциевых каналов, диуретика, ингибитора ренина, антикоагулянта, антитромбоцитарного агента, агента, снижающего уровень холестерина, сосудорасширяющего средства, наперстянки, хирургического вмешательства, имплантируемого устройства, противоопухолевой терапии, инсулина, агониста GLP1, метформина, диализа, стимулятора костного мозга, гемофильтрации, модификации образа жизни, пищевой добавки и любого другого лекарственного средства или терапии, известных в данной области. В некоторых вариантах осуществления дополнительный

терапевтический агент может представлять собой агент, который помогает противодействовать или уменьшать любые возможные побочные эффекты, связанные с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое специфически связывается с NPR1, если такой побочный эффект(ы) должен возникнуть. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент вводят одновременно с композицией или отдельно от нее. В некоторых вариантах осуществления второй терапевтический агент вводят вместе с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или отдельно.

[026] В некоторых вариантах осуществления способа согласно описанию пациент страдает гипертензией. В одном варианте осуществления пациент страдает мягкой гипертензией. В одном варианте пациентом является человек.

[027] В одном аспекте описание относится к фармацевтической композиции для применения при лечении заболевания, ассоциированного с измененной гемодинамикой у пациента, содержащей терапевтически эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1), и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

[028] В другом аспекте описание относится к фармацевтической композиции для применения для снижения артериального давления у пациента, содержащей терапевтически эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с NPR1, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

[029] В еще одном аспекте описание относится к фармацевтической композиции для применения для осуществления гемодинамических изменений у пациента, содержащей терапевтически эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1), и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

[030] В дополнительных аспектах описание относится к применению антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента по описанию при производстве лекарственного средства для лечения заболевания, ассоциированного с измененной гемодинамикой у пациента, для снижения артериального давления у пациента и/или для осуществления гемодинамических изменений у пациента.

[031] Другие варианты осуществления станут очевидными из обзора последующего подробного описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[032] На Фигурах 1A-1E показано влияние REGN5381 на артериальное давление и частоту сердечных сокращений у нормотензивных мышей NPR1^{hu/hu}, с влиянием на (Фиг. 1A) систолическое артериальное давление, (Фиг. 1B) на диастолическое артериальное давление (Фиг. 1C) на пульсовое давления, (Фиг. 1D) на частоту сердечных сокращений и (Фиг. 1E) на среднее артериальное давление. Нормотензивные мыши NPR1^{hu/hu} с

телеметрическим контролем были рандомизированы на пять групп с одинаковой массой тела и получали однократную подкожную инъекцию REGN5381 в дозах, перечисленных в Таблице 3. В качестве контроля использовали фосфатно-солевой буфер (PBS). Все значения являются средними \pm SEM, n=3-6 на группу.

[033] На Фигуре 2 показаны концентрации REGN5381 в сыворотке на 7-й день. Нормотензивные мыши NPR1^{hu/hu} с телеметрическим контролем были рандомизированы на пять групп с одинаковой массой тела и получали однократную подкожную инъекцию REGN5381 в дозах, перечисленных в Таблице 1. В качестве контроля использовали фосфатно-солевой буфер. Кровь собирали на 7-й день исследования и оценивали концентрации REGN5381. Все значения являются средними \pm SEM, n=5-6 на группу.

[034] На Фигурах 3A-3D показано влияние низких доз REGN5381 на артериальное давление и частоту сердечных сокращений у нормотензивных яванских макаков с телеметрическим контролем: (Фиг. 3A) систолическое артериальное давление - изменение относительно исходного уровня; (Фиг. 3B) диастолическое артериальное давление - изменение относительно исходного уровня; (Фиг. 3B) частота сердечных сокращений - изменение относительно исходного уровня; (Фиг. 3D) среднее артериальное давление - изменение относительно исходного уровня. Нормотензивных яванские макаки с телеметрическим контролем были рандомизированы на четыре группы с одинаковой массой тела и получали однократную внутривенную инъекцию REGN5381 в дозах, перечисленных в Таблице 4. Систолическое давление, диастолическое давление, частота сердечных сокращений и среднее артериальное давление графически изображаются в период за 43 часа до и через 48 часов после введения дозы. Данные телеметрии представлены в виде интервалов по 1 часу, где серая область представляет 12-часовой цикл темноты. Все значения являются средними \pm SEM, n=4-7 на группу.

[035] На Фигурах 4A и 4B показано, что вызванное REGN5381 острое снижение центрального венозного давления коррелирует с рефлекторной тахикардией. На Фиг. 4A показано индивидуальное изменение центрального венозного давления по сравнению с исходным уровнем; а на Фиг. 4B показана корреляция между изменениями центрального венозного давления и частотой сердечных сокращений. Собак-самцов породы бигль в возрасте от 11 до 13 месяцев подвергали наркозу и анализировали данные сердечно-сосудистой гемодинамики и сбора мочи. Каждое животное получало один внутривенный болюс физиологического раствора (n=6), валсартан 10 мг/кг (n=4) или 25 мг/кг REGN5381 (n=6). Сигналы давления в левом желудочке и системного давления собирали для каждого животного перед введением дозы (для измерений исходного уровня) и в течение 4-часового периода мониторинга после введения дозы. (Фиг. 4A) Показаны изменения относительно исходного центрального венозного давления (ЦВД) для каждого отдельного животного в течение первого часа после введения дозы; каждая линия представляет одно отдельное животное. (Фиг. 4B) Корреляция между изменениями исходного ЦВД и изменениями исходной частоты сердечных сокращений (ЧСС) изображена для каждого животного через 15 минут после введения дозы; каждый символ представляет одно отдельное животное.

[036] На Фигуре 5 показано, что REGN5381 вызывает резкое снижение конечного диастолического давления в левом желудочке. Собак-самцов породы бигль в возрасте от 11 до 13 месяцев подвергали наркозу и анализировали данные сердечно-сосудистой гемодинамики и сбора мочи. Каждое животное получало один внутривенный болюс физиологического раствора (n=6), валсартан 10 мг/кг (n=4) или 25 мг/кг REGN5381 (n=6). Сигналы давления в левом желудочке и системного давления собирали для каждого животного перед введением дозы (для измерений исходного уровня) и в течение 4-часового периода мониторинга после введения дозы. Показаны средние изменения исходного конечного диастолического давления в левом желудочке (КДДЛЖ) для каждой группы обработки в течение первого часа после введения дозы. Данные выражаются как групповое среднее \pm стандартная ошибка среднего.

[037] На Фигурах 6А и 6В показано, что REGN5381 не вызывает изменений артериального давления. На фиг. 6А показано среднее изменение исходного среднего артериального давления; и Фиг. 6В показывает среднее изменение артериального пульсового давления относительно исходного уровня. Собак-самцов породы бигль в возрасте от 11 до 13 месяцев подвергали наркозу и анализировали данные сердечно-сосудистой гемодинамики и сбора мочи. Каждое животное получало один внутривенный болюс физиологического раствора (n=6), валсартан 10 мг/кг (n=4) или 25 мг/кг REGN5381 (n=6). Сигналы для давления в левом желудочке и системного давления собирали для каждого животного перед введением дозы (для измерений исходного уровня) и в течение 4-часового периода мониторинга после введения дозы. (Фиг. 6А) Показаны средние изменения исходного среднего артериального давления (СреднееАД) для каждой группы обработки в течение первого часа после введения дозы. (Фиг. 6В) Показаны средние изменения исходного артериального пульсового давления (ПД) для каждой группы лечения в течение первого часа после введения дозы. Данные выражаются как групповое среднее \pm стандартная ошибка среднего.

[038] На Фигуре 7 показана блок-схема исследования для частей А и В исследования, описанного в примере 5.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[039] Перед тем как будут описаны способы по настоящему изобретению, следует понимать, что настоящее описание не ограничивается конкретными описанными способами и экспериментальными условиями, поскольку такие способы и условия могут варьироваться. Также следует понимать, что используемая в настоящем описании терминология предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

[040] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой относится настоящее описание. Хотя любые способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в настоящем документе, могут быть

использованы на практике или при тестировании настоящего изобретения, сейчас описаны предпочтительные способы и материалы. Все публикации, упомянутые в настоящем описании, включены сюда посредством ссылки в полном объеме.

Методы осуществления гемодинамических изменений

[041] В настоящем описании раскрыт способ лечения заболевания, ассоциированного с измененной гемодинамикой у пациента, включающий: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1).

[042] В настоящем описании термины «лечить», «лечение» относятся к уменьшению или смягчению тяжести по меньшей мере одного симптома или признака заболевания или расстройства, связанного с измененной гемодинамикой у пациента вследствие введения пациенту терапевтического агента, такого как антитело, описанное в настоящем документе. Эти термины включают ингибирование прогрессирования заболевания или ухудшения симптома/показаний. Эти термины также включают положительный прогноз заболевания, т. е. у пациента может отсутствовать заболевание или может быть снижение заболеваемости после введения терапевтического агента, такого как антитело по настоящему описанию. В одном варианте осуществления симптом или показание относится к артериальному давлению пациента. Терапевтический агент можно вводить пациенту в терапевтической дозе, как дополнительно обсуждается ниже.

[043] Заболевания, связанные с измененной гемодинамикой, включают, например, сердечно-сосудистые заболевания, атеросклеротический стеноз сонных артерий, сердечную недостаточность, инсульт, гипертензию и хроническое заболевание почек.

[044] Используемая в настоящем описании фраза «измененная гемодинамика» относится к изменениям кровотока. Изменения кровотока могут включать изменения одного или более показателей: частоты сердечных сокращений, ударного объема, сердечного выброса, системного сосудистого сопротивления и артериального давления. В конкретных вариантах осуществления измененная гемодинамика проявляется в форме снижения венозного давления, конечного диастолического давления в левом желудочке (КДДЛЖ) и/или артериального пульсового давления (PP). Снижение венозного давления может представлять собой снижение центрального венозного давления (ЦВД).

[045] В настоящем описании также раскрыт способ снижения артериального давления у пациента, причем способ включает: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1).

[046] В настоящем описании фраза «артериальное давление» может относиться к любому из систолического артериального давления, диастолического артериального

давления, среднего артериального давления (площадь под кривой артериального давления/времени, деленная на продолжительность сердечного цикла) и пульсового давления (разница между систолическим и диастолическим давлением). Способы измерения артериального давления известны в данной области техники. Артериальное давление измеряется в миллиметрах ртутного столба (мм рт. ст.) и обычно выражается через соотношение систолического (артериального) давления к диастолическому (артериальному) давлению. Методы измерения включают аускультативный, осциллометрический, ультразвуковой, манжеточный методы. Обычно его можно измерить, например, с помощью цифрового тонометра или сфигмоманометра.

[047] Дополнительно в настоящем описании раскрыт способ изменения гемодинамики у пациента, включающий: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1).

[048] Используемая в настоящем описании фраза «гемодинамическое изменение» относится к изменению кровотока. Изменения кровотока могут включать изменения одного или более показателей: частоты сердечных сокращений, ударного объема, сердечного выброса, системного сосудистого сопротивления и артериального давления. В дополнительных вариантах осуществления гемодинамическое изменение представляет собой снижение венозного давления, конечного диастолического давления в левом желудочке (КДДЛЖ) и/или артериального пульсового давления (ПД). Снижение венозного давления может представлять собой снижение центрального венозного давления (ЦВД).

[049] В настоящем описании термин «пациент» относится к животному, предпочтительно млекопитающему, более предпочтительно человеку, нуждающемуся в улучшении, профилактике и/или лечении NPR1-ассоциированного заболевания или расстройства, такого как гипертония. Этот термин включает в себя людей, которые страдают или подвержены риску возникновения такого заболевания или расстройства. В некоторых вариантах осуществления у пациента нормотензивное состояние. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет легкую гипертензию и в остальном здоров. В некоторых вариантах осуществления пациент страдает гипертонией и в остальном здоров. В некоторых вариантах осуществления пациент страдает гипертонией или легкой гипертонией.

[050] Гипертензия существует в широком спектре и в некоторых вариантах осуществления определяется как систолическое артериальное давление (САД) ≥ 100 мм рт.ст. и ≤ 140 мм рт.ст. и диастолическое артериальное давление (ДАД) ≥ 60 мм рт.ст. и ≤ 90 мм рт.ст., и в некоторых вариантах осуществления определено как систолическое артериальное давление (САД) ≥ 130 мм рт.ст. и ≤ 165 мм рт.ст. и диастолическое артериальное давление (ДАД) ≥ 60 мм рт.ст. и ≤ 100 мм рт.ст. Пациенты с нормотензией, мягкой гипертензией или с гипертонией распознаются специалистами в данной области.

[051] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение низкой дозы антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента. В настоящем описании «низкая доза» относится к дозе антитела, которая составляет ≤ 5 мг/кг массы тела пациента. В некоторых вариантах осуществления этот термин относится к дозе антитела, которая составляет от 1 мг до 200 мг. В некоторых вариантах осуществления введение такой низкой дозы приводит к снижению артериального давления, которое поддерживается от 24 часов до 56 дней у пациента.

Антитела против NPR1 и их антигенсвязывающие фрагменты

[052] Способы, раскрытые в настоящем описании, включают введение антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые специфически связываются с NPR1. Термин «специфически связывается» или тому подобное означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образует комплекс с антигеном, который относительно стабилен в физиологических условиях. Способы определения того, связывается ли антитело со специфическим антигеном, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и тому подобное. Например, антитело, которое «специфически связывается с» NPR1, как используется в контексте настоящего описания, включает антитела, которые связываются с NPR1 или его частью с КД менее чем примерно 500 нМ, менее чем примерно 300 нМ, менее чем примерно 200 нМ, менее чем примерно 100 нМ, менее чем примерно 90 нМ, менее чем примерно 80 нМ, менее чем примерно 70 нМ, менее чем примерно 60 нМ, менее чем примерно 50 нМ, менее чем примерно 40 нМ, менее чем примерно 30 нМ, менее чем примерно 20 нМ, менее чем примерно 10 нМ, менее чем примерно 5 нМ, менее чем примерно 4 нМ, менее чем примерно 3 нМ, менее чем примерно 2 нМ, менее чем примерно 1 нМ или менее чем примерно 0,5 нМ, согласно измерениям методом поверхностного плазмонного резонанса. Однако выделенное антитело, которое специфически связывается с человеческим IL-4R α , может иметь перекрестную реактивность с другими антигенами, такими как молекулы IL-4R α из других (не относящихся к человеку) видов. Как раскрыто в настоящем описании, антитела, которые связываются с NPR1 человека, также перекрестно реактивны с NPR1 обезьяны и собаки.

[053] Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с NPR1, как описано в настоящем документе, являются агонистами рецептора 1 натрийуретического пептида (NPR1) (например, представляют собой агонистические антитела против NPR1). Термин «Активирующее антитело» или «агонистическое антитело», используемый в настоящем описании (или «антитело, которое увеличивает или потенцирует активность NPR1» или «антитело, которое стабилизирует активированную конформацию»), предназначен для обозначения антитела, связывание которого с NPR1 приводит к активации по меньшей мере одной биологической активности NPR1. Например, способы по настоящему изобретению включают введение агонистического антитела, которое специфически связывается с NPR1, что может снижать системное артериальное давление при введении пациенту.

[054] Термин «антитело», используемый в настоящем описании, предназначен для обозначения молекул иммуноглобулина, состоящих из четырех полипептидных цепей, двух тяжелых (H) цепей и двух легких (L) цепей, соединенных между собой дисульфидными связями (т. е. «полные молекулы антитела»), а также их мультимеров (например, IgM) или их антигенсвязывающих фрагментов. Каждая тяжелая цепь состоит из переменной области тяжелой цепи («HCVR» или «V_H») и константной области тяжелой цепи (состоящей из доменов C_{H1}, C_{H2} и C_{H3}). Каждая легкая цепь состоит из переменной области легкой цепи («LCVR» или «V_L») и константной области легкой цепи (C_L). Области V_H и V_L могут быть далее разделены на области гипервариабельности, называемыми областями, определяющими комплементарность (CDR), перемежаясь областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца до карбоксиконца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В некоторых вариантах осуществления описания FR антитела (или его антигенсвязывающего фрагмента) могут быть идентичны последовательностям зародышевой линии человека или могут быть модифицированы естественным или искусственным путем. Аминокислотная консенсусная последовательность может быть определена на основе параллельного анализа двух или более CDR.

[055] Замена одного или более остатков CDR или пропуск одной или более CDR также возможны. В научной литературе описаны антитела, в которых для связывания можно обойтись без одной или двух CDR. Padlan, et al., (1995 FASEB J. 9:133-139) проанализировали области контакта между антителами и их антигенами на основе опубликованных кристаллических структур и пришли к выводу, что только от одной пятой до одной трети остатков CDR действительно контактируют с антигеном. Padlan также обнаружил множество антител, в которых одна или две CDR не содержали аминокислот, контактирующих с антигеном (см. также Vajdos, et al., 2002 J Mol Biol 320:415-428).

[056] Остатки CDR, не контактирующие с антигеном, можно идентифицировать на основе предыдущих исследований (например, остатки H60-H65 в CDRH2 часто не требуются), из областей CDR Kabat, лежащих за пределами CDR Chothia, путем молекулярного моделирования и/или эмпирически. Если CDR или ее остаток(и) опущены, их обычно заменяют аминокислотой, занимающей соответствующее положение в другой последовательности человеческого антитела или консенсусе таких последовательностей. Положения для замены внутри CDR и аминокислот для замены также можно выбрать эмпирически. Эмпирические замены могут быть консервативными или неконсервативными заменами.

[057] Полностью человеческие моноклональные антитела против NPR1, описанные в настоящем документе, могут содержать одну или более аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасных и/или CDR-областях переменных доменов тяжелой и легкой цепей по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии. Такие мутации легко могут быть идентифицированы путем сравнения аминокислотных

последовательностей, раскрытых в настоящем описании, с последовательностями зародышевой линии, доступными, например, из общедоступных баз данных последовательностей антител. Настоящее описание включает антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые получены из любой из аминокислотных последовательностей, раскрытых в настоящем описании, где одна или более аминокислот в одной или более каркасной и/или CDR-области подвергают мутации до соответствующего остатка (остатков) последовательности зародышевой линии, из которой был получен антигенсвязывающий белок, или до соответствующего остатка (остатков) другой последовательности зародышевой линии человека, или до остатка с помощью консервативной аминокислотной замены соответствующего остатка(остатков) зародышевой линии (такие изменения последовательности упоминаются в настоящем описании совместно как «мутации зародышевой линии»). Специалист в данной области, начиная с последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей, раскрытых в настоящем описании, может легко получить многочисленные антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или более индивидуальных мутаций зародышевой линии или их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления все остатки каркасной области и/или CDR в доменах V_H и/или V_L мутированы обратно до остатков, обнаруженных в исходной последовательности зародышевой линии, из которой было получено антитело. В других вариантах осуществления только определенные остатки подвергают мутации обратно в исходную последовательность зародышевой линии, например, только мутированные остатки, обнаруженные в первых 8 аминокислотах FR1 или в последних 8 аминокислотах FR4, или только мутированные остатки, обнаруженные в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или более остатков каркаса и/или CDR подвергают мутации в соответствующий остаток(остатки) другой последовательности зародышевой линии (то есть последовательности зародышевой линии, которая отличается от последовательности зародышевой линии, из которой исходно было получено антитело). Кроме того, антитела, используемые в настоящем описании, могут содержать любую комбинацию двух или более мутаций зародышевой линии в каркасной области и/или CDR-областях, например, где определенные отдельные остатки подвергнуты мутации в соответствующий остаток конкретной последовательности зародышевой линии, в то время как некоторые другие остатки, которые отличаются от исходной последовательности зародышевой линии, сохраняются или подвергаются мутации до соответствующего остатка другой последовательности зародышевой линии. После получения антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или более мутаций зародышевой линии, можно легко протестировать на наличие одного или более желаемых свойств, таких как улучшенная специфичность связывания, повышенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные антагонистические биологические свойства, сниженная иммуногенность и т. д. Антитела и антигенсвязывающие фрагменты, полученные этим общим способом, включены в настоящее описание.

[058] В настоящем описании также используются полностью человеческие

моноклональные антитела против NPR1, содержащие варианты любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в настоящем описании, имеющих одну или более консервативных замен. Например, в настоящем описании могут использоваться антитела против NPR1, имеющие аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее и т. д., консервативными аминокислотными заменами относительно любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в настоящем описании.

[059] Термин «человеческое антитело» или «полностью человеческое антитело», используемый в настоящем описании, предназначен для включения антител, имеющих переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. mAb человека, описанные в настоящем документе, могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые человеческими последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии (например, мутации, введенные неспецифическим или сайтспецифическим мутагенезом *in vitro* или соматическими мутациями *in vivo*), например, в CDR и особенно в CDR3. Однако используемый в настоящем описании термин «человеческое антитело» или «полностью человеческое антитело», не предназначен для включения mAb, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающих (например, мыши), были трансплантированы на последовательности FR человека. Термин включает антитела, рекомбинантно продуцируемые у млекопитающего, не являющегося человеком, или в клетках млекопитающего, не являющегося человеком. Термин не предназначен для включения антител, выделенных или генерированных у человека.

[060] Используемый в настоящем описании термин «рекомбинантный» относится к антителам или к их антигенсвязывающим фрагментам, описанным в настоящем документе, созданным, экспрессированным, выделенным или полученным с помощью технологий или способов, известных в данной области техники, как например, технология рекомбинантных ДНК, которая включает, например, сплайсинг ДНК и трансгенную экспрессию. Термин относится к антителам, экспрессируемым у млекопитающего, не являющегося человеком (включая трансгенных млекопитающих, не являющихся человеком, например, у трансгенных мышей), или в системе экспрессии в клетке (например, клетках CHO), или к выделенным из рекомбинантной комбинаторной библиотеки антител человека.

[061] Используемые в настоящем описании термины «антигенсвязывающая часть» антитела, «антигенсвязывающий фрагмент» антитела и тому подобные, включают любой естественный, получаемый ферментативно, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывается с антигеном с образованием комплекса. Используемые в настоящем описании термины «антигенсвязывающий фрагмент» антитела или «фрагмент антитела» относятся к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность связываться с белком

NPR1.

[062] В конкретных вариантах осуществления антитело или фрагменты антител, описанные в настоящем документе, могут быть конъюгированы с фрагментом, таким как лиганд или терапевтический фрагмент («иммуноконъюгат»), вторым антителом против NPR1 или любым другим терапевтическим фрагментом, полезным для лечения NPR1-ассоциированного заболевания или расстройства.

[063] Термин «существенная идентичность» или «по существу идентична» по отношению к нуклеиновой кислоте или ее фрагменту обозначает, что при оптимальном выравнивании нуклеиновой кислоты с соответствующими нуклеотидными вставками или делециями с другой нуклеиновой кислотой (или ее комплементарной цепью), будет иметь место идентичность нуклеотидной последовательности у, по меньшей мере, примерно 95%, и более предпочтительно, по меньшей мере, примерно 96%, 97%, 98% или 99% нуклеотидных оснований, согласно измерениям с помощью хорошо известного алгоритма идентичности последовательности, такого как FASTA, BLAST или Gap, как обсуждается ниже. Молекула нуклеиновой кислоты, обладающая существенной идентичностью с эталонной молекулой нуклеиновой кислоты, может в определенных случаях, кодировать полипептид, имеющий по существу сходную аминокислотную последовательность как у полипептида, кодируемого эталонной молекулой нуклеиновой кислоты.

[064] Применительно к полипептидам термин «существенное сходство» или «по существу сходный» означает, что две пептидные последовательности, при оптимальном выравнивании, например, с помощью программ GAP или BESTFIT, использующих веса пробелов по умолчанию, имеют идентичность последовательности по меньшей мере 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере 95%, 98% или 99% идентичности последовательности. Предпочтительно положения остатков, которые не являются идентичными, отличаются консервативными аминокислотными заменами. «Консервативная аминокислотная замена» представляет собой замену, в которой аминокислотный остаток заменяют на другой остаток, имеющий боковую цепь (R-группу) со сходными химическими свойствами (например, заряд или гидрофобность). Вообще, консервативная аминокислотная замена по существу не изменит функциональных свойств белка. В случаях, когда две или более аминокислотных последовательностей отличаются друг от друга консервативными заменами, процент идентичности последовательности или степень сходства может регулироваться в сторону увеличения для коррекции с целью получения консервативной природы замены. Способы осуществления такой регуляции хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331, которая включена в настоящее описание посредством ссылки. Примеры групп аминокислот, имеющих боковые цепи со сходными химическими свойствами, включают 1) алифатические боковые цепи: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; 2) алифатические гидроксильные боковые цепи: серин и треонин; 3) амидсодержащие боковые цепи: аспарагин и глутамин; 4) ароматические боковые цепи: фенилаланин, тирозин и триптофан; 5) основные боковые цепи: лизин, аргинин и гистидин;

б) кислотные боковые цепи: аспарат и глутамат, и 7) серосодержащие боковые цепи: цистеин и метионин. Предпочтительными группами консервативных аминокислотных замен являются: валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамат-аспарат, и аспарагин-глутамин. Альтернативно, консервативная замена представляет собой любое изменение, имеющее положительное значение в матрице логарифмического правдоподобия PAM250, раскрытой в Gonnet, et al., (1992) *Science* 256: 1443-45, включенной в настоящее описание посредством ссылки. «Умеренно консервативная» замена представляет собой любую замену, имеющую неотрицательное значение в матрице PAM250 логарифмического правдоподобия.

[065] Сходство последовательностей для полипептидов обычно измеряют с использованием программного обеспечения для анализа последовательностей. Пакет программ анализа белков находит сходные последовательности с использованием мер сходства, которые оценивают для различных замен, делеций и других модификаций, включающих консервативные аминокислотные замены. Например, программное обеспечение GCG содержит программы, такие как GAP и BESTFIT, которые можно использовать с параметрами по умолчанию для определения гомологии последовательностей или идентичности последовательностей между близко родственными полипептидами, такими как гомологичные полипептиды из организмов разных видов или между белком дикого типа и его мутантом. См., например, GCG Версия 6.1. Полипептидные последовательности также можно сравнивать с использованием FASTA с параметрами по умолчанию или рекомендуемыми параметрами; программа в GCG Version 6.1. FASTA (например, FASTA2 и FASTA3) обеспечивает выравнивания и процент идентичности последовательности участков лучшего перекрытия между заданной и искомыми последовательностями (Pearson (2000) выше). Другим предпочтительным алгоритмом при сравнении последовательности изобретения с базой данных, содержащей большое количество последовательностей из разных организмов, является компьютерная программа BLAST, особенно BLASTP или TBLASTN, с использованием параметров по умолчанию. См., например, Altschul, et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 и (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402, каждая из которых включена в настоящее описание посредством ссылки.

[066] Если специально не указано иное, термин «антитело», используемый в настоящем описании, следует понимать как охватывающий молекулы антитела, включающие две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина (то есть «полные молекулы антитела»), а также их антигенсвязывающие фрагменты. Используемые в настоящем описании термины «антигенсвязывающая часть» антитела, «антигенсвязывающий фрагмент» антитела и тому подобные, включают любой естественный, получаемый ферментативно, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывается с антигеном с образованием комплекса. Термины «антигенсвязывающий фрагмент» антитела или «фрагмент антитела» в контексте настоящего описания относятся к одному или более

фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с белком NPR1. Фрагмент антитела может включать Fab-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, Fv-фрагмент, dAb-фрагмент, фрагмент, содержащий CDR, или выделенную CDR. В некоторых вариантах осуществления термин «антигенсвязывающий фрагмент» относится к полипептидному фрагменту полиспецифической антигенсвязывающей молекулы. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из полных молекул антитела с использованием любых подходящих стандартных методов, таких как протеолитическое расщепление или методы рекомбинантной геномной инженерии, включающие манипуляции и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и (необязательно) константные домены антитела. Такая ДНК известна и/или легко доступна, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, например, фаговые библиотеки антител) или может быть синтезирована. ДНК можно секвенировать и подвергать химическим манипуляциям или с помощью методов молекулярной биологии, например, для размещения одного или более переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или для введения кодонов, создания остатков цистеина, модификации, добавления или делеции аминокислот, и т. д.

[067] Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab-фрагменты; (ii) фрагменты F(ab')₂; (iii) фрагменты Fd; (iv) Fv-фрагменты; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные единицы узнавания, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, выделенную область, определяющую комплементарность (CDR), такую как пептид CDR3), или ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как доменно-специфические антитела, однодоменные антитела, доменно-делеционные антитела, химерные антитела, CDR-трансплантированные антитела, диантитела, триантитела, тетраантитела, миниантитела, наноантитела (например, моновалентные наноантитела, двухвалентные наноантитела и т. д.), низкомолекулярные модульные иммунофармацевтические препараты (SMIP) и переменные домены IgNAR акул также включены в выражение «антигенсвязывающий фрагмент», при использовании в настоящем описании.

[068] Антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно содержит по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав и, как правило, будет содержать по меньшей мере одну CDR, которая находится рядом или в рамке с одной или более каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен V_H, ассоциированный с доменом V_L, домены V_H и V_L могут быть расположены относительно друг друга в любом подходящем расположении. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры V_H-V_H, V_H-V_L или V_L-V_L. Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен V_H или V_L.

[069] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно

связанный по меньшей мере с одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые можно обнаружить в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему описанию, включают: (i) V_H-C_H1 ; (ii) V_H-C_H2 ; (iii) V_H-C_H3 ; (iv) $V_H-C_H1-C_H2$; (v) $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$; (vi) $V_H-C_H2-C_H3$; (vii) V_H-C_L ; (viii) V_L-C_H1 ; (ix) V_L-C_H2 ; (x) V_L-C_H3 ; (xi) $V_L-C_H1-C_H2$; (xii) $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$; (xiii) $V_L-C_H2-C_H3$; и (xiv) V_L-C_L . В любой конфигурации переменного и константного доменов, включая любой из приведенных выше примеров конфигураций, переменный и константный домены могут быть либо напрямую связаны друг с другом, либо могут быть связаны полной или частичной шарнирной или линкерной областью. Шарнирная область может состоять по меньшей мере из 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, что приводит к гибкой или полугибкой связи между соседними переменными и/или константными доменами в одной полипептидной молекуле. Более того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может включать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) любой из конфигураций переменного и константного доменов, перечисленных выше, в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или более мономерными доменами V_H или V_L (например, с помощью дисульфидной связи).

[070] Как и в случае с полными молекулами антител, антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или полиспецифическими (например, биспецифическими). Полиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно будет содержать по меньшей мере два разных переменных домена, где каждый переменный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом на одном и том же антигене. Любой формат полиспецифического антитела, включая иллюстративные форматы биспецифического антитела, раскрытые в настоящем описании, может быть адаптирован для использования в контексте антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему описанию с использованием рутинных методов, доступных в данной области.

[071] Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления антитело против NPR1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), переменную область легкой цепи (LCVR) и/или определяющие комплементарность области (CDR), содержащие аминокислотные последовательности любого из антител против NPR1, указанных в публикации заявки на патент США US 20200123263, которая включена в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых иллюстративных вариантах осуществления антитело против NPR1 или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно использовать в контексте настоящего описания, содержат определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) переменной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) переменной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. Согласно некоторым вариантам осуществления

антитело против NPR1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три HCDR (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три LCDR (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где HCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; HCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность VAS; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В других вариантах осуществления антитело против NPR1 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, содержащую SEQ ID NO: 1, и LCVR, содержащую SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему описанию включают применение антитела против NPR1, где антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления антитело против NPR1 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Иллюстративное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, представляет собой полностью человеческое антитело против NPR1, известное как REGN5381.

[072] Согласно некоторым иллюстративным вариантам осуществления способы настоящего описания включают использование REGN5381 или его биоэквивалента. В настоящем описании термин «биоэквивалент» относится к антителам против NPR1 или NPR1-связывающим белкам или их фрагментам, которые являются фармацевтическими эквивалентами или фармацевтическими альтернативами, скорость и/или степень абсорбции которых не демонстрируют существенной разницы со скоростью и/или степенью абсорбции эталонного антитела (например, REGN5381) при введении одной и той же молярной дозы в аналогичных экспериментальных условиях, либо однократной дозы, либо многократной дозы. В контексте настоящего описания термин «биоэквивалент» включает антигенсвязывающие белки, которые связываются с NPR1 и не имеют клинически значимых различий с REGN5381 в отношении безопасности, чистоты и/или эффективности.

[073] Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего описания антитело против NPR1 человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, имеющую 90%, 95%, 97% или 98% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 1.

[074] Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего описания антитело против NPR1 человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит LCVR, имеющую 90%, 95%, 97% или 98% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 2.

[075] Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего описания антитело против NPR1 человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, имеющую не более 5 аминокислотных замен. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего описания антитело против NPR1 человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит LCVR, имеющую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, имеющую не более 2 аминокислотных замен.

[076] Идентичность последовательности можно измерить способами, известными в данной области техники (например, GAP, BESTFIT и BLAST).

[077] Настоящее описание также включает применение антител против NPR1 или их антигенсвязывающих фрагментов в способах снижения артериального давления или осуществления гемодинамических изменений, где антитела против NPR1 или их антигенсвязывающие фрагменты содержат варианты любой из HCVR, LCVR и /или аминокислотные последовательности CDR, раскрытые в настоящем описании, имеющие одну или более консервативных аминокислотных замен. Например, настоящее описание включает применение антител против NPR1 или их антигенсвязывающих фрагментов, имеющих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, содержащих 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее, и т. д. консервативных аминокислотных замен относительно любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в настоящем описании.

[078] Другие антитела против NPR1 или их антигенсвязывающие фрагменты, которые можно использовать в контексте способов по настоящему описанию, включают, например, любое из антител против NPR1, представленных, например, в US2012/0114659A1. Части всех вышеупомянутых публикаций, в которых идентифицируются антитела против NPR1, включены в настоящее описание посредством ссылки.

Терапевтическое введение и составы

[079] Способы, описанные в настоящем описании, включают введение антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Антитело против NPR1 или его антигенсвязывающий фрагмент могут содержаться в фармацевтической композиции. Фармацевтические (или «терапевтические») композиции в соответствии с описанием вводят с подходящими носителями, вспомогательными веществами и другими агентами, которые включают в составы для обеспечения улучшенного переноса, доставки, переносимости и т. п. Множество подходящих составов можно найти в рецептуре, известной всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Истон, Пенсильвания. Эти составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, липиды, содержащие липиды (катионные или анионные) везикулы (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбционные пасты, эмульсии масло-в-воде и вода-в-масле, эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли различной молекулярной массы), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. См. также Powell, et al., «Compendium of excipients for parenteral formulations» PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

[080] Доза антитела может варьироваться в зависимости от возраста и размера пациента, которому ее вводят, целевого заболевания, состояний, пути введения и т. п. В зависимости от тяжести патологического состояния, может регулироваться частота и

продолжительность лечения. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить в виде однократной дозы. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить в виде начальной дозы с последующей второй или множеством последующих доз антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в количестве, которое может быть примерно таким же или меньшим, чем уровень начальной дозы, где последующие дозы разделены интервалом, составляющим по меньшей мере от 1 дня до 3 дней; по меньшей мере одну неделю, по меньшей мере 2 недели; по меньшей мере 3 недели; по меньшей мере 4 недели; по меньшей мере 5 недель; по меньшей мере 6 недель; по меньшей мере 7 недель; по меньшей мере 8 недель; по меньшей мере 9 недель; по меньшей мере 10 недель; по меньшей мере 12 недель; или по меньшей мере 14 недель. В некоторых вариантах осуществления последующую дозу(ы) вводят по меньшей мере через 2 недели, по меньшей мере 3 недели или по меньшей мере через 4 недели после начальной дозы. В дополнительных вариантах осуществления падение артериального давления в результате введения антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента сохраняется между введением начальной и последующих доз.

[081] Известны различные системы доставки, которые можно использовать для введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению, например, инкапсуляция в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, рецептор-опосредованный эндоцитоз (см., например, Wu, et al., (1987) *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432). Способы введения включают, но не ограничиваются ими, внутрикожный, трансдермальный, внутримышечный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути. Композицию можно вводить любым удобным путем, например, путем инфузии или болюсной инъекции, путем абсорбции через эпителиальные или слизистые оболочки (например, слизистую оболочку полости рта, слизистую оболочку прямой кишки и кишечника и т. д.) и можно вводить вместе с другими биологически активными агентами. Введение может быть системным или местным. Фармацевтическая композиция также может быть доставлена в везикуле, в частности в липосоме (см., например, Langer (1990) *Science* 249: 1527-1533).

[082] В настоящем описании также рассматривается использование наночастиц для доставки описанных здесь антител. Наночастицы, конъюгированные с антителами, могут использоваться как для терапевтических, так и для диагностических целей. Наночастицы, конъюгированные с антителами, а также способы получения и применения подробно описаны Arruebo, M., et al., 2009 («Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications» in *J. Nanomat.* Volume 2009, Article ID 439389, 24 pages, doi: 10.1155/2009/439389), которая включена в настоящее описание посредством ссылки. Наночастицы могут быть разработаны и конъюгированы с антителами, содержащимися в фармацевтических композициях, для клеток-мишеней. Наночастицы для доставки лекарственных средств также описаны, например, в патентах US 8257740 или US 8246995,

каждый из которых включен в настоящее описание в полном объеме.

[083] В определенных ситуациях фармацевтическая композиция может доставляться в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления может использоваться насос. В другом воплощении, могут использоваться полимерные материалы. В еще одном варианте осуществления система с контролируемым высвобождением может быть размещена в непосредственной близости от мишени композиции, что требует только доли системной дозы.

[084] Препараты для инъекций могут включать лекарственные формы для внутривенных, подкожных, внутрочерепных, внутрибрюшинных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и т. д. Эти препараты для инъекций могут быть получены общеизвестными способами.

[085] Фармацевтическую композицию по настоящему описанию можно доставлять подкожно или внутривенно с помощью стандартной иглы и шприца. Кроме того, что касается подкожной доставки, устройство для доставки шприц-ручка легко находит применение при доставке фармацевтической композиции по настоящему описанию. Такое устройство доставки с инжектором в виде ручки может быть использовано повторно или может быть устройством однократного использования. Повторно используемая шприц-ручка, как правило, применяет заменяемый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. После того как введена вся фармацевтическая композиция внутри картриджа, и картридж пустой, то он может быть легко или удален, или заменен на новый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. Шприц-ручка может затем повторно использоваться. В одноразовом устройстве шприц-ручка нет заменяемого картриджа. Напротив, одноразовое устройство шприц-ручка уже предварительно заполнено фармацевтической композицией, которая находится внутри емкости внутри устройства. После того как из емкости удаляется фармацевтическая композиция, то все устройство выбрасывается.

[086] Преимущественно, фармацевтические композиции для перорального или парентерального применения, описанные выше, готовят в виде лекарственных форм в стандартной дозе, подходящей для дозы активного ингредиента. Такие лекарственные формы в единичной дозе включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекции (ампулы), суппозитории и т. д. Количество содержащегося антитела обычно составляет от примерно 5 до примерно 500 мг или от примерно 1 мг до примерно 200 мг на лекарственную форму в единичной дозе, особенно в форме инъекций.

Комбинированные Терапии

[087] Способы по настоящему описанию включают введение антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента в комбинации с дополнительным терапевтическим агентом или терапией. Комбинированная терапия может включать антитело или биологически активный фрагмент антитела, описанные в настоящем документе, и любой дополнительный терапевтический агент, который можно успешно комбинировать с ним.

[088] В зависимости от заболевания, расстройства или состояния антитела, описанные в настоящем документе, можно использовать в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, включая, помимо прочего, антагонист альдостерона (например, эплеренон, спиронолактон), альфа-адренергический блокатор (например, доксазозин, феноксibenзамин, фентоламин, празозин, теразозин), ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ) (например, беназеприл, каптоприл, эналаприл, фозиноприл, лизиноприл, мозексиприл, периндоприл, квинаприл, рамиприл, трандолаприл), артериоларный вазодилататор (например, гидралазин, миноксидил), вегетативный ганглиозный вазодилататор (например, мекамиламин), бета-адреноблокатор (ацебутолол, атенолол, бетаксоллол, бисопролол, карведилол, картеолол, эсмолол, лабетолол, метопролол, надолол, пенбутерол, пиндоллол, пропранолол, тимолол), симпатолитик, разрушающий катехоламин (например, дезерпидин, резерпин), центральный альфа-2-адренергический агонист (например, клонидин, гуанабенз, гуанфацин, метилдопа), блокатор кальциевых каналов (дилтиазем, верапамил, амлодипин, фелодипин, исрадипин, никадипин, нифедипин, нисолдипин), диуретик (например, буметанид, этакриновая кислота, фуросемид, торасемид, хлоротиазид, гидрохлоротиазид, гидрофлуметиазид, метклотиазид, политиазид, хлорталидон, индапамид, метолазон), ингибитор ренина (например, алискирен), антикоагулянт (например, кумардин, дабигатран, апиксабан), антитромбоцитарный агент (например, аспирин, клопидогрел), агент, снижающий уровень холестерина (например, статины, ингибитор PCSK9, такой как алирокумаб), вазодилататор (например, миноксидил, гидралазин, нитраты), наперстянка, хирургическое вмешательство (например, ангиопластика, аортокоронарное шунтирование, трансплантация сердца), имплантируемое устройство (например, замена клапана, устройство-дефибриллятор, вспомогательное устройство для левого желудочка, кардиостимулятор), противоопухолевая терапия (например, химиотерапевтический агент, хирургическое вмешательство, облучение, ингибитор PD-1), инсулин, агонист GLP1 (например, эксенатид, лираглутид, ликсисенатид, альбиглутид, дулаглутид, семаглутид), метформин, агент, повышающий артериальное давление, диализ, стимулятор костного мозга, гемофильтрация, модификация образа жизни и пищевая добавка.

[089] В настоящем описании термин «в комбинации с» означает, что дополнительный терапевтически активный компонент(ы) можно вводить до, одновременно или после введения антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента. Термин «в комбинации с» также включает последовательное или одновременное введение антитела против NPR1 и второго терапевтического агента.

[090] Дополнительный терапевтически активный компонент(ы) можно вводить пациенту до введения антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента. Например, первый компонент можно считать введенным «до» второго компонента, если первый компонент вводят за 1 неделю, за 72 часа, за 60 часов, за 48 часов, за 36 часов, за 24 часа, 12 за час до, за 6 часов, за 5 часов, за 4 часа, за 3 часа, за 2 часа, за 1 час, за 30 минут или менее чем за 30 минут до введения второго компонента. В других вариантах

осуществления дополнительный терапевтически активный компонент(ы) можно вводить пациенту после введения антитела против NPR1 по настоящему описанию. Например, можно считать, что первый компонент вводится «после» второго компонента, если первый компонент вводится через 30 минут, через 1 час, через 2 часа, через 3 часа, через 4 часа, через 5 часов, через 6 часов, через 12 часов, через 24 часа, через 36 часов, через 48 часов, через 60 часов, через 72 часа или более после введения второго компонента. В других вариантах осуществления дополнительный терапевтически активный компонент(ы) можно вводить пациенту одновременно с введением антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента. «Одновременное» введение для целей настоящего описания включает, например, введение антитела против NPR1 и дополнительного терапевтически активного компонента пациенту в одной лекарственной форме или в отдельных лекарственных формах, вводимых пациенту в течение примерно 30 минут или меньше друг относительно друга. При введении в отдельных лекарственных формах каждую лекарственную форму можно вводить одним и тем же путем (например, как антитело против NPR1, так и дополнительный терапевтически активный компонент можно вводить внутривенно и т. д.); альтернативно, каждую лекарственную форму можно вводить различными путями (например, антитело против NPR1 можно вводить внутривенно, а дополнительный терапевтически активный компонент можно вводить перорально). В любом случае введение компонентов в одной лекарственной форме, в отдельных лекарственных формах одним и тем же путем или в отдельных лекарственных формах разными путями все считается «одновременным введением» для целей настоящего описания. Для целей настоящего описания введение антитела против NPR1 «до», «одновременно» или «после» (как эти термины определены в настоящем описании выше) введения дополнительного терапевтически активного компонента считается введением антитела против NPR1 «до», «одновременно» или «после» (как эти термины определены в настоящем описании выше) введения антитела против NPR1 «в комбинации» с дополнительным терапевтически активным компонентом.

Дозировка

[091] Количество антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента, вводимого пациенту в соответствии со способами, раскрытыми в настоящем описании, обычно представляет собой терапевтически эффективное количество. Фраза «терапевтически эффективное количество», используемая в настоящем описании, относится к количеству антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1), что вызывает целевой эффект, ради которого осуществляют введение. В некоторых вариантах осуществления целевым эффектом является снижение артериального давления у пациента. В дополнительных вариантах осуществления целевым эффектом является снижение артериального давления у пациента без возникновения побочных эффектов, связанных с гипотензией (включая, помимо прочего, тошноту, головокружение, рвоту, нехватку кислорода, проблемы с сердцем, повреждение почек, обмороки (и связанные с ними

травмы), измененная локомоция и даже смерть.

[092] В некоторых вариантах осуществления дозировки могут быть выражены в виде фиксированных доз или доз на основе массы тела.

[093] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела против NPR1 или его антигенсвязывающего фрагмента, такого как REGN5381 или его биоэквивалент) может составлять от примерно 0,01 мг до примерно 500 мг, от примерно 0,1 мг до примерно 400 мг, от примерно 1 мг до примерно 300 мг, от примерно 5 мг до примерно 250 мг, от примерно 10 мг до примерно 200 мг или от примерно 5 мг до примерно 150 мг антитела. Например, в различных вариантах осуществления количество антитела составляет примерно 0,01 мг, примерно 0,05 мг, примерно 0,1 мг, примерно 0,2 мг, примерно 0,3 мг, примерно 0,4 мг, примерно 0,5 мг, примерно 1 мг, примерно 2 мг, примерно 3 мг, примерно 4 мг, примерно 5 мг, примерно 6 мг, примерно 7 мг, примерно 8 мг, примерно 9 мг, примерно 10 мг, примерно 11 мг, примерно 12 мг, примерно 13 мг, примерно 14 мг, примерно 15 мг, примерно 16 мг, примерно 17 мг, примерно 18 мг, примерно 19 мг, примерно 20 мг, примерно 21 мг, примерно 22 мг, примерно 23 мг, примерно 24 мг, примерно 25 мг, примерно 26 мг, примерно 27 мг, примерно 28 мг, примерно 29 мг, примерно 30 мг, примерно 31 мг, примерно 32 мг, примерно 33 мг, примерно 34 мг, примерно 35 мг, примерно 36 мг, примерно 37 мг, примерно 38 мг, примерно 39 мг, примерно 40 мг, примерно 41 мг, примерно 42 мг, примерно 43 мг, примерно 44 мг, примерно 45 мг, примерно 46 мг, примерно 47 мг, примерно 48 мг, примерно 49 мг, примерно 50 мг, примерно 55 мг, примерно 60 мг, примерно 65 мг, примерно 70 мг, примерно 75 мг, примерно 80 мг, примерно 85 мг, примерно 90 мг, примерно 95 мг, примерно 100 мг, примерно 105 мг, примерно 110 мг, примерно 115 мг, примерно 120 мг, примерно 125 мг, примерно 130 мг, примерно 135 мг, примерно 140 мг, примерно 145 мг, примерно 150 мг, примерно 155 мг, примерно 160 мг, примерно 165 мг, примерно 170 мг, примерно 175 мг, примерно 180 мг, примерно 185 мг, примерно 190 мг, примерно 195 мг, примерно 200 мг, примерно 210 мг, примерно 220 мг, примерно 230 мг, примерно 240 мг, примерно 250 мг, примерно 260 мг, примерно 270 мг, примерно 280 мг, примерно 290 мг, примерно 300 мг, примерно 350 мг, примерно 400 мг, примерно 450 мг или примерно 500 мг. В конкретных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в низкой дозе, составляющей от примерно 1 мг до примерно 200 мг.

[094] Количество антитела, содержащегося в индивидуальной дозе, может быть выражено в миллиграммах антитела на килограмм массы тела пациента (т. е. мг/кг). В некоторых вариантах осуществления антитело, используемое в способах, раскрытых в настоящем описании, можно вводить пациенту в дозе от примерно 0,0001 до примерно 50 мг/кг массы тела пациента. В некоторых вариантах осуществления антитело против NPR1 можно вводить в дозе от примерно 0,1 мг/кг до примерно 25 мг/кг массы тела пациента. В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение антитела в дозе примерно от 0,1 мг/кг до 5 мг/кг, от 1 мг/кг до 3 мг/кг, от 1 мг/кг

до 5 мг/кг, от 1 мг/кг до 10 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 5 мг/кг или 10 мг/кг массы тела пациента. В конкретных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе от примерно 0,031 до примерно 5 мг/кг или от примерно 5 мг/кг до примерно 25 мг/кг массы тела пациента. В дополнительных вариантах осуществления пациенту вводят низкую дозу антитела или антигенсвязывающего фрагмента. В одном варианте осуществления низкая доза составляет примерно 5 мг/кг.

ПРИМЕРЫ

[095] Следующие примеры приведены для того, чтобы предоставить специалистам в данной области техники полное раскрытие и описание того, как приготовить и использовать способы и композиции по описанию, и примеры не предназначены для ограничения объема того, что авторы изобретения считают как его раскрытие. Были предприняты усилия для обеспечения точности по отношению к используемым числам (например, количествам, температуре и т. д.), но следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части представляют собой части по массе, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура представлена в градусах Цельсия, комнатная температура составляет примерно 25 °C, а давление является атмосферным или близко к нему.

[096] Иллюстративным антителом, используемым в следующих примерах, является REGN5381, полностью человеческое агонистическое антитело, которое специфически связывается с NPR1 и содержит HCVR/LCVR с SEQ ID NO: 1/2, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 с SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:4-SEQ ID NO:5-SEQ ID NO:6-VAS-SEQ ID NO:8. См. также US20200123263.

Пример 1: Влияние на системное артериальное давление однократной дозы моноклонального агонистического антитела против NPR1 (R5381) у нормотензивных мышей NPR1^{hu/hu}

Порядок проведения эксперимента

[097] Чтобы оценить реакцию на дозу с использованием низких доз агонистического антитела против NPR1 REGN5381 на системное артериальное давление у нормотензивных мышей NPR1^{hu/hu} с телеметрическим контролем, мышам-самцам NPR1^{hu/hu} (n=30) в возрасте ~11 недель имплантировали телеметрические устройства PA-C10 (DSI, Сент-Пол, Миннесота) и давали возможность восстановиться в течение по меньшей мере 7 дней, прежде чем их отнесли к группе (группы 1-5) (Таблица 1). Животных содержали индивидуально в стандартных условиях (температура от 64°F до 84°F (от 18°C до 29°C), относительная влажность от 30% до 70%) и поддерживали цикл 12 часов света/12 часов темноты. Корм (стандартный корм в виде гранул Research Diets) и воду предоставляли без ограничения.

Таблица 1 Краткое изложение доз и дозовых групп

Группа No.	Тестируемый или контрольный препарат	Уровень дозы (мг/кг/доза)	Объем дозы	Количество животных
------------	--------------------------------------	---------------------------	------------	---------------------

			(мл/кг)	Самцы
1	PBS	0	5	4
2	REGN5381	0,125	5	7
3	REGN5381	0,25	5	7
4	REGN5381	0,5	5	7
5	REGN5381	25	5	5

[098] Тестируемые белки вводили соответствующим животным один раз в день 0 путем подкожной инъекции. Объем дозы для каждого животного был основан на последнем измерении массы тела. Образцы крови собирали на 7-й день исследования и по его окончании для оценки биомаркеров сыворотки, а мочу собирали на 22-й день для анализа биомаркеров мочи.

[099] Систолическое давление, диастолическое давление, среднее артериальное давление, пульсовое давление и частоту сердечных сокращений регистрировали в течение 10 секунд каждые 10 минут в течение периода тестирования. Графически отображаемые телеметрические данные были получены от животных с жизнеспособными сигналами на протяжении прижизненного периода исследования.

Результаты

[0100] Артериальное давление (Фиг. 1A - 1C и 1E) было значительно и устойчиво снижено у всех нормотензивных мышей NPR1^{hu/hu}, получивших однократную дозу REGN5381. Величина снижения давления в значительной степени зависела от дозы: самая высокая доза (25 мг/кг) приводила к снижению давления приблизительно на 10-15 мм рт. ст. на протяжении всего исследования. На Фигуре 1 показаны изменения (1A) систолического, (1B) диастолического, (1C) пульсового давления, (1D) частоты сердечных сокращений и (1E) среднего артериального давления после введения однократной дозы моноклонального агонистического антитела против NPR1, REGN5381 или PBS. REGN5381 вызывал значительное снижение систолического, диастолического, пульсового и среднего артериального давления (Фиг. 1, таблица 2). Продолжительность фармакодинамического эффекта была соизмерима с дозой, при этом максимальная доза REGN5381 (25 мг/кг) сохранялась до 26 дней. Компенсаторное увеличение частоты сердечных сокращений наблюдалось в дозах 0,5 мг/кг или выше по сравнению с животными, получавшими контрольную дозу PBS. Значительные и стойкие эффекты артериального давления были обнаружены при разовых дозах REGN5381 до 0,125 мг/кг. Продолжительность снижения давления также зависела от дозы и соответствовала концентрациям REGN5381 в сыворотке на 7-й день (Фиг. 2), при этом самые высокие воздействия коррелировали с самым продолжительным эффектом, связанным с исследуемым препаратом, на гемодинамические конечные точки. Пиковое острое снижение давления оказалось дозозависимым: продолжительность эффекта артериального давления составляла примерно 10 дней при дозе 0,125 мг/кг и более 26 дней при дозе 25 мг/кг. Никакого влияния на объем мочи не было отмечено на 22-й день, а концентрации цГМФ в моче (Таблица 3), оцененные на 22-й

день, существенно не отличались от контрольных значений для любой из групп REGN5381.

Таблица 2, Среднее артериальное давление и частота сердечных сокращений на 26-ой день

Дозовая группа:	Систолическое (мм Hg)	Диастолическое (мм Hg)	Среднее артериальное (мм Hg)	Пульсовое давление (мм Hg)	Частота сердечных сокращений (уд/мин)
PBS	130±0,2	92±0,5	112±0,2	38±0,1	483±2
REGN5381 (0,125 мг/кг)	125±0,5*** *	90±0,5**	108±0,5*****	35±0,3*****	484±1
REGN5381 (0,25 мг/кг)	123±0,6*** *	90±0,3*	108±0,4*****	33±0,4*****	488±2
REGN5381 (0,5 мг/кг)	121±0,6*** *	89±0,3*****	106±0,4*****	32±0,3*****	494±3**
REGN5381 (25 мг/кг)	116±0,6*** *	87±0,4*****	102,8±0,4*****	28±0,3*****	498±3*****

Мыши NPR1^{hu/hu} с нормотензией с телеметрическим контролем были рандомизированы на пять групп с одинаковой массой тела и получали однократную подкожную инъекцию REGN5381 в дозах, перечисленных в Таблице 1. В качестве контроля использовали фосфатно-солевой буфер (PBS). Все значения являются средними ± SEM, n=3-6 на группу. Статистика - однофакторный дисперсионный анализ с критерием Даннетта; *p<0,05 по сравнению с PBS, **p<0,01 по сравнению с PBS; *****P<0,0001 по сравнению с PBS

Таблица 3 День 22. Объемы мочи и уровни цГМФ в моче.

Дозовая группа:	Объем мочи (мл/день)	цГМФ мочи (пмоль/мл)	цГМФ мочи (пмоль/день)
PBS	1,3±0,1	4560±563	5905±952
REGN5381 (0,125 мг/кг)	1,4±0,2	3897±598	5480±1093
REGN5381 (0,25 мг/кг)	1,4±0,2	3756±196	5150±907
REGN5381 (0,5 мг/кг)	1,1±0,2	3554±482	4135±1026
REGN5381 (25 мг/кг)	1,3±0,1	6366±983	8278±1941

Мыши NPR1^{hu/hu} с нормотензией с телеметрическим контролем были рандомизированы на пять групп с одинаковой массой тела и получали однократную подкожную инъекцию REGN5381 в дозах, перечисленных в Таблице 1. В качестве контроля использовали фосфатно-солевой буфер (PBS). Мочу собирали в течение ночи, начиная с 21-го дня исследования и заканчивая 22-м днем исследования. Все значения являются средними ± SEM, n=4-6 на группу. Статистика - однофакторный дисперсионный анализ с критерием Даннетта

Пример 2. Исследование влияния однократного внутривенного введения низкой дозы REGN5381 на системное артериальное давление у нормотензивных яванских макаков с телеметрическим контролем

Порядок проведения эксперимента

[0101] Чтобы идентифицировать низкую внутривенную дозу агонистического

антитела против NPR1 REGN5381, которая вызывала временное, но детектируемое снижение системного артериального давления у нормотензивных яванских макаков с телеметрическим контролем, самцам яванских макаков (n=22) весом 3-5 кг предварительно имплантировали телеметрические устройства PhysioTel Digital модели L11 (DSI, Сент-Пол, Миннесота). Животных акклиматизировали в лабораторном помещении в течение по меньшей мере 5 недель перед случайным распределением по дозовым группам (группы 1-4) (Таблица 4). Животных содержали в стандартных условиях (температура от 64°F до 84°F (от 18°C до 29°C); относительная влажность от 30% до 70%) и поддерживали цикл 12 часов света/12 часов темноты. Корм для приматов (сертифицированный PMI Nutrition International, корм для приматов № 5048) и воду предоставляли без ограничения.

Таблица 4 Краткое изложение доз и групп доз

Группа No.	Тестируемый или контрольный препарат	Уровень дозы (µг/кг)	Объем дозы (мл/кг)	Количество животных
				Самцы
1	Saline	0	1	3
2	REGN5381	8		7
3		31		7
4		125		5

[0102] Тестируемый белок или контрольный солевой раствор вводили соответствующим животным один раз в день посредством внутривенной инъекции. Объем дозы для каждого животного был основан на последнем измерении массы тела. Образцы крови для оценки уровня лекарственного средства собирали на исходном уровне, через 72 часа после приема дозы, а также в 7 и 14 дни исследования.

[0103] Данные о систолическом давлении, диастолическом давлении, среднем артериальном давлении и о частоте сердечных сокращений непрерывно собирали на протяжении всего эксперимента, при этом данные группировали по средним значениям за 60 минут на протяжении всего периода тестирования. Данные телеметрии были получены от животных с жизнеспособными сигналами на протяжении прижизненной части исследования.

Результаты

[0104] Артериальное давление (Таблицы 5 и 6; Фигуры 3A, 3B и 3D) снижалось дозозависимым образом в течение первых 24 часов. Статистически значимое снижение систолического давления наблюдали в течение первых 24 часов после введения дозы в группах 31 и 125 мкг/кг. Систолическое давление снизилось примерно на 3 и 5,1 мм рт. ст., соответственно. Эти эффекты были временными: давление возвращалось к контрольному уровню физиологического раствора в течение 24-48 часов после приема дозы. Статистически значимое снижение диастолического давления наблюдали в течение первых 24 часов после введения дозы в группах 31 и 125 мкг/кг. Диастолическое давление снижалось примерно на 2,6 и 4,2 мм рт. ст., соответственно. Эти эффекты были

временными: давление возвращалось к контрольному уровню физиологического раствора в течение 24-48 часов после приема дозы. В соответствии с эффектами систолического и диастолического давления, статистически значимое снижение среднего артериального давления (Среднее АД) наблюдали в течение первых 24 часов после введения дозы в группах 31 и 125 мкг/кг. Среднее АД снижалось примерно на 2,7 и 4,8 мм рт. ст., соответственно. Эти эффекты были временными: давление возвращалось к контрольному уровню физиологического раствора в течение 24-48 часов после приема дозы. Низкая доза 8 мкг/кг вызывала тенденцию к статистически значимому снижению систолического, диастолического и Среднего АД в течение первых 24 часов, без каких-либо различий в дальнейшем. После введения дозы частота сердечных сокращений снижалась у всех животных. Никаких статистически значимых эффектов, связанных с REGN5381, в отношении частоты сердечных сокращений не наблюдали ни в одном из оцениваемых моментов времени, хотя тенденция к увеличению, но не статистически значимому, была отмечено в дозе 125 мкг/кг по сравнению с контролем в виде физиологического раствора.

Таблица 5. Среднее систолическое и диастолическое давление

Дозовая группа:	Систолическое артериальное давление (изменение относительно исходного уровня)		Диастолическое артериальное давление (изменение относительно исходного уровня)	
	0-24-ч среднее	24-48-ч среднее	0-24-ч среднее	24-48-ч среднее
Солевой раствор	1,64±0,55	-0,06±0,55	1,0±0,15	-0,90±0,45
REGN5381 (8 мкг/кг)	-0,16±0,66	-0,85±0,89	-0,60±0,54	-1,29±0,76
REGN5381 (31 мкг/кг)	-3,07±1,01**	-1,57±0,60	-2,63±0,87*	-1,85±0,52
REGN5381 (125 мкг/кг)	-5,08±0,76***	-1,78±0,76	-4,17±0,76**	-1,63±1,06

*Яванские макаки нормотензией с телеметрическим контролем были рандомизированы на четыре группы с одинаковой массой тела и получили однократную внутривенную инъекцию REGN5381 в дозах, перечисленных в Таблице, 4. Все значения представляют собой среднее ± SEM, n=3-7 на группу. Статистический анализ - однофакторный ANOVA с тестом Даннета; *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 относительно контрольного солевого раствора.*

Таблица 6. Средняя частота сердечных сокращений и среднее артериальное давление

Дозовая группа:	частота сердечных сокращений (изменение относительно исходного уровня)		среднее артериальное давление (изменение относительно исходного уровня)	
	0-24-ч среднее	24-48-ч среднее	0-24-ч среднее	24-48-ч среднее
Солевой раствор	-9,40±1,86	-9,72±2,59	1,5±0,34	-0,38±0,48
REGN5381 (8 мкг/кг)	-10,08±2,78	-15,76±2,23	-0,29±0,54	-0,98±0,79
REGN5381 (31 мкг/кг)	-12,02±1,45	-17,31±2,07	-2,73±0,99*	-1,57±0,59
REGN5381 (125 мкг/кг)	-4,95±2,22	-7,47±2,28	-4,75±0,72***	-1,61±0,85

Яванские макаки с нормотензией с телеметрическим контролем были

рандомизированы на четыре группы с одинаковой массой тела и получили однократную внутривенную инъекцию REGN5381 в дозах, перечисленных в Таблице 4, Все значение представляют собой среднее \pm SEM, $n=3-7$ на группу, Статистический анализ - однофакторный ANOVA с тестом Даннета; $*p<0,05$, $**p<0,01$, $***p<0,001$ относительно контрольного солевого раствора.

[0105] Общие концентрации REGN5381 в сыворотке измеряли с помощью иммуноферментного анализа. Образцы сыворотки получали перед введением дозы, затем через 72 часа, а также через 7 и 14 дней после введения дозы. Концентрации REGN5381 были ниже предела количественного определения 0,078 мкг/мл во всех образцах, кроме группы с 125 мкг/кг, через 72 часа после приема дозы.

Таблица 7. Уровень REGN5381 в сыворотке

Момент времени:	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл	мкг/мл
До приема препарата	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
72 часа после приема препарата	BLQ	BLQ	BLQ	0,31 \pm 0,11
День 7	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
День 14	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

Нормотензивные яванские макаки с телеметрическим контролем были рандомизированы на четыре группы с одинаковой массой тела и получили однократную внутривенную инъекцию REGN5381 в дозах, перечисленных в Таблице 4. Все значения являются средними \pm стандартное отклонение, $n=3-7$ на группу. BLQ=ниже предела количественного определения ($<0,078$ мкг/мл в чистой сыворотке)

[0106] На Фигуре 3А показаны изменения систолического давления после введения однократной дозы агонистического mAb против NPR1 REGN5381 или физиологического раствора. На фигуре 3В показаны изменения диастолического давления после введения однократной дозы агонистического mAb против NPR1 REGN5381 или физиологического раствора. На Фигуре 3С показаны изменения частоты сердечных сокращений после введения однократной дозы агонистического mAb против NPR1, REGN5381 или физиологического раствора. На Фигуре 3D показаны изменения среднего артериального давления после введения однократной дозы агонистического mAb против NPR1, REGN5381 или физиологического раствора. Основные результаты заключаются в том, что агонистическое mAb против NPR1, REGN5381, оказывает статистически значимое, но временное воздействие на артериальное давление после однократного внутривенного введения до 31 мкг/кг. Эти эффекты были дозозависимыми и сохранялись в течение менее 48 часов, о чем свидетельствует отсутствие статистически значимой разницы у любого из животных, которым вводили REGN5381, по сравнению с контролем в течение периода от 24 до 48 часов после введения дозы. Эти эффекты давления происходили независимо от значительного влияния на частоту сердечных сокращений.

[0107] Дополнительные данные показывают влияние REGN5381 на объем плазмы

(по сравнению с 5%-ным забором крови или контролем). Изменение объема плазмы с течением времени измеряли у 24 самцов яванских макак, отнесенных к одной из трех групп в день 0 и которым на день 6 вводили физиологический раствор (контроль, n=8), физиологический раствор+5% забор крови (n=8) или REGN5381 в дозе 25 мг/кг (n=8) через головную или подкожную вену. В день 0 (исходный уровень), день 6 (дозирование) и день 20 (восстановление) у всех животных проводили забор образцов крови по 3-5 мл для измерения объема крови. Пробы анализировали на общую радиоактивность. Данные выражаются как групповое среднее \pm стандартная ошибка среднего. Статистическую значимость определяли с использованием двухфакторного анализа ANOVA с повторными измерениями, за которым следовал апостериорный критерий множественных сравнений Тьюки ($\alpha=0,05$).

Таблица 8: Влияние REGN5381 на средний объем плазмы

Средний объем плазмы (мл)			
	Исходный уровень	4-ч после введения препарата	Восстановление
Контроль	206 \pm 13	202 \pm 4	201 \pm 7
5% забор крови	184 \pm 15	189 \pm 14	182 \pm 8
REGN5381	188 \pm 8	169 \pm 5***	171 \pm 7*

\pm SEM; * $p<0,05$, *** $p<0,001$ относительно контроля

[0108] REGN5381 значительно снижал средний объем плазмы и был эффективен в снижении объема плазмы при снижении количества крови на 5%.

Пример 3. Оценка острой гемодинамики REGN5381 у анестезированных собак породы бигль

Порядок проведения эксперимента

[0109] Целью данного исследования было оценить острый гемодинамический профиль REGN5381 при введении анестезированным самцам собак породы бигль посредством однократной внутривенной болюсной инъекции. Чтобы оценить острый гемодинамический профиль REGN5381 при введении анестезированным самцам собак породы бигль путем однократной внутривенной болюсной инъекции, перед введением дозы каждое животное подвергалось анестезии и анализировалось для получения данных сердечно-сосудистой гемодинамики и сбора мочи. Каждое животное получало одну внутривенную болюсную дозу физиологического раствора (n=6), валсартан 10 мг/кг (n=4) или 25 мг/кг REGN5381 (n=6). После введения дозы за животными наблюдали в течение 4 часов для оценки гемодинамических изменений. Сигналы давления в левом желудочке и системного давления собирали для каждого животного перед введением дозы и в течение 4-часового периода мониторинга после введения дозы; измерения перед введением дозы служили исходным уровнем для каждого животного. Конечный систолический объем и конечный диастолический объем оценивали с помощью трансторакальной эхокардиограммы до введения дозы и после нее один раз в час. Мочу собирали из мочевого пузыря и ее объем измеряли до введения дозы и после нее один раз в час. Перфузию коркового и мозгового слоя почек, измеряемую с использованием активированных

нейтронами микросфер, определяли до введения дозы, а также через 2 и 4 часа после введения дозы для некоторых животных, получавших REGN5381 (n=4) и физиологический раствор (n=4). Измерения перед введением дозы служили исходным уровнем для каждого животного.

Результаты

[0110] REGN5381 приводил к острому временному среднему снижению ЧСС по сравнению с исходным уровнем центрального венозного давления (ЦВД), сопровождаемому острым временным средним повышением ЧСС от исходного уровня в течение первого часа после приема дозы. Наблюдаемые изменения среднего значения ЦВД и ЧСС были связаны с показаниями 3 из 6 животных, получивших REGN5381, где степень изменения ЦВД коррелировала со степенью изменения ЧСС (Фиг. 4А и 4В). Кроме того, наблюдалось среднее снижение конечного диастолического давления в левом желудочке (КДДЛЖ) по сравнению с исходным уровнем в течение первого часа после введения дозы, которая была приписана тем же трем животным, что согласуется с индуцированным REGN5381 снижением предварительной нагрузки, что согласуется с наблюдаемым воздействием на ЦВД у этих животных (Фиг. 5).

[0111] У трех других животных, получивших REGN5381, ЦВД после введения дозы и частота сердечных сокращений в течение первого часа после введения дозы были аналогичны исходным уровням. Оценка воздействия показала, что все животные имели сопоставимые концентрации REGN5381 в сыворотке (данные не показаны). В соответствии с данными артериального систолического давления не наблюдалось никаких изменений среднего АД или системного сосудистого сопротивления (ССС). Наблюдалось временное среднее снижение артериального пульсового давления (ПД) по сравнению с исходным уровнем (Фиг. 6А и 6В). Отсутствие изменений артериального давления и временный характер каких-либо гемодинамических эффектов не согласовывались с наблюдаемыми у находящихся в сознании подвергнутых телеметрии собак (данные не сообщаются), приматов (данные не показаны) и мышей (данные не сообщаются), вероятно, из-за экспериментальных условий, связанных с этой хирургической процедурой, включая, помимо прочего, анестезию (как индукционную, так и поддерживающую), положение лежа на боку во время сбора данных и механическую вентиляцию легких.

[0112] Никаких средних изменений ЦВД или ЧСС не наблюдалось у животных, получавших валсартан в течение первого часа после введения дозы; раннее, временное среднее снижение по сравнению с исходным уровнем КДДЛЖ наблюдалось у животных, получавших валсартан в течение первого часа после приема дозы; однако это было связано с показаниями одного животного (вероятно, из-за неправильного размещения катетера). У животных, получавших валсартан, наблюдалось среднее снижение по сравнению с исходным уровнем среднего АД и ПД в течение первого часа после введения дозы, а также среднее снижение СССР в течение 4-часового периода наблюдения, что соответствует механизму действия валсартана как блокатора рецепторов ангиотензина II.

[0113] Никаких средних изменений ЦВД, ЧСС, КДДЛЖ, ПД или СССР не

наблюдалось у животных, получавших физиологический раствор. Небольшое увеличение Среднего АД наблюдалось у животных, получавших физиологический раствор; однако этот эффект, вероятно, был обусловлен хирургической подготовкой (т. е. температурой и/или глубиной плоскости анестезии).

[0114] В совокупности у собак, которые ответили на REGN5381, эти результаты показывают, что REGN5381 вызывает устойчивые временные эффекты в отношении венозного давления с корреляционной рефлекторной тахикардической реакцией при введении анестезированным, лежащим на боку нормотензивным собакам породы бигль с телеметрическим контролем. Наблюдаемые гемодинамические изменения не зависят от каких-либо изменений диуреза или системной перфузии органов. Наблюдаемые гемодинамические эффекты, индуцированные REGN5381, отличаются от эффектов, вызванных стандартным лечением валсартаном, что позволяет предположить другой механизм действия гемодинамических эффектов, индуцированных REGN5381.

[0115] Наконец, REGN5381 не влиял на почечную перфузию и не индуцировал диурез. Никаких изменений по сравнению с исходным уровнем перфузии коркового или мозгового слоя почек через 2 и 4 часа после введения дозы у животных, получивших REGN5381, не наблюдалось. Кроме того, не наблюдалось никаких изменений диуреза по сравнению с исходным уровнем среди животных, получавших REGN5381 в оцениваемые моменты времени. По сравнению с контрольными животными, подобранными по времени, значительное увеличение диуреза наблюдалось через 1 и 2 часа после введения дозы у животных, получавших валсартан. Никаких средних изменений диуреза или почечной перфузии не наблюдалось у животных, получавших физиологический раствор.

[0116] Таким образом, в исследовании по оценке острой гемодинамики при внутривенном введении однократной дозы REGN5381 в дозе 25 мг/кг анестезированным собакам REGN5381 резко снижал венозное давление у 3 из 6 животных в течение первого часа после введения дозы, не влияя на артериальное давление. REGN5381 вызывал резкое среднее снижение центрального венозного давления (ЦВД) по сравнению как с исходным уровнем, так и с контрольными значениями, подобранными по времени. В сочетании с наблюдаемым резким снижением ЦВД у животных, которым вводили REGN5381, наблюдалось резкое, временное увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС) по сравнению как с исходным уровнем, так и с контрольными животными, подобранными по времени, в течение первого часа после введения дозы. Оценка данных отдельных животных показала, что гемодинамические и связанные с этим изменения ЧСС были ограничены 3 из 6 животных, получивших REGN5381, где величина снижения ЦВД коррелировала со степенью изменения ЧСС. REGN5381 не влиял на артериальное давление в этой анестезированной модели, поскольку ни изменение относительно исходного уровня, ни сравнение с соответствующим по времени контрольным средним артериальным давлением (среднее АД) не различались. Гемодинамические изменения, вызванные REGN5381, не влияли на перфузию органов, поскольку не было отмечено никаких изменений по сравнению с исходным уровнем или по сравнению с контрольной группой, подобранной по

времени, для перфузии коркового или мозгового слоя почек через 2 и 4 часа после введения дозы. Кроме того, при почасовой оценке после приема дозы не наблюдалось никакого влияния REGN5381 на диурез. Наблюдаемые вариации ответа на REGN5381 могут быть связаны с индивидуальными различиями в экспрессии и/или функции NPR1, обусловленными подготовкой к анестезии и плоскостью анестезии каждого животного, а также механической вентиляцией и лежачим положением собак на боку. Наблюдаемая величина снижения венозного давления коррелировала с соответствующей степенью увеличения частоты сердечных сокращений в течение первого часа после приема дозы. Этот эффект, вероятно, является компенсаторной рефлекторной тахикардической реакцией на поддержание сердечного выброса у животных, реагирующих на REGN5381.

Пример 4. Фармакокинетическое и фармакодинамическое исследование по оценке REGN5381 с однократной подкожной и внутривенной инъекцией у самцов яванских макак с телеметрическим контролем.

[0117] Целью настоящего исследования было определить величину и продолжительность эффекта однократной внутривенной (IV) болюсной или подкожной (SC) инъекции REGN5381 в отношении системного артериального давления у самцов яванских макак с телеметрическим контролем. Кроме того, оценивали фармакокинетику (ФК) REGN5381.

[0118] Тридцать самцов яванских макак были отнесены к одной из 6 групп (5 животных/группа) (Таблица 9). Животные получали однократную подкожную инъекцию контрольного препарата или 1, 5 или 25 мг/кг REGN5381, или однократную внутривенную болюсную инъекцию 5 или 25 мг/кг REGN5381.

Таблица 9. Дизайн исследования фармакокинетики и фармакодинамическое исследование введенного REGN5381 посредством подкожной или внутривенной инъекции самцам яванских макак

Группа	Тестируемое вещество	Путь введения	Уровень дозы (мг/кг/день)	Концентрация (мг/мл)	Количество животных (Самцы)
1	Контроль (солевой раствор)	SC	0	0	5
2	REGN5381	SC	1	1	5
3	REGN5381	SC	5	5	5
4	REGN5381	SC	25	25	5
5	REGN5381	IV	5	5	5
6	REGN5381	IV	25	25	5

IV, внутривенная; SC, подкожная

Примечание. REGN5381 вводили посредством подкожной инъекции или внутривенной медленной болюсной инъекции в объеме 1 мл/кг.

[0119] Примечания: CL/F рассчитывали для групп SC, CL рассчитывали для групп IV.

[0120] Биодоступность рассчитывали с использованием AUClast в группе SC и сравнивали ее с группой внутривенного введения при том же уровне дозы.

[0121] Образцы крови для определения общей концентрации REGN5381 в сыворотке отбирали у всех животных перед введением дозы до 56-го дня.

[0122] Образцы крови, обработанные до плазмы или сыворотки, собирали у всех животных перед введением дозы и в выбранные моменты времени для анализа биомаркеров, включая циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) и/или N-концевой проатриальный натрийуретический пептид (NTproANP). В эти же моменты времени также проводили анализ мочи на цГМФ.

[0123] Электрокардиографию (ЭКГ) и артериальное давление регистрировали один раз во время предварительной обработки (неделя -1) в течение 24 часов и в течение 4 недель после приема дозы (за 3 часа до введения дозы до 28-го дня), затем один раз в неделю в течение 24 часов с 29-го по 56-й день.

Результаты

[0124] После введения REGN5381 в дозах от 1 до 25 мг/кг профили концентрации и времени общего REGN5381 характеризуются начальной короткой фазой распределения (IV) или фазой абсорбции (SC), за которой следует линейная бета-фаза выведения при высоких концентрациях, что соответствует насыщению пути мишень-опосредованного клиренса (TMC) и нелинейной фазе выведения при низких концентрациях, отражающих TMC. Линейная бета-фаза преимущественно наблюдается при дозах 5 и 25 мг/кг.

[0125] После внутривенного введения дозы REGN5381 в дозах 5 и 25 мг/кг C_{max} увеличивалась пропорционально дозе, о чем свидетельствуют почти эквивалентные нормализованные к дозе значения C_{max} .

[0126] После внутривенного введения наблюдалось отклонение от дозопропорционального увеличения воздействия (AUC_{last}) для двух уровней дозы, что указывает на движение к нелинейной кинетике. Общий клиренс (CL) еще снизился с увеличением дозы и связанного с этим увеличением концентрации: с 4,80 мл/день/кг в группе 5 мг/кг, до 3,95 мл/день/кг в группе 25 мг/кг.

[0127] После подкожного введения дозы REGN5381 в дозах 1, 5 и 25 мг/кг наблюдалось дозопропорциональное увеличение C_{max} . Среднее время t_{max} наблюдалось в диапазоне от 1,41 до 1,81 дня. В трех группах, получавших SC, наблюдалось увеличение воздействия, превышающее пропорциональное дозе (AUC_{last}). Рассчитанная биодоступность после подкожных доз 5 и 25 мг/кг была практически полной.

[0128] Период полувыведения ($t_{1/2}$) оценивали в терминальной фазе профилей «концентрация-время». Оценки в целом были сопоставимы между внутривенными и подкожными дозами при одном и том же уровне дозы. В группах, получавших дозу 25 мг/кг, где линейная бета-фаза наблюдалась на протяжении всего исследования, период полувыведения оценивался примерно в 9-11 дней.

Таблица 10. Средние фармакокинетические параметры общего количества REGN5381 в сыворотке после однократной подкожной или внутривенной инъекции REGN5381 самцу яванского макака

Параметр	Единицы	REGN5381 1 мг/кг SC			REGN5381 5 мг/кг SC			REGN5381 25 мг/кг SC			REGN5381 5 мг/кг IV			REGN5381 25 мг/кг IV		
		N	Сре днее	SD	N	Сре днее	SD	N	Сре днее	SD	N	Сред нее	SD	N	Сре днее	SD
C_{max}	мкг/мл	5	13,6	1,84	5	70,1	13,0	5	358	56,0	5	83,9	7,69	5	425	30,0
$C_{max}/\text{Доза}$	(мкг/мл)/(мг/кг)	5	13,6	1,84	5	14,0	2,61	5	14,3	2,24	5	16,8	1,54	5	17,0	1,20
t_{max}	День	5	1,81	0,84 2	5	1,61	0,54 8	5	1,41	0,547	5	1,00	0,013 8	5	1,00	0,013 0
$AUC_{\text{последн}}\text{я}$	День·(мкг/мл)	4	108	16,0	5	1090	90,9	5	6110	1290	3	1050	72,1	3	6220	410
$AUC_{\text{последн}}\text{я}/\text{Доза}$	День·(мкг/мл)/(мг/кг)	4	108	16,0	5	219	18,2	5	244	51,6	3	210	14,4	3	249	16,4
CL/F (CL)	мл/день/кг	4	7,44	1,57	5	4,57	0,40 8	5	4,15	1,25	3	4,80	0,330	3	3,95	0,350
Конечное $t_{1/2}$	День	4	5,66	0,95 9	5	6,34	1,46	5	11,2	2,87	3	4,12	0,107	3	9,20	3,05
V_{ss}	мл/кг	0	NC	NC	0	NC	NC	0	NC	NC	3	49,7	3,84	3	56,0	7,62
Биодоступность		--			104			98,2			--			--		

*AUC, Площадь под кривой зависимости концентрации от времени; AUC_{last} , AUC, рассчитанная от нуля до момента последней детектируемой концентрации; C_{max} , Пиковая концентрация; CL, общий клиренс из организма; CL/F, видимый общий клиренс из организма; IV, внутривенно; N - количество животных; NC, Не рассчитывается; SC, подкожно; SD, стандартное отклонение; t_{max} , время достижения C_{max} ; терминальное $t_{1/2}$, терминальный период полувыведения; V_{ss} , объем распределения в установившемся состоянии; --, Неприменимо

[0129] Во всех группах доз отмечалось снижение артериального давления, связанное с REGN5381. Общая величина изменений была одинаковой для трех уровней дозы; тем не менее, устойчивый гипотензивный эффект наблюдался в течение всего сеанса регистрации (56 дней) в группах с дозой 25 мг/кг подкожно и внутривенно, в то время как среднее артериальное давление имело тенденцию к значениям, сопоставимым с контрольной группой к концу сеанса регистрации (56 дней) для групп доз 1 и 5 мг/кг.

[0130] Следует отметить, что REGN5381 вызывал значительное и стойкое снижение системного артериального давления без каких-либо неблагоприятных признаков гипотензии (т. е. обмороков, изменения локомоции, смерти) у самцов яванских макаков с телеметрическим контролем.

Пример 5. Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование, состоящее из двух частей с однократной возрастающей дозой, для оценки безопасности, переносимости и фармакокинетики REGN5381 у людей.

Цели исследования

[0131] Основной целью настоящего исследования является оценка безопасности и переносимости однократных внутривенных (IV) доз REGN5381 у здоровых взрослых с нормотензией и здоровых взрослых с гипертензией.

[0132] Вторичными целями настоящего исследования являются оценка влияния однократных внутривенных доз REGN5381 на артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) у здоровых взрослых с нормотензией и здоровых взрослых с гипертензией; оценить влияние однократных внутривенных доз REGN5381 на систолический объем сердца (СО); оценить фармакокинетику (ФК) однократных внутривенных доз REGN5381; и оценить иммуногенность однократных внутривенных доз REGN5381.

[0133] Поискные цели настоящего исследования заключаются в оценке влияния однократных внутривенных доз REGN5381 на фармакодинамические (ФД) биомаркеры в сыворотке и моче агонизма рецептора 1 натрийуретического пептида (NPR1), указывающие на взаимодействие с мишенью; в оценке влияния однократных внутривенных доз REGN5381 на дополнительные исследовательские биомаркеры, связанные с функцией миокарда и почек; оценке влияния однократных внутривенных доз REGN5381 на сократимость сердца, дыхательные изменения сердечной деятельности и системное сосудистое сопротивление (ССС); оценке влияния однократного внутривенного введения REGN5381 на диурез и натрийурез; оценке влияния однократных внутривенных доз REGN5381 на вариабельность АД; оценке гемодинамических эффектов болюса кристаллоидной жидкости у пациентов, получающих однократные внутривенные дозы REGN5381; и в проведении поискового исследования, связанного с безопасностью и эффективностью REGN5381, NPR1 и АД.

Конечные точки исследования

[0134] Первичной конечной точкой в настоящем исследовании являются тип, частота и тяжесть нежелательных явлений, возникших во время лечения (НЯВЛ), после

однократного внутривенного введения дозы REGN5381 или плацебо с течением времени.

[0135] Вторичными конечными точками в настоящем исследовании являются: изменение по сравнению с исходным уровнем систолического артериального давления (САД), диастолического артериального давления (ДАД), среднего артериального давления (Среднее АД), пульсового давления (ПД), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и систолического объема (СО) с течением времени; максимальное изменение САД, ДАД, Среднего АД, ПД, ЧСС и СО по сравнению с исходным уровнем в течение первых 24 часов после приема дозы; изменение по сравнению с исходным уровнем средних 24-часовых значений САД, ДАД, Среднего АД, ПД и ЧСС, измеренных в период от 0 до 24 часов, от 24 до 48 часов и от 48 до 72 часов после введения дозы; концентрации REGN5381 с течением времени; а также количество и процент пациентов, у которых с течением времени развиваются антитела к лекарственным препаратам (ADA) и их титры.

[0136] Поисковыми конечными точками настоящего исследования являются: изменение уровня цГМФ в моче и цГМФ в плазме с течением времени; изменение по сравнению с исходным уровнем ренина, альдостерона, N-концевого (NT)-proBNP и сердечного тропонина Т после введения дозы с течением времени; изменение производной артериального давления от исходного уровня во времени (dP/dt); изменение диуреза и клиренса натрия по сравнению с исходным уровнем с течением времени; изменение вариабельности АД по сравнению с исходным уровнем с течением времени; и изменение СО, вариации ударного объема (SVV), САД, ДАД и Среднего АД с течением времени после болюса кристаллоидной жидкости.

Переменные исследования

[0137] Переменные исследования включают: i) Демографические и исходные характеристики (исходные характеристики будут включать стандартные демографические данные (например, возраст, раса, вес, рост и т. д.), историю болезни и историю приема лекарств для каждого пациента); ii) Переменные безопасности (переменные безопасности включают осциллометрические показатели АД и ЧСС (как в полулежачем, так и в ортостатическом положении), телеметрию, другие жизненно важные показатели (например, температуру и частоту дыхания), физическое обследование, электрокардиограммы (ЭКГ), лабораторные исследования (гематологические, химические исследования) и анализ мочи) и нежелательные явления (НЯ)); iii) Фармакокинетические переменные (переменная ФК представляет собой концентрацию общего REGN5381 и время); iv) переменные иммуногенности (переменными иммуногенности являются статус и титр ADA, а также номинальное время отбора проб/визита); и v) Фармакодинамические и другие переменные биомаркеров (фармакодинамические переменные получают на основе непрерывного анализа пульсовой волны (PWA) и включают САД, ДАД, среднее АД, сердечный выброс, СО, ВУО, ССС, и dP/dT ; дополнительные переменные биомаркеров, подлежащие оценке включают цГМФ суточной мочи, цГМФ плазмы, ренин плазмы, альдостерон плазмы, N-концевой (NT)-proBNP плазмы и высокочувствительный сердечный тропонин-Т плазмы (hs-cTnT); биомаркерные переменные представляют собой

концентрации каждого биомаркера в моче (цГМФ суточной мочи) или плазме (цГМФ, ренин, альдостерон, NT-proBNP и плазменный hs-cTnT) в каждый момент времени, когда берется образец).

Дизайн исследования:

[0138] Настоящее исследование представляет собой рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое первое исследование REGN5381 на человеке (ФИН), фазы 1, состоящее из двух частей. Целью данного исследования является проверка безопасности, переносимости, ФК и ФД однократных возрастающих внутривенных доз REGN5381, агонистического моноклонального антитела против NPR1, у здоровых взрослых с нормальным давлением и здоровых взрослых с гипертензией в возрасте от 18 до 55 лет. Исследование будет проводиться в двух последовательных частях (Часть А и Часть В). Часть А представляет собой исследование REGN5381 с однократной возрастающей дозой (SAD) у здоровых взрослых с нормотензией и здоровых взрослых с гипертензией для оценки безопасности и переносимости серии доз. Часть В состоит из оценки гемодинамического ответа на внутривенное введение болюса жидкости после выбранной дозы REGN5381.

[0139] Части А и В исследования включают период скрининга (от дня -32 до дня -3), период условного повторного скрининга антигипертензивных средств (от дня -25 до дня -3, описанный ниже), период стационарного лечения/наблюдения (от дня -2 до дня 4), условный расширенный период стационарного наблюдения за безопасностью (от дня 5 до дня 21) и период амбулаторного наблюдения (от дня 8/недели 2 до дня 78/недели 12). В первый день исследования пациенты будут рандомизированы для получения REGN5381 (хранящегося на месте исследования при температуре от 2°C до 8°C) или плацебо в соотношении 6:2. Исследуемый препарат будет вводиться внутривенно (Фиг. 7).

[0140] Пациенты, которые присутствуют на первоначальном скрининге и находятся на стабильной антигипертензивной схеме, состоящей из одного антигипертензивного препарата, могут иметь право на участие в исследовании, но должны пройти процедуру отмывания продолжительностью не менее 1 недели или 5 периодов полувыведения, в зависимости от того, что дольше, но не превышая максимум 8 недель. Пациенты не подлежат отмыванию, если они принимают более одного антигипертензивного препарата или имеют САД, превышающее 140 мм рт. ст. во время скринингового визита. Пациентов, подвергнутых процедуре отмывания от антигипертензивного препарата, попросят сообщать о любых новых симптомах, включая результаты домашней оценки АД, если таковые имеются. Пациентам может быть предложено возобновить антигипертензивную терапию, и они не будут считаться подходящими для участия в исследовании. После того, как у этих пациентов был надлежащим образом отмыт антигипертензивный агент, они должны вернуться на повторный скрининговый визит отмывания, чтобы подтвердить право на участие в исследовании до рандомизации. Пациенты будут сохранять свой антигипертензивный агент до конца периода стационарного лечения/наблюдения. Пациенты могут возобновить прием домашнего антигипертензивного препарата в любое

время после выписки из стационара.

[0141] Право на участие в исследовании будет определяться на основе измерений АД и ЧСС при скрининге:

- Часть А: систолическое артериальное давление (САД) ≥ 100 мм рт. ст. и ≤ 140 мм рт. ст. и диастолическое артериальное давление (ДАД) ≥ 60 мм рт. ст. и ≤ 90 мм рт. ст. для ранних групп с возможностью адаптации набора пациентов с САД ≥ 130 мм рт.ст. и ≤ 165 мм рт.ст. и ДАД ≥ 60 мм рт.ст. и ≤ 100 мм рт.ст. (описано ниже); и

- Часть В: САД ≥ 130 мм рт.ст. и ≤ 165 мм рт.ст. и ДАД ≥ 60 мм рт.ст. и ≤ 100 мм рт.ст.

[0142] Что касается адаптации набора, критерии включения АД в Часть А могут быть адаптированы (решение будет принято на основе анализа совокупных данных по безопасности, включая АД и ЧСС, из ранней когорты в соответствии со следующими критериями):

- У трех или более пациентов наблюдается снижение САД или ДАД, превышающее 15 мм рт. ст. ниже исходного уровня с 1-го дня (до введения дозы), которое сохраняется в течение более 2 часов;

- У трех или более пациентов наблюдается ЧСС > 110 ударов в минуту и увеличение ЧСС по меньшей мере на 20 ударов в минуту выше исходного уровня с 1-го дня (до введения дозы), которое сохраняется в течение более 2 часов; или

- Двум или более пациентам требуется неотложная терапия.

Если критерии адаптации набора соблюдены, уровень дозы будет уменьшен или, если уже назначена самая низкая доза, повторится.

[0143] Важные критерии исключения из этого исследования включают сердечно-сосудистые заболевания в анамнезе (включая инсульт/транзиторную ишемическую атаку [ТИА]), факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний, включая диабет, гиперлипидемию, тяжелую гипертензию в анамнезе (САД > 180 или ДАД > 110 мм рт. ст.), а также необъяснимые обмороки, вегетативную дисфункцию или неврологические заболевания в анамнезе.

[0144] Подходящие пациенты, подписавшие информированное согласие, будут госпитализированы в отделение стационарного лечения/наблюдения в день исследования - 2. Во время пребывания в стационаре за пациентами будут наблюдать с использованием комбинации автоматических записей измерения АД осциллометрическим методом, непрерывного PWA и сердечной телеметрии. Подготовка места для лечения любых признаков или симптомов, связанных с ожидаемой или непредвиденной фармакологией, будет включать следующее: наличие обученного персонала, 2 катетера для внутривенного вливания, включая один калибра 18, установленный перед инфузией препарата и оставленный по меньшей мере на 4 часа, а также легкодоступная служба неотложной терапии.

[0145] Детальная гемодинамическая оценка будет проводиться во время стационарного лечения/периода наблюдения. Пациентам будет предоставлена фиксированная диета с натрием (приблизительно 3000 мг в день) на протяжении всего

периода стационарного лечения/наблюдения, и будет записываться общий объем потребляемой жидкости и диурез. Ортостатическое артериальное давление будет измерено в день -1, чтобы обеспечить оптимальный статус жидкости перед введением REGN5381. Общее пероральное потребление жидкости в день -1 и день 1 будет поддерживаться в фиксированных пределах для всех пациентов.

[0146] Продолжительность стационарного лечения/периода наблюдения после введения исследуемого препарата составит по меньшей мере 72 часа. Предусмотрены строгие критерии выписки и прекращения исследования, чтобы обеспечить адекватное восстановление гемодинамических эффектов перед выпиской. После выписки пациенты будут проходить серию еженедельных амбулаторных обследований для мониторинга безопасности и фармакокинетики в течение максимум 11 недель. Эти оценки могут быть выполнены во время расширенного стационарного мониторинга безопасности, если требуется дополнительный мониторинг. Диетических ограничений во время длительного стационарного наблюдения за безопасностью и амбулаторного периода не существует.

[0147] Только в части В взрослым пациентам с гипертензией, здоровым в остальном, будет вводиться болюс жидкости. Дальнейшие описания групп и повышения дозы представлены ниже. Выбор дозы части В будет выбран на основе имеющихся результатов ПД и безопасности до 8-го дня из группы с самой высокой дозой в части А.

[0148] Пациенты в группах 10 и 11 получают дозу болюса кристаллоидной жидкости объемом от 500 до 1000 мл через 2-24 часа после введения исследуемого препарата для оценки гемодинамического ответа. Будут определены точный объем и время введения болюса кристаллоидной жидкости, которые будут одинаковыми для всей группы.

[0149] Ожидаемая общая продолжительность этого исследования FIIH составляет приблизительно 65 недель, включая Часть А и Часть В.

Исследуемое лекарственное средство

[0150] Лекарственное средство REGN5381 поставляется в виде лиофилизированного порошка по 12,5 мг в стерильном флаконе одноразового применения. Пациенты в Части А и Части В будут получать либо REGN5381 IV, либо соответствующее плацебо IV в виде однократной дозы, вводимой посредством внутривенной инфузии со скоростью 20 мл/час с использованием шприцевого насоса. Ожидаемые уровни доз для Части А будут включать от 0,3 мг внутривенно до запланированной максимальной дозы 100 мг внутривенно. Уровень(и) дозы в Части В не будет превышать доз, испытанных в Части А, и будет основан на анализе данных Части А. Плацебо, соответствующее REGN5381, поставляется в виде лиофилизированного порошка в стерильном одноразовом флаконе.

Когорты исследования, часть А

[0151] До 72 здоровых пациентов с нормотензией или пациентов с гипертензией, здоровых в остальном, будут включены и рандомизированы в последовательные когорты в количестве до 9 с возрастающей дозой, включая дозы от 0,3 мг до 100 мг. Группы 8 и 9 являются факультативными когортами, дозировка которых не может превышать 100 мг. Эти дополнительные группы могут быть использованы для лучшего понимания

безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД) REGN5381 на основе накопленных данных о ПД и безопасности из когорт 1-7.

[0152] Каждая когорта, получающая дозу, будет состоять из 8 пациентов: 6 рандомизированных для получения однократной внутривенной дозы REGN5381 и 2 рандомизированных для получения плацебо. Для оптимизации безопасности первые 2 пациента в каждой группе (1 активное вещество: 1 плацебо) будут включены в состав сигнальной когорты и получают дозу по меньшей мере за 48 часов до остальных пациентов. Остальным пациентам будут введены дозы только после того, как оба пациента в сигнальной когорте благополучно проведут оценку безопасности в течение по меньшей мере 48 часов, данные о безопасности будут рассмотрены и решение о продолжении приема исследуемого препарата будет задокументировано. Сигнальные пациенты не требуются в случае повторения или снижения уровня дозы.

[0153] Планируется увеличение дозы в 3-3,3 раза между когортами в соответствии с критериями повышения дозы, приведенными ниже. Повышение дозы может быть скорректировано на основе наблюдаемой реакции ПД в каждой когорте; Может быть оправдано повышение уровня между дозами менее чем в 3-3,3 раза. Максимальная доза не будет превышать 100 мг.

[0154] На протяжении всего исследования постоянный анализ имеющихся данных о ПД и безопасности будет использоваться для определения продолжительности оценок и увеличения дозы для оставшихся когорт. Когорта 5 будет повторять дозу ≤ 10 мг у пациентов с легкой гипертензией. Выбор дозы для когорты 8 будет сделан после того, как будут рассмотрены полные данные о ПД и безопасности на 8-й день в когортах 1-7. Данные когорты 8 в течение дня 8 будут способствовать выбору дозы для когорты 9.

[0155] Когорты возрастающей дозы будут набираться следующим образом:

Когорта 1: REGN5381 в дозе 0,3 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза.

Когорта 2: REGN5381 ≤ 1 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза

Когорта 3: REGN5381 ≤ 3 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза

Когорта 4: REGN5381 ≤ 10 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза

Когорта 5: REGN5381 ≤ 10 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза

Когорта 6: REGN5381 ≤ 30 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза

Когорта 7: REGN5381 ≤ 100 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза

Когорта 8 (дополнительно): REGN5381 ≤ 100 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза.

Когорта 9 (дополнительно): REGN5381 ≤ 100 мг внутривенно (или плацебо), однократная доза.

Когорты исследования, часть В

[0156] До 40 пациентов с гипертензией, но в остальном здоровых будут включены в 11 когорт (когорта 11 не является обязательной). В каждой когорте 10 пациентов будут рандомизированы для получения однократной внутривенной дозы REGN5381 и 10 рандомизированы для получения плацебо. Этим двум когортам из Части В не потребуются

сигнальная когорта.

[0157] Уровень(и) дозы в Части В не будет превышать доз, протестированных в Части А, и будет основан на анализе имеющихся данных по безопасности и РД до 8-го дня в когорте с самой высокой дозой. Необязательная когорта может использоваться для оценки дополнительного уровня дозы из диапазона, ранее оцененного в Частях А и В. Включение окончательной, необязательной когорты в Часть В будет основано на имеющихся данных из Частей А и В, включая доступные данные по безопасности и данные ПД. Дозовые когорты будут включены следующим образом:

Когорта 10: REGN5381 ≤ 100 мг внутривенно, однократная доза (или плацебо) + болюс внутривенно.

Когорта 11 (дополнительно): REGN5381 ≤ 100 мг внутривенно, однократная доза (или плацебо) + болюс внутривенно.

Цель части В - охарактеризовать гемодинамический ответ на внутривенное введение жидкостей после выбранных доз REGN5381.

[0158] Части А и В исследования включают период скрининга, период условного повторного скрининга отмывания антигипертензивных средств, период стационарного лечения/наблюдения, условный расширенный период стационарного наблюдения безопасности и период амбулаторного наблюдения.

Повышение дозы, часть А

[0159] Начнется набор в дозовую когорту 1. Решение о переходе к следующей когорте с более высокой дозой будет принято после рассмотрения данных по безопасности до 8-го дня. Совокупные данные по безопасности будут рассмотрены для определения уровня дозы, подлежащей тестированию в следующей когорте, включая возможное повышение дозы, снижение уровня дозы, повторение уровня дозы, адаптацию набора к более высокому диапазону АД или полное прекращение приема исследуемого лекарственного средства и переход к Части В.

[0160] В рамках обзора совокупных данных по безопасности повышение дозы не произойдет, если 3 или более пациентов, получающих REGN5381, требуют расширенного мониторинга гемодинамических эффектов за пределами 72 часов в соответствии с критериями завершения участия отдельных пациентов, описанными ниже.

Критерии завершения участия отдельных пациентов, части А и В

[0161] Через 72 часа после введения дозы пациент пройдет осциллометрическую оценку АД и ЧСС и должен соответствовать всем следующим критериям, чтобы иметь право на выписку из стационарного наблюдения:

Медиана САД ≥ 90 мм рт.ст.; и

Медиана ЧСС ≤ 100 ударов в минуту или ЧСС менее или равна 1,2х ($\leq 120\%$) от исходного уровня с 1-го дня (до дозы), в зависимости от того, что выше;

Отсутствие неразрешенных НЯ, требующих продолжения стационарного наблюдения (Примечание: если у пациента наблюдаются неразрешенные НЯ через 72 часа после введения дозы, пациент может завершить участие, если соблюдены первые 2

критерия и НЯ можно соответствующим образом лечить в амбулаторных условиях).

[0162] Если 3 или более пациентов, получающих REGN5381, требуют расширенного наблюдения, можно решить повторить дозовую когорту, уменьшить уровень дозы и/или адаптировать набор участников для оставшихся в Части А. Альтернативно, повышение дозы Части А может быть прекращено, и исследование может перейти к Части В. Планируется интервал увеличения дозы в 3-3,3 раза между когортами, однако этот интервал может быть сокращен. Если будет принято решение об адаптации набора пациентов с мягкой гипертензией, уровень дозы будет уменьшен или, если уже назначена самая низкая доза, повторен с использованием адаптированных критериев включения.

[0163] Пациенты, которые не соответствуют индивидуальным критериям завершения участия через 72 часа после введения дозы, будут помещены для расширенного стационарного наблюдения в целях безопасности. Пациенты будут оцениваться каждый дополнительный день, пока они не смогут соответствовать критериям завершения участия. Изменения дозы, режима дозирования и/или клинических или лабораторных процедур (включая время отбора проб ФК и биомаркеров), изложенных к настоящему моменту, могут потребоваться для достижения научных целей исследования и/или для обеспечения надлежащего мониторинга безопасности участников исследования. Таким образом, на основании новых доступных данных могут быть разрешены некоторые изменения нынешней дозы и/или схемы дозирования, но максимальная доза не может превышать те, которые в настоящее время указаны в протоколе. Изменения, разрешенные в параметрах протокола, включают возможное увеличение дозы, снижение уровня дозы, повторение уровня дозы, адаптацию набора к более высокому диапазону АД (как описано выше) или полное прекращение приема исследуемого лекарственного средства и переход к Части В. Также могут быть исключены целые когорты, и, при необходимости, может быть запрошена пауза между когортами для анализа имеющихся данных ФК, ФД и безопасности.

[0164] Некоторые пациенты могут не соответствовать критериям завершения участия через 72 часа из-за снижения АД вследствие гиподинамии или диеты с низким содержанием натрия во время стационарного лечения/наблюдения; поэтому решения относительно повышения дозы будут приниматься на основе пациентов, которые получают REGN5381 и пройдут оценку безопасности на 8-й день. Возможность повторения уровня дозы или снижения до более низкой дозы позволяет дополнительно охарактеризовать степень и продолжительность гемодинамических эффектов и других параметров безопасности.

[0165] Конец исследования (EOS) определяется как дата, когда последний пациент завершает последний визит исследования, выходит из исследования или теряется для последующего наблюдения (т. е. с пациентом исследования больше невозможно связаться).

Пациенты исследования

[0166] В это исследование будут включены до 112 взрослых (до 72 в Части А и 40 в Части В). Учитывая, что критерии прекращения повышения дозы в Части А основаны на ответах на REGN5381 (данные по безопасности, включая, помимо прочего, АД и ЧСС) и

необязательных когортах в Частях А и В, возможно, что для этого потребуется меньшее количество пациентов для соответствия целям исследования. Подходящими пациентами для этого исследования являются здоровые мужчины и женщины в возрасте от 18 до 55 лет (включительно) с нормальным или слегка повышенным АД.

[0167] Критерии включения пациентов:

Пациенты мужского или женского пола в возрасте от 18 до 55 лет (включительно) при первичном обследовании;

САД и ДАД должны находиться в пределах 20 мм рт. ст. между измерениями на обеих руках пациентов во время первоначального скринингового визита;

Для Части А САД от 100 до 140 мм рт. ст. (включительно) и ДАД от 60 до 90 мм рт. ст. (включительно) при первоначальном скрининге, повторяются один раз в течение периода скрининга (Примечание: критерии включения АД для Части А могут быть адаптированы на основе рассмотрения совокупных данных по безопасности САД от 130 до 165 мм рт. ст. (включительно) и ДАД от 60 до 100 мм рт. ст. (включительно) при первичном скрининге, повторяется один раз в течение скринингового периода);

Для части В САД от 130 до 165 мм рт. ст. (включительно) и ДАД от 60 до 100 мм рт. ст. (включительно) при первоначальном скрининге, повторяется один раз в течение периода скрининга;

САД по меньшей мере 100 мм рт. ст. в первый день исследования до введения исследуемого препарата;

ЧСС в покое от 45 до 100 ударов в минуту (включительно) при первоначальном скрининге, повторяется один раз в течение периода скрининга;

Индекс массы тела от 18 до 33 кг/м² (включительно) при первичном обследовании;

Пациент считается здоровым на основании истории болезни, физического осмотра, измерений жизненно важных показателей и ЭКГ, выполненных во время скрининга и/или до введения исследуемого лекарственного средства;

Пациент здоров на основании лабораторного тестирования безопасности, полученного в течение периода скрининга (Примечание: любые клинически незначимые отклонения от нормы лабораторных результатов (например, уровень креатинфосфокиназы в пределах трехкратного верхнего предела нормы; с подозрением на причину, связанную с тяжелыми физическими нагрузками), могут быть повторены один раз в течение периода скрининга; если повторный тест находится в пределах нормы или не является клинически значимым за пределами нормального диапазона, пациент может быть включен в исследование);

Перед введением исследуемого препарата тесты на беременность должны быть отрицательными;

Желание и возможность соблюдать правила визитов клиники и процедуры, связанные с исследованием; и

Предоставить информированное согласие, подписанное пациентом исследования.

[0168] Критерии исключения пациентов:

Активная гипертензия, требующая лечения двумя или более антигипертензивными средствами; тяжелая артериальная гипертензия в анамнезе (САД >180 или ДАД >110 мм рт. ст.); а) пациенты, получающие монотерапию от гипертензии, могут быть включены в программу после процедуры отмывания в течение по меньшей мере 1 недели (или по меньшей мере 5 периодов полувыведения, в зависимости от того, что дольше); пациенты не имеют права на процедуру отмывания, если они получают лечение более чем одним антигипертензивным агентом, терапией высокими дозами бета-блокаторов или имеют САД, превышающее 140 мм рт. ст. во время скринингового визита; б) пациенты могут отказаться от монотерапии низкими дозами бета-блокаторов, определяемых как общая суточная доза метопролола <100 мг, общая суточная доза карведилола <25 мг, общая суточная доза атенолола <50 мг, общая суточная доза пропранолола <80 мг доза: общая суточная доза бисопролола \leq 5 мг или эквивалентные дозы других бета-блокаторов; в) период процедуры отмывания не может превышать 8 недель до введения дозы; пациенты могут возобновить антигипертензивную терапию во время выписки из стационара;

История болезни Рейно, любая предыдущая травма пальца, которая препятствовала бы ношению неинвазивного устройства PWA, или неадекватный артериальный пульс билатеральных пальцев, определяемый сигналом PWA;

История необъяснимых обмороков или вегетативной дисфункции;

В анамнезе клинически значимые сердечно-сосудистые (включая инсульт/ТИА), респираторные, печеночные, почечные, желудочно-кишечные, эндокринные, гематологические, психиатрические или неврологические заболевания, которые могут исказить результаты исследования или представлять дополнительный риск для пациента в результате участия в исследовании;

Любые результаты медицинского осмотра и/или история любого заболевания, которые могут исказить результаты исследования или создать дополнительный риск для пациента в результате участия в исследовании;

Госпитализация (>24 часов) по любой причине в течение 30 дней с момента скринингового визита;

Текущие или бывшие потребители никотина (горючие сигареты или электронные системы доставки никотина, включая электронные сигареты), те, кто бросил курить в течение 3 месяцев до скрининга, или текущий пользователь никотинзаместительной терапии; тест на котинин должен быть отрицательным при скрининге и перед введением исследуемого препарата;

История злоупотребления наркотиками или алкоголем в течение года до скринингового визита; тесты на наркотики и алкоголь должны быть отрицательными при скрининге и перед введением исследуемого препарата;

Наличие серопозитивности к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусу гепатита В (HBV) или вирусу гепатита С (HCV) при скрининге или в течение 3 месяцев до введения исследуемого препарата, за исключением ложноположительных результатов скрининговых тестов, подтвержденных полимеразной цепной реакцией или Вестерн-

блоттингом; HCV-серопозитивные пациенты с подтвержденным 12-месячным устойчивым вирусологическим ответом все еще могут быть включены в исследование;

Любое злокачественное новообразование в течение последних 5 лет, за исключением базальноклеточного или плоскоклеточного рака кожи или рака in situ шейки матки или ануса, которые были удалены, без признаков метастатического заболевания в течение 3 лет;

Расчетная скорость клубочковой фильтрации (с использованием уравнения исследования «Модификация диеты при заболеваниях почек» или уравнения исследования «Сотрудничества в области эпидемиологии хронических заболеваний почек») <60 мл/мин/1,73м² при скрининге, повторяется один раз в течение периода скрининга;

История острой гиперчувствительности и/или анафилаксии к белковым терапевтическим средствам, компонентам состава или аллергии, которые могут представлять существенный риск для пациента;

Участие в любом клиническом исследовании по оценке другого исследуемого лекарственного средства или терапии в течение 90 дней или не менее 5 периодов полувыведения (в зависимости от того, что дольше) для исследуемого биологического лекарственного средства или по меньшей мере 30 дней для других исследуемых продуктов или в течение 6 месяцев для предшествующей иммунотерапии до скринингового визита в рамках текущего исследования;

Сексуально активные мужчины, которые не желают использовать следующие формы приемлемого с медицинской точки зрения контроля над рождаемостью в течение периода лечения исследуемым препаратом до визита EOS: вазэктомия с медицинской оценкой успеха хирургического вмешательства ИЛИ постоянное использование презервативов; донорство спермы запрещено при посещении EOS;

Беременные или кормящие женщины;

Женщины детородного возраста (WOCBP, женщины, фертильные после менархе до наступления постменопаузы (отсутствие менструаций в течение 12 месяцев без альтернативной медицинской причины), за исключением случаев постоянной стерильности, с методами постоянной стерилизации, включая гистерэктомию, двустороннюю сальпингэктомию и двустороннюю овариэктомию), которые не хотят практиковать высокоэффективную контрацепцию до первоначальной дозы/начала первого лечения, во время исследования и во время визита EOS; К высокоэффективным мерам контрацепции относятся: i) стабильное применение комбинированных (содержащих эстроген и прогестаген) гормональных контрацептивов (пероральных, интравагинальных, трансдермальных) или только прогестагеновых гормональных контрацептивов (пероральных, инъекционных, имплантируемых), связанных с подавлением овуляции, инициированных 2 и более менструальных циклов до скрининга, ii) внутриматочная спираль; внутриматочная система высвобождения гормона, iii) двусторонняя перевязка маточных труб, iv) партнер, подвергшийся вазэктомии (при условии, что партнер-мужчина, подвергшийся вазэктомии, является единственным сексуальным партнером участника

исследования WOCBP и что партнер, подвергшийся вазэктомии, получил медицинскую оценку хирургического успеха процедуры), и /или v) половое воздержание (считается высокоэффективным методом только в том случае, если оно определяется как воздержание от гетеросексуальных контактов в течение всего периода риска, связанного с исследуемыми лекарственными средствами; надежность полового воздержания необходимо оценивать в зависимости от продолжительности клинического исследования и предпочтительного и обычного образа жизни пациента; периодическое воздержание (календарный, симптотермальный, постовуляционный методы), абстиненция (прерванный половой акт), только спермициды и метод лактационной аменореи не являются приемлемыми методами контрацепции; и женский презерватив и мужской презерватив не должны использоваться вместе).

Лечения исследования

[0169] REGN5381 или плацебо будут вводиться в виде однократной фиксированной возрастающей внутривенной дозы следующим образом:

Лекарственное средство REGN5381 поставляется в виде лиофилизованного порошка по 12,5 мг в стерильном флаконе одноразового применения.

Плацебо, соответствующее REGN5381, поставляется в виде лиофилизованного порошка в стерильном одноразовом флаконе.

[0170] Пациенты Части А будут получать либо REGN5381 внутривенно, либо соответствующее плацебо внутривенно в виде однократной дозы, вводимой посредством внутривенной инфузии со скоростью 20 мл/час с использованием шприцевого насоса. Ожидаемые уровни доз для Части А будут включать от 0,3 мг внутривенно до максимальной дозы 10 мг внутривенно.

[0171] Пациенты Части В будут получать либо REGN5381 внутривенно, либо соответствующее плацебо внутривенно в виде однократной дозы на уровне дозы, вводимой посредством внутривенной инфузии со скоростью 20 мл/час с использованием шприцевого насоса. Уровень(и) дозы в Части В не будет превышать доз, испытанных в Части А, и будет основан на анализе данных Части А. В части В будет использоваться коммерчески доступный болюс кристаллоидной жидкости объемом от 500 до 1000 мл.

[0172] Данные о безопасности и переносимости, а также данные ФК/ФД из начальных когорт анализируются в ходе проведения исследования. Доза для последующих когорт может быть скорректирована на основе новых данных из предыдущих когорт. Пациенты не будут получать дозы, превышающие указанные в протоколе, но могут получать более низкую дозу или дозу, ранее вводившуюся другой группе, для подтверждения безопасности и переносимости и/или для дальнейшей оценки эффектов ПД.

Процедуры исследования

[0173] Артериальное давление будет измеряться в ходе стационарного наблюдения и амбулаторного наблюдения. Артериальное давление будет оцениваться с использованием двух отдельных методов: автоматической осциллометрической манжеты на плечо и неинвазивной манжеты на палец. Автоматическое осциллометрическое измерение АД

используется для оценки АД на предмет включения/исключения, а также в качестве меры безопасности на протяжении всего исследования при каждом визите. Система манжет на палец собирает данные АД, используя комбинацию фотоплетизмографии и метода измерения объема для непрерывного сбора данных пульсовой волны для неинвазивного гемодинамического мониторинга во время стационарного лечения/периода наблюдения. Непрерывное измерение АД позволит точно оценить АД в течение первых 72 часов после введения дозы. Все осциллометрические измерения АД и ЧСС, упомянутые в этом исследовании, должны выполняться как 4 последовательных измерения, выполняемых не ранее, чем с интервалом примерно в 1 минуту. В качестве значения для этого момента времени следует использовать медианное значение АД и ЧСС последних трех измерений. Должно быть зарегистрировано, какая рука испытуемого (левая или правая) используется для каждой оценки.

[0174] Телеметрия ЧСС по двум отведениям будет оцениваться на протяжении всего стационарного лечения/наблюдения и расширенного стационарного мониторинга безопасности.

[0175] Диета и потребление воды: пациенты будут соблюдать диету с фиксированным содержанием натрия в течение периода стационарного наблюдения. Пациентам будет разрешено примерно 3000 мг натрия в день во время всех приемов пищи и перекусов. Пациенты будут поддерживаться на фиксированном потреблении воды в дни -1 и 1. Объем перорально поглощенной жидкости и мочеиспусканий регистрируют с интервалом в 6 часов. Прежде чем начать сбор мочи в день -1, пациентов попросят опорожнить мочевой пузырь. Начало сбора мочи и ограничение объема жидкости должно совпадать с началом приема препарата в первый день (± 2 часа). Для каждого интервала регистрируется время начала/остановки, объем поступающей и выходящей жидкости. В каждый день -1 и день 1 объем потребляемой жидкости составляет примерно 2,5 л.

[0176] Введение болюса жидкости Части В: болюс монокристаллической жидкости объемом от 500 до 1000 куб. см (путем внутривенной инфузии в течение примерно 15 минут) будет вводиться в период от 2 до 48 часов после введения исследуемого препарата, что будет определяться на основе ФК/ФД Части А.

[0177] Лабораторное тестирование: собранные образцы будут проверены на химический состав крови (натрий, калий, хлорид, бикарбонат, кальций, глюкоза, альбумин, общий белок (сыворотка), креатинин, азот мочевины крови (АМК)/мочевина, аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочная фосфатаза, лактатдегидрогеназа (ЛДГ), общий билирубин, триглицериды, мочевая кислота, креатинфосфокиназа (КФК), магний), гематология (гемоглобин, гематокрит, эритроциты (RBC), лейкоциты (WBC), показатели эритроцитов, количество тромбоцитов, дифференциальный (нейтрофилы, лимфоциты, моноциты, базофилы, эозинофилы)) и анализ мочи (тест-полоска (билирубин, pH, удельный вес, кетоны, белок), уробилиноген, нитрит, гем эритроцитов, глюкоза, микроскопический анализ (количество эритроцитов, количество лейкоцитов, форменные элементы мочи)). Другие лабораторные тесты

включают алкоголь/наркотики, беременность, ВИЧ, HBV, HCV, TSH, липидную панель, HbA1c, FSH, оценку ПД, концентрацию препарата, иммуногенность и исследовательские биомаркеры.

[0178] Фармакодинамические и объяснительные процедуры с биомаркерами: будут проведены исследовательские оценки, чтобы изучить, как REGN5381 может изменять передачу сигналов NPR1 у взрослых пациентов, имеющих гипертензию, но в остальном здоровых. В частности, будет изучена роль агонизма NPR1 и влияние REGN5381 на цГМФ, натрийурез/диурез и функцию сердца.

[0179] Дополнительные физиологические измерения включают сбор суточной мочи для оценки диуреза и натрийуреза. Натрийуретические пептиды и агонисты NPR1 (например, несиритид) оказывают важное влияние на гомеостаз натрия и объема крови. Доклинические исследования не продемонстрировали влияния REGN5381 на баланс натрия или воды; однако важно проверить эффект на людях. По этим причинам пациенты будут переведены на диету с фиксированным содержанием натрия во время стационарного наблюдения, с фиксированным потреблением жидкости в дни исследования -1 и 1, и будут записываться общие потребление и выведение за каждый 24-часовой период. Эти данные предоставят дополнительную информацию относительно механизмов действия REGN5381 у здоровых добровольцев. Образцы биомаркеров будут собираться (до и после введения лекарственного средства) в определенные моменты времени в течение периода стационарного наблюдения и амбулаторного наблюдения.

[0180] Фармакодинамические измерения маркеров/биомаркеров будут проводиться для определения влияния на биомаркеры активности NPR1, функции сердца и почек или соответствующих физиологических и патогенных процессов. Считается, что изученные биомаркеры имеют отношение к патофизиологии показаний, доказательствам взаимодействия с мишенью, механизму действия REGN5381 и/или возможным ранним признакам токсичности. Измерения биомаркеров предоставят дополнительную информацию о безопасности и эффективности REGN5381. Они будут включать, помимо прочего, биомаркеры сердечного повреждения (сердечный тропонин).

Сердечный тропонин плазмы (высокочувствительный сердечный тропонин-T (hs-cTnT) - высокочувствительный биомаркер сердечной ишемии в ответ на сердечную деятельность);

цГМФ (цГМФ в плазме и моче являются очень близкими мерами активности NPR1 в ответ на взаимодействие агонистов NPR1);

Натрий (натрий в моче измеряет выведение натрия почками; увеличение его содержания (или выведение натрия с мочой) наблюдалось при участии NPR1; модуляция натрия в моче с помощью REGN5381 с течением времени является поисковой мерой в этом исследовании; результаты этих анализов будут сообщены в CSR);

ренин (измерение уровня ренина в плазме позволяет изучить влияние REGN5381 на другие эндогенные натрийуретические гормоны);

альдостерон (измерение альдостерона на исходном уровне и модуляция

альдостерона с течением времени являются поисковыми мерами в этом исследовании; результаты этих анализов будут представлены в CSR);

NT-proBNP (NT-proBNP плазмы представляет собой биомаркер, позволяющий изучать влияние агонизма REGN5381 NPR1 на один из его измеряемых эндогенных агонистов);

Анализ пульсовой волны (анализ пульсовой волны позволяет получить расширенные параметры гемодинамики и постоянное неинвазивное измерение АД из манжеты на палец; постоянные расширенные гемодинамические параметры включают в себя: САД, ДАД, Среднее АД, сердечный выброс, CO, ВУО, dP/dt и CCC; в некоторых клинических случаях увеличение ВУО происходит при снижении венозного давления; производная АД по времени в форме пульсовой волны может использоваться для аппроксимации сердечной сократимости при определенных обстоятельствах; системное сосудистое сопротивление рассчитывается на основе САД и CO; эти данные предоставят информацию о гемодинамическом ответе на REGN5381 у здоровых добровольцев, а также у лиц с гипертензией); и

Фармакогеномный анализ (образцы цельной крови могут быть собраны для выделения ДНК, чтобы выявить геномные ассоциации с клиническим или биомаркерным ответом на REGN5381, другие клинические показатели исходов, связанные с сердечной недостаточностью, гипертензией и/или хронической болезнью почек, и возможные НЯ).

Статистический план

[0181] Наборы статистического анализа включают в себя: i) набор анализа эффективности; ii) Набор для анализа безопасности (SAF, включая всех рандомизированных пациентов, получавших любое исследуемое лекарственное средство; он основан на полученном лечении (в том виде, в котором оно проводилось); соблюдение/прием лечения и все переменные клинической безопасности будут проанализированы с использованием SAF); iii) Наборы для фармакокинетического анализа (группа ФК-анализа включает всех пациентов, которые получали любое исследуемое лекарственное средство и у которых был по меньшей мере 1 непропущенный результат после первой дозы исследуемого препарата); и iv) Наборы для анализа иммуногенности (набор для анализа ADA, включая всех пациентов, которые получали исследуемое лекарственное средство и имели по меньшей мере 1 непропущенный результат ADA после первой исследуемой дозы).

[0182] Статистические методы: в этом исследовании не проводилось формального первичного анализа эффективности. Для непрерывных переменных описательная статистика будет включать следующую информацию: количество пациентов, отраженных в расчете (n), среднее значение, стандартное отклонение, Q1, медиану, Q3, минимум и максимум. Будут предоставлены графики изменения значений во времени, а также изменение или процентное изменение с течением времени. Для категориальных или порядковых данных частоты и проценты будут отображаться для каждой категории. Если не указано иное, пациенты, получающие плацебо, будут объединены в когорты в рамках

каждой части А и части В.

Фармакокинетика

[0183] Анализ данных о концентрации лекарственного средства: будут измеряться концентрации общего REGN5381 с течением времени. Фармакокинетические параметры могут включать, помимо прочего, следующие (и их версии, нормированные по дозе, если применимо): AUC_{last} (площадь под кривой (AUC), рассчитанная от нуля до момента последней положительной концентрации), AUC_{inf} (AUC от нулевого времени, экстраполированная до бесконечности), C_{max} (пиковая концентрация), T_{max} (время пиковой концентрации), T_{last} (время последней положительной (поддающейся количественной оценке) концентрации) и CL (клиренс). Концентрации общего REGN5381 с течением времени и выбранные фармакокинетические параметры будут суммированы описательной статистикой для каждой когорты с целью оценки воздействия в этих группах. Эта описательная статистическая оценка будет включать средние геометрические значения и может включать соотношения средних геометрических значений для выбранных фармакокинетических параметров, если это будет сочтено целесообразным.

[0184] Анализ данных иммуногенности: иммуногенность будет характеризоваться наблюдаемой реакцией ADA: i) ранее существовавшей иммунореактивностью (определяемой как положительная реакция анализа ADA на исходном уровне со всеми отрицательными результатами анализа ADA после введения дозы или положительная реакция анализа на исходном уровне со всеми ответами ADA после введения дозы менее чем в 9 раз превышают исходные уровни титра); ii) ответ ADA, возникший после лечения (определяемый как любой положительный ответ анализа ADA после введения дозы, когда исходные результаты отрицательны); iii) ответ ADA, усиленный лечением (определяемый как любой положительный ответ анализа ADA после введения дозы, который в 9 раз превышает исходные уровни титра, когда исходный уровень является положительным в анализе ADA); iv) Максимальные значения титра ADA (низкий (титр <1000)/умеренный (1000<титр <10000)/высокий (титр >10000)). Будут предоставлены списки ранее существовавших, усиленных лечением и возникших после лечения ответов ADA, титров ADA, представленных по пациентам, моментам времени и дозовой когорте/группе. Частота возникновения ADA, возникшего в результате лечения, будет оцениваться как абсолютная частота (N) и процент пациентов (%), сгруппированных по когортам исследования и уровню титра ADA. Будут изучены графики концентраций лекарственных средств и оценено влияние ADA на отдельные фармакокинетические профили. Может быть предоставлена оценка влияния ADA на безопасность и эффективность.

[0185] Анализ фармакодинамических и поисковых данных биомаркеров: популяция биомаркеров ФД будет состоять из всех пациентов в наборе ФК-анализа с по меньшей мере 1 поддающимся оценке измерением биомаркера в исходном состоянии и по меньшей мере в 1 момент времени после исходного уровня. Для биомаркеров, включая цГМФ в плазме и моче, уровни ренина в плазме, уровни альдостерона в плазме, NT-proBNP плазмы и hs-cTnT, будут получены следующие описательные данные: необработанные данные на

исходном уровне, по группам лечения и в целом. Биомаркеры, измеренные после лечения, будут суммироваться с течением времени, изменения и/или процентные изменения относительно исходного уровня для каждого запланированного времени оценки будут суммироваться по лечению с описательной статистикой. Кроме того, для каждого визита будут генерироваться средние концентрации и средние процентные изменения по сравнению с исходным уровнем.

[0186] Что касается оценки влияния однократных внутривенных доз REGN5381 на АД и ЧСС у здоровых взрослых с нормотензией и у здоровых взрослых с гипертензией, а также эффектов REGN5381 на сердечный СО, каждая плановая оценка и изменение по сравнению с исходным уровнем САД, ДАД, Среднего АД, ПД и ЧСС с течением времени будет суммироваться с помощью описательной статистики, а также двустороннего 90% доверительного интервала по когорте доз и по группам лечения. О максимальном согласованном по времени изменении САД, ДАД, Среднего АД, ПД и сердечного СО по сравнению с исходным уровнем в течение первых 24 часов после приема дозы будет сообщено с помощью локальной регрессии или скользящего среднего по когорте доз, по группе лечения. Среднее и/или процентное изменение САД, ДАД и Среднего АД по сравнению с исходным уровнем будет отображено с течением времени по когорте доз и по группам лечения. Ответ на дозу при снижении САД, ДАД, СО и ПД по сравнению с исходным уровнем будет оцениваться количественно с использованием соответствующих статистических моделей.

[0187] Также будет проведен анализ других исследовательских конечных точек.

Статус и предварительные результаты

[0188] В когортах 1-4 Части А 32 пациента (25 мужчин, 7 женщин в возрасте от 20 до 51 года) были рандомизированы, как и планировалось (REGN5381 против плацебо в соотношении 6:2), и ни один пациент не был исключен из исследования. В рамках повышения дозы после визита EOS когорты 4, когда все пациенты завершили 21-дневное наблюдение после однократного приема исследуемого лекарственного средства (REGN5381 или плацебо), был проведен слепой обзор данных по безопасности. Лечение исследуемым лекарственным средством, как правило, хорошо переносилось при внутривенном введении в однократной дозе до 10 мг. Перерывов или прекращений лечения не было. О серьезных нежелательных явлениях, возникших во время лечения, НЯВЛ (TEAE), тяжелых НЯВЛ или смертельных случаях не сообщалось. О легких НЯВЛ сообщили 13 пациентов (41%), а об умеренных НЯВЛ сообщил один пациент (3%). Наиболее частыми НЯВЛ были гематурия и пиурия по общему анализу мочи. Эти НЯВЛ возникли у 5 бессимптомных индивидуумов, у каждого из которых был один аномальный результат теста без очевидной корреляции между когортами доз. У одного пациента с умеренными НЯВЛ наблюдались тошнота и рвота во время инфузии в первый день. Симптоматической гипотензии и тахикардии не наблюдалось. Во всех 4 когортах не наблюдалось клинически значимых или дозозависимых изменений гематологических и биохимических показателей, возникших в результате лечения. Не наблюдалось клинически

значимых отклонений или дозозависимых отклонений от исходного уровня жизненно важных показателей и каких-либо параметров ЭКГ (т. е. частоты желудочковых сокращений, интервалов PR, QRS, QT и RR). Все пациенты во всех четырех когортах соответствовали критериям выписки из стационара через 72 часа.

[0189] Начался набор пациентов с мягкой гипертензией, и на сегодняшний день результаты соответствуют тем, которые наблюдаются у здоровых добровольцев.

Пример 6. REGN5381 вызывает устойчивую и хорошо переносимую модуляцию системной гемодинамики у здоровых пациентов.

Уровень техники

[0190] Рецептор 1 натрийуретического пептида (NPR1) представляет собой мембраносвязанную гуанилатциклазу; Агонизм NPR1 изменяет артериальное давление (АД) посредством цГМФ-опосредованного воздействия на внутрисосудистый объем, вазорелаксацию, натрийурез и диурез. NPR1 активируется натрийуретическими пептидами (NP); NPR1 и NP являются терапевтическими мишенями для пациентов с сердечной недостаточностью (СН) из-за их роли в гомеостазе жидкости и балансе натрия. В настоящем исследовании сообщается о создании, доклинической характеристике и первой у человека (FII) оценке REGN5381, агонистического антитела против NPR1.

Методы

[0191] REGN5381 было выделено с использованием технологической платформы VelocImmune®. Доклинические фармакологические эксперименты *in vivo* проводились на мышах и яванских макаках. В продолжающемся двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании фазы 1 с однократным возрастанием дозы, предназначенном для оценки безопасности, переносимости и фармакокинетики/фармакодинамики REGN5381 (Пример 5; NCT04506645), 32 здоровых взрослых были рандомизированы в соотношении 6:2 для однократной дозы REGN5381 внутривенно (0,3, 1, 3 или 10 мг) или плацебо внутривенно.

Результаты

[0192] Стойкое дозозависимое снижение систолического АД (САД) (~12 мм рт. ст.) наблюдалось у нормотензивных мышей, гуманизированных по NPR1, после введения дозы REGN5381, с аддитивным эффектом при сочетании с пероральными препаратами SOC. REGN5381 в дозе 25 мг/кг вызывал устойчивое снижение САД у гипертензивных мышей, гуманизированных по NPR1 (~30 мм рт. ст.). У нормотензивных яванских макак REGN5381 снижал САД (10-15 мм рт. ст.), при этом высокие дозы (25 мг/кг подкожно и внутривенно) оказывали умеренный эффект, который сохранялся на протяжении всего исследования (56 дней). В продолжающемся исследовании FII REGN5381 снижал САД на 6-9 мм рт. ст. через 12-24 часа после приема без изменений диуреза во всех дозовых когортах. Снижение САД было связано с увеличением уровня цГМФ в плазме. О серьезных нежелательных явлениях не сообщалось, а наиболее частым нежелательным явлением, возникшим при лечении исследуемым лекарственным средством (НЯВЛ), было постуральное головокружение, о котором сообщалось у 3 пациентов в 3 различных дозовых когортах. Другие НЯВЛ, связанные с приемом исследуемых лекарственных средств, включали

учащенное сердцебиение и головную боль, о которых сообщалось у каждого 2 пациентов.

Заключение

[0193] Доклинические и первые результаты на людях показывают, что агонист NPR1, REGN5381, обеспечивает устойчивые гемодинамические эффекты без каких-либо признаков нежелательной гипотензии у здоровых добровольцев с нормальным давлением.

Пример 7. Оценка REGN5381 на людях

[0194] Двойное слепое плацебо-контролируемое исследование фазы 1 с однократным возрастанием дозы было разработано для оценки безопасности, переносимости и фармакодинамики/фармакокинетики REGN5381 у здоровых взрослых (18-55 лет).

[0195] Участники были рандомизированы в соотношении 6:2 для получения однократной дозы внутривенно REGN5381 (0,3, 1, 3, 10, 30 или 100 мг) или внутривенно плацебо. После приема исследуемого лекарственного средства в первый день участники оставались в клинике до четвертого дня, чтобы обеспечить тщательный мониторинг гемодинамики. В день 4 участников оценивали на предмет безопасности перед завершением участия в исследовании. Продолжительность исследования основывалась на прогнозируемых уровнях концентрации REGN5381 в сыворотке крови для всех дозовых когорт; визит окончания исследования проводился не ранее, чем через 21 день после введения исследуемого лекарственного средства. Первичной конечной точкой в настоящем исследовании были тип, частота и тяжесть НЯВЛ после однократного внутривенного введения дозы REGN5381 или плацебо с течением времени.

[0196] В Таблице 11 ниже представлены данные о среднем изменении пульсового давления по сравнению с исходным уровнем, по оценкам с помощью анализа пульсовой волны в соответствии с группой внутривенного лечения (объединенное плацебо, REGN5381 10 мг, REGN5381 30 мг или REGN5381 100 мг). Среднее изменение пульсового давления по сравнению с исходным уровнем представлено как среднее за 24 часа.

Таблица 11. Среднее изменение пульсового давления (ПД)

Группа лечения	День исследования	Количество пациентов	Изменение относительно исходного уровня для ПД	Стандартная ошибка для ПД
Пул с Нормотензией Плацебо (N=12)	День 1	12	1	1,2
Пул с Нормотензией Плацебо (N=12)	День 2	12	-1,4	1,99
Пул с Нормотензией Плацебо (N=12)	День 3	12	0,4	1,56
10 мг IV (N=6)	День 1	6	-0,54	2,65
10 мг IV (N=6)	День 2	6	-1,95	3,5
10 мг IV (N=6)	День 3	6	-2,68	2,92
30 мг IV (N=6)	День 1	6	-1,67	1,33

30 мг IV (N=6)	День 2	6	0,69	2,62
30 мг IV (N=6)	День 3	6	2,39	3,39
100 мг IV (N=6)	День 1	6	-4,05	1,88
100 мг IV (N=6)	День 2	6	-9,6	2,26
100 мг IV (N=6)	День 3	6	-6,72	2,1

[0197] REGN 100 мг внутривенно продемонстрировал сильное и значительное снижение пульсового давления по сравнению с плацебо после однократного введения в течение 3-дневного курса мониторинга.

[0198] Настоящее описание не должно быть ограничено по объему конкретными вариантами осуществления, описанными здесь. Действительно, из приведенного выше описания и сопроводительных фигур специалистам в данной области техники станут очевидными различные модификации описания в дополнение к описанным здесь. Подразумевается, что такие модификации попадают в объем прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения заболевания, ассоциированного с измененной гемодинамикой у пациента, включающий: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1).

2. Способ по п. 1, где заболевание выбрано из группы, состоящей из сердечной недостаточности, гипертензии и хронического заболевания почек.

3. Способ снижения артериального давления у пациента, включающий: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1).

4. Способ по п. 3, где артериальное давление выбрано из группы, состоящей из систолического артериального давления, диастолического артериального давления, среднего артериального давления и пульсового давления.

5. Способ осуществления гемодинамического изменения у пациента, включающий: (i) выбор пациента с систолическим артериальным давлением (САД) от 100 мм рт. ст. до 140 мм рт. ст. или от 135 мм рт. ст. до 160 мм рт. ст.; и (ii) введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1).

6. Способ по п. 5, где гемодинамическое изменение представляет собой снижение венозного давления, конечного диастолического давления в левом желудочке (КДДЛЖ) и/или артериального пульсового давления (ПД).

7. Способ по п. 6, где снижение венозного давления представляет собой снижение центрального венозного давления (ЦВД).

8. Способ по любому из пп. 5-7, где введение не влияет на диурез и системную перфузию органов.

9. Способ по любому из предыдущих пп., где частота сердечных сокращений (ЧСС) пациента увеличивается.

10. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три области, определяющие комплементарность (CDR) тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2.

11. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три области, определяющие комплементарность (CDR) тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2

и LCDR3), где HCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3, HCDR2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4, HCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, LCDR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6, LCDR2 имеет аминокислотную последовательность VAS, и LCDR3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8.

12. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1, и вариабельную область легкой цепи (LCVR), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2.

13. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9.

14. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

15. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, а легкая цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

16. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в низкой дозе.

17. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе от примерно 0,031 до примерно 25 мг/кг массы тела пациента.

18. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе от примерно 1 мг до примерно 200 мг.

19. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту внутривенно, подкожно, внутрикожно, внутривенно или внутримышечно.

20. Способ по любому из предыдущих пп., где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в виде однократной дозы.

21. Способ по любому из предыдущих пп., дополнительно включающий введение пациенту дополнительного терапевтического агента.

22. Способ по п. 21, где второй терапевтический агент вводят вместе с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или отдельно.

23. Способ по любому из предыдущих пп., где пациент страдает гипертонией.

24. Способ по п. 23, где пациент страдает мягкой гипертонией.

25. Способ по любому из предыдущих пп., где пациентом является человек.

26. Фармацевтическая композиция для применения при лечении заболевания, ассоциированного с измененной гемодинамикой у пациента, содержащая терапевтически эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое

специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1), и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

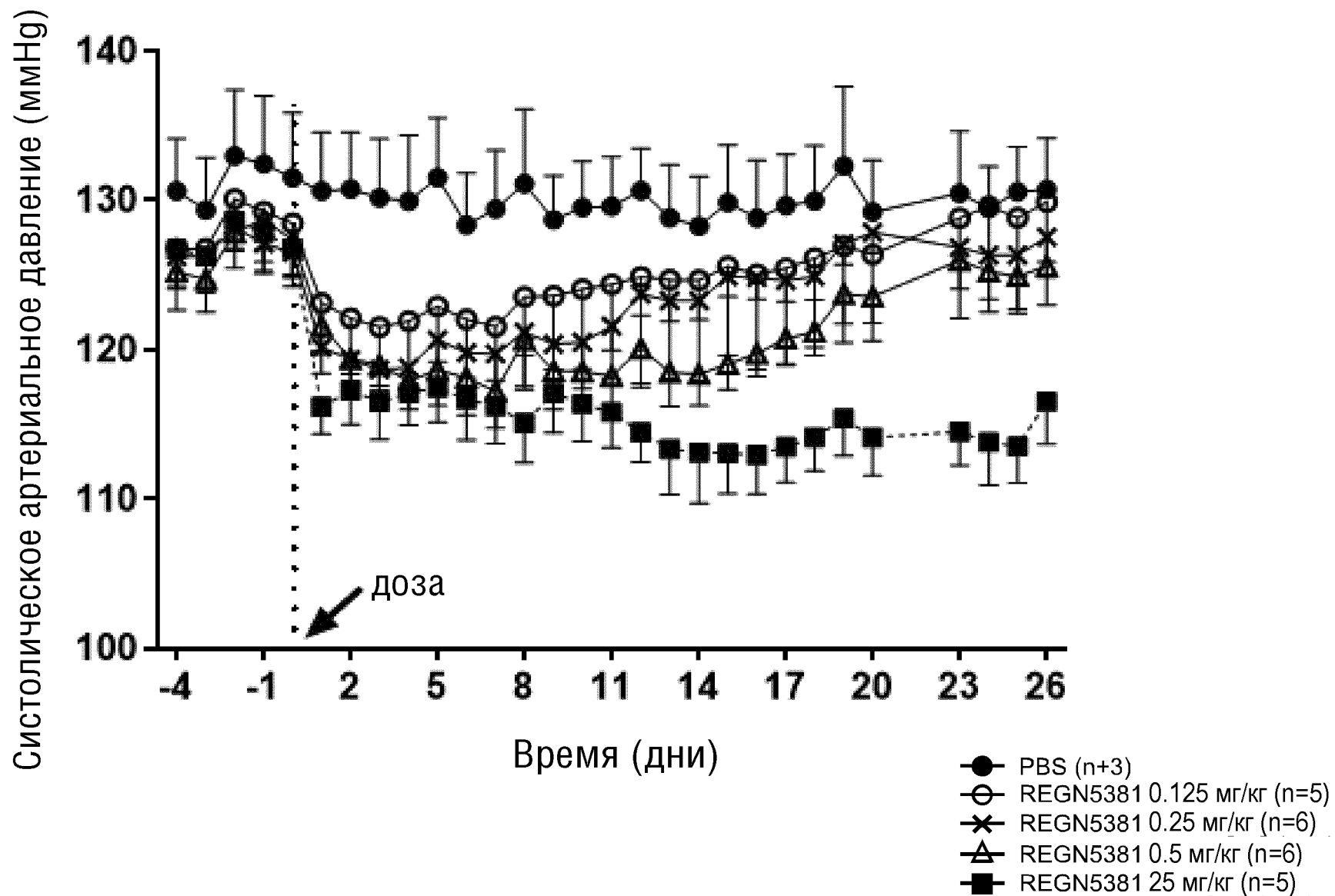
27. Фармацевтическая композиция для применения при снижении артериального давления у пациента, содержащая терапевтически эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с NPR1, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

28. Фармацевтическая композиция для применения при осуществлении гемодинамических изменений у пациента, содержащая терапевтически эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывается с рецептором 1 натрийуретического пептида (NPR1), и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

По доверенности

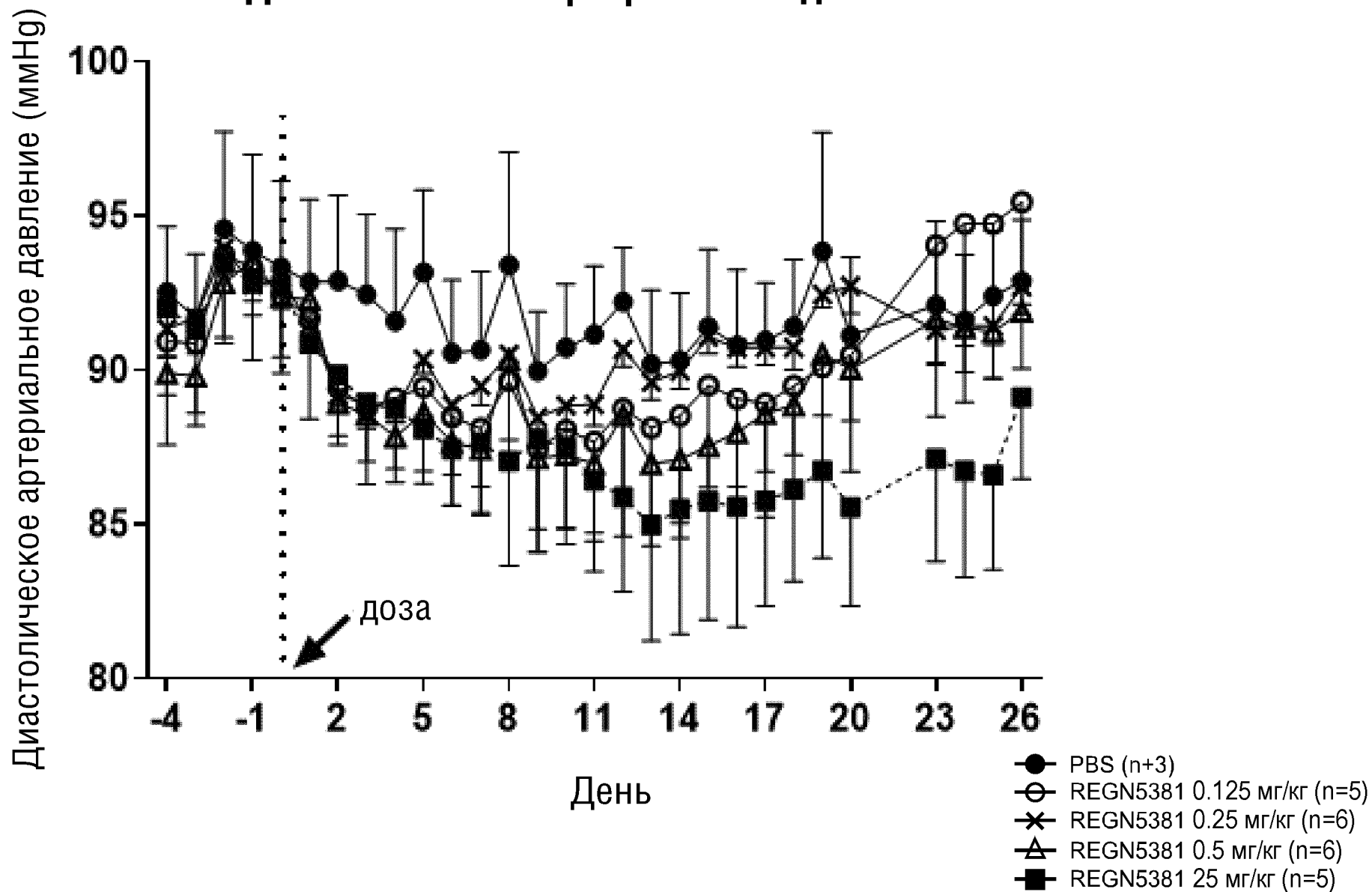
ФИГ.1А

Систолическое артериальное давление



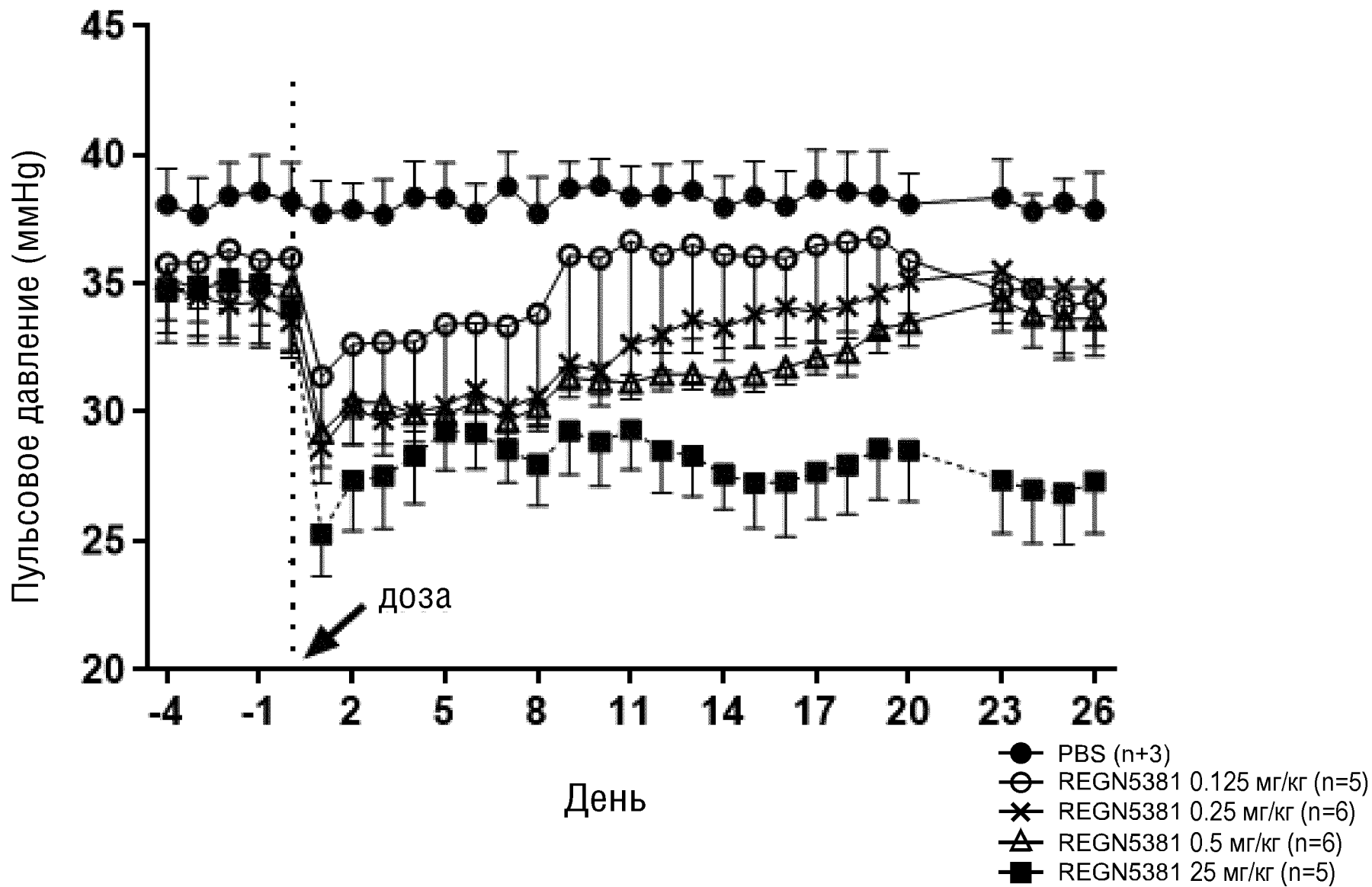
ФИГ.1В

Диастолическое артериальное давление



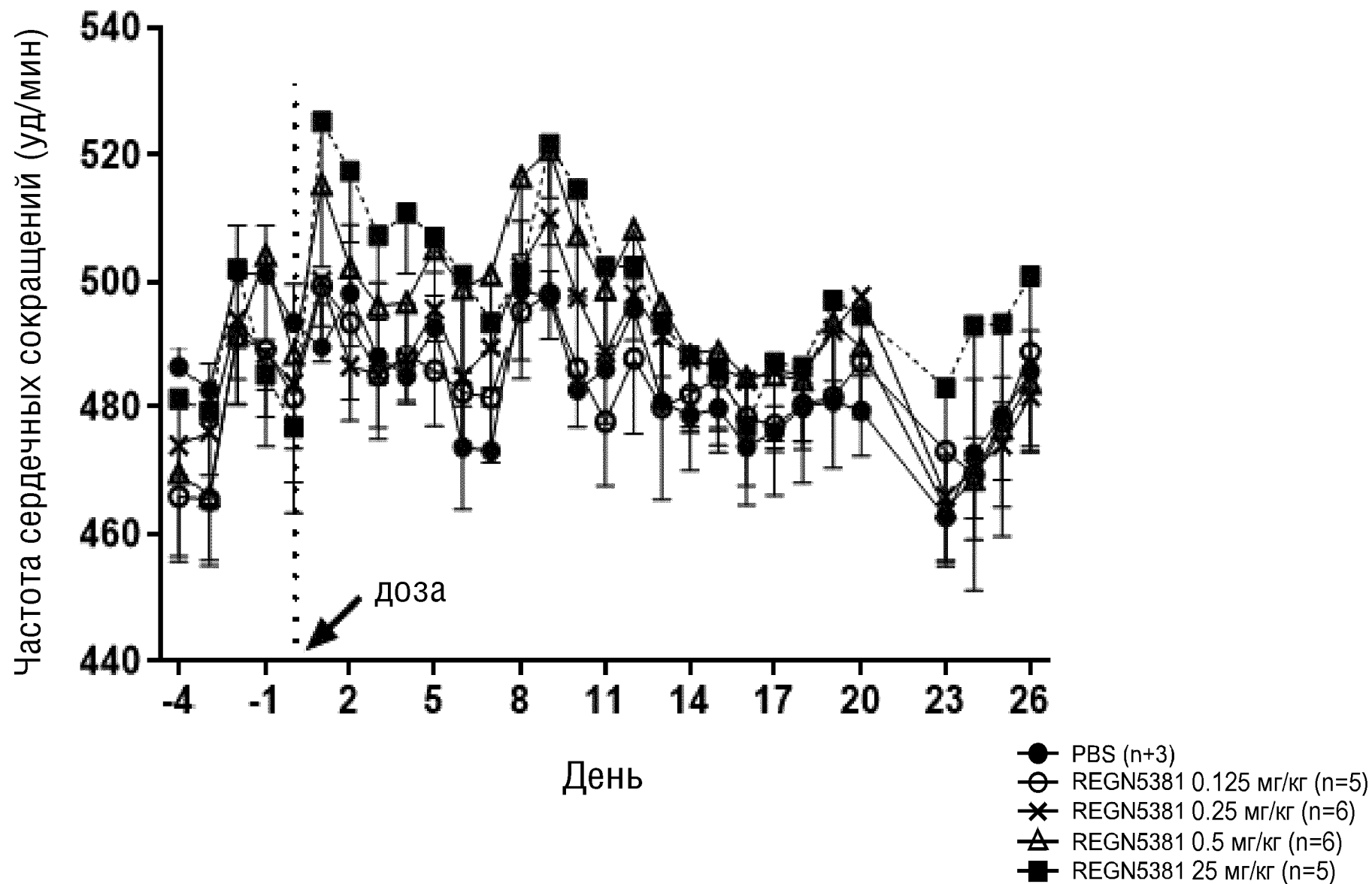
ФИГ.1С

Пульсовое давление



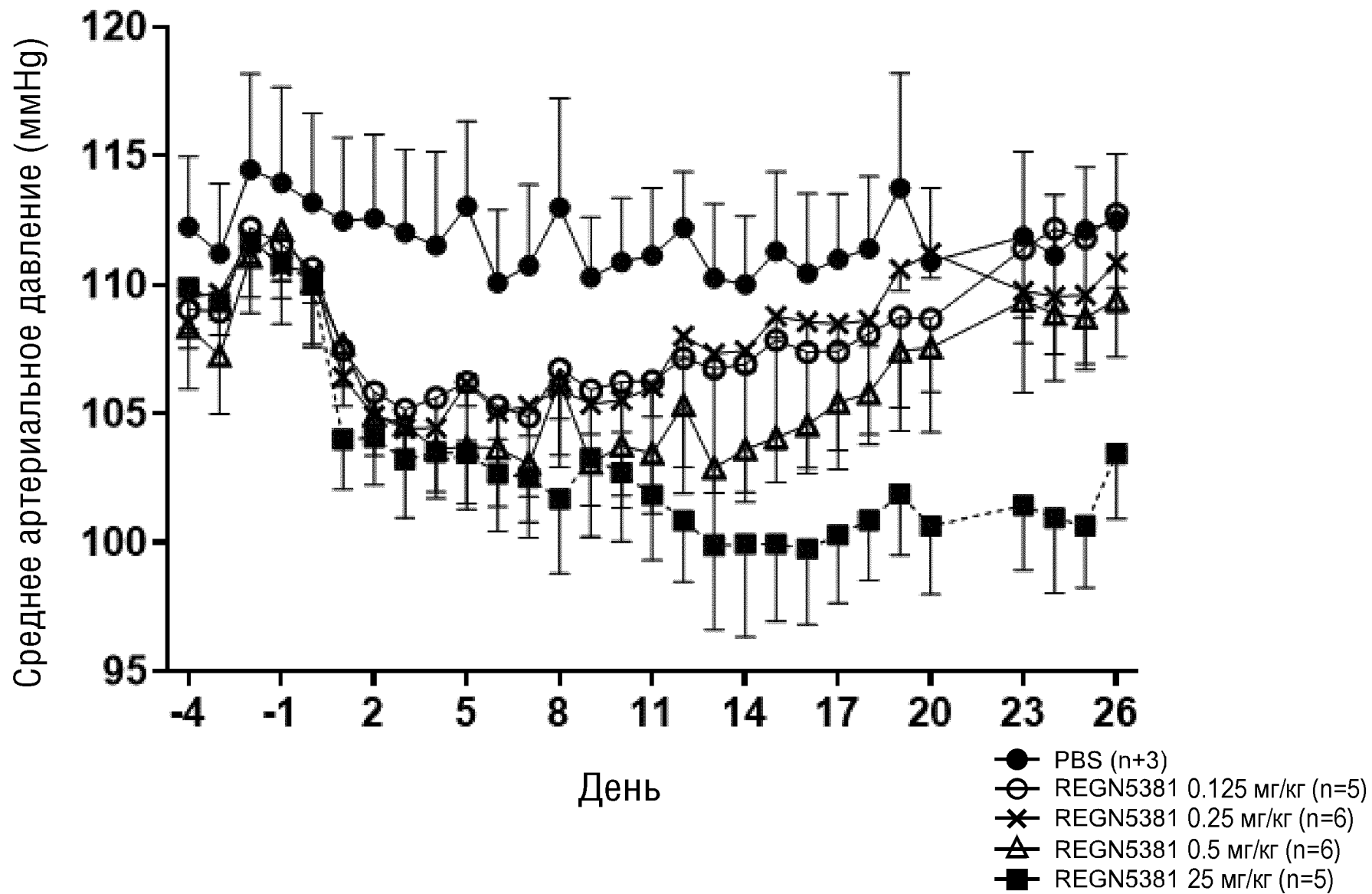
ФИГ.1D

Частота сердечных сокращений

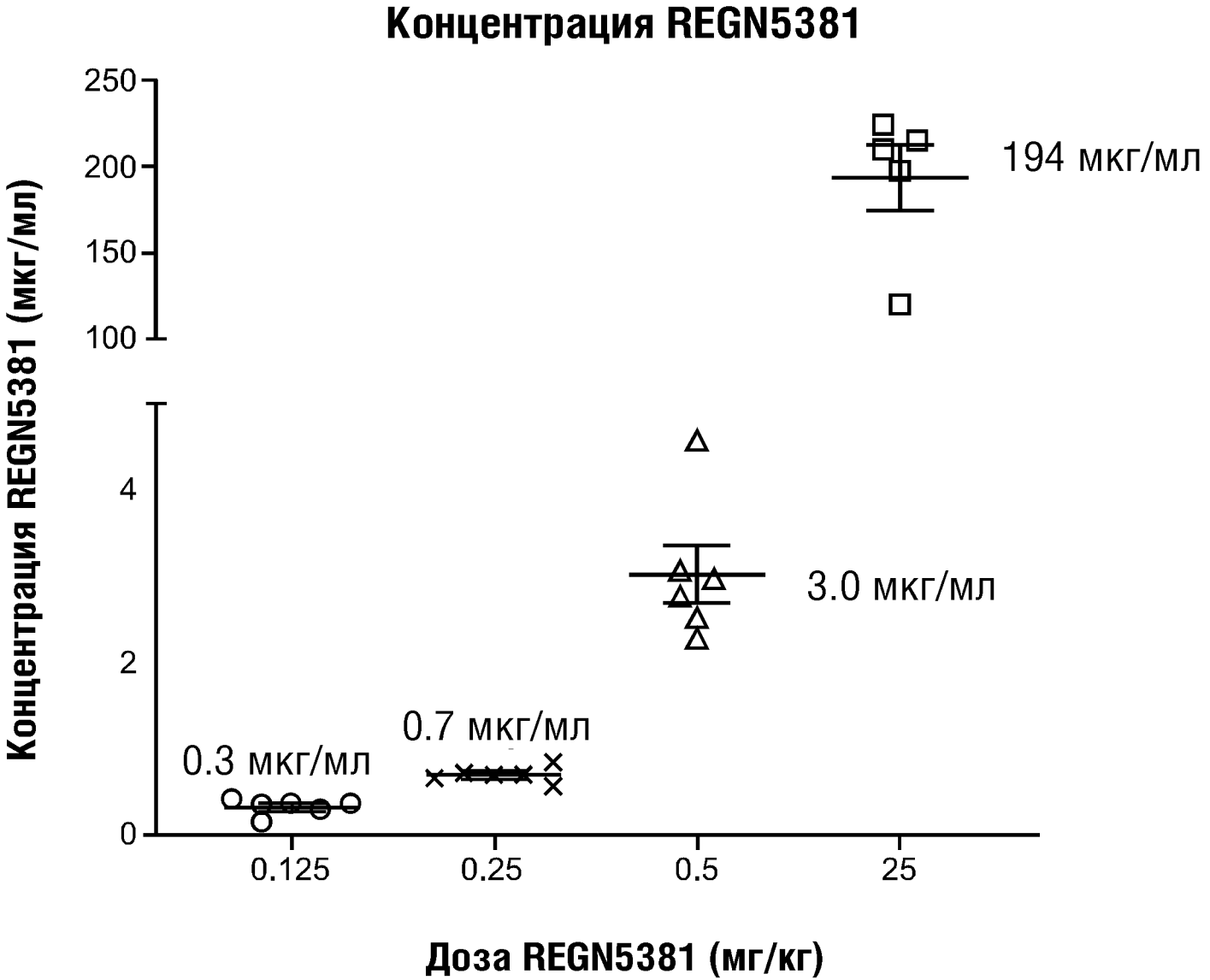


ФИГ.1Е

Среднее артериальное давление

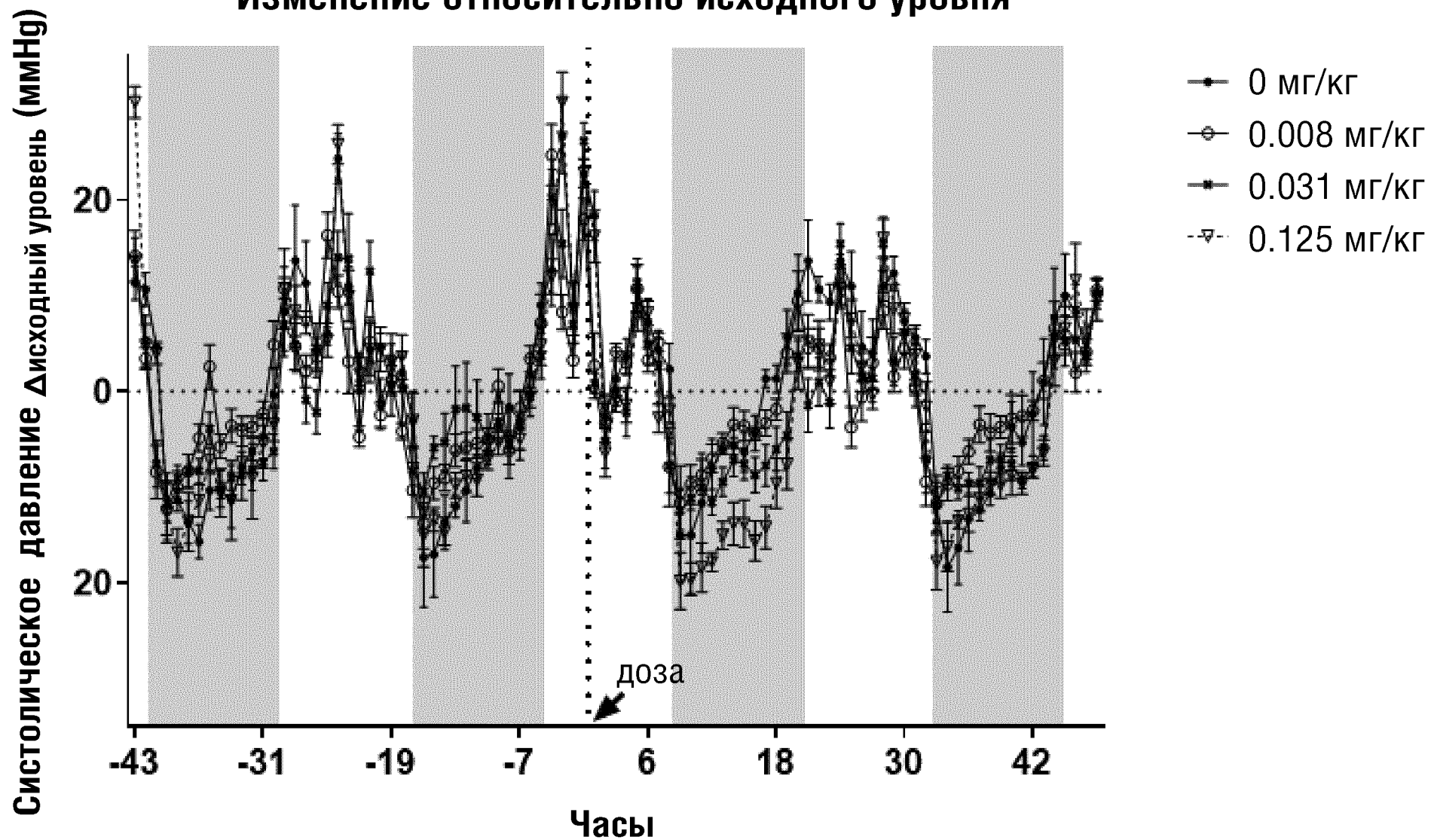


ФИГ.2



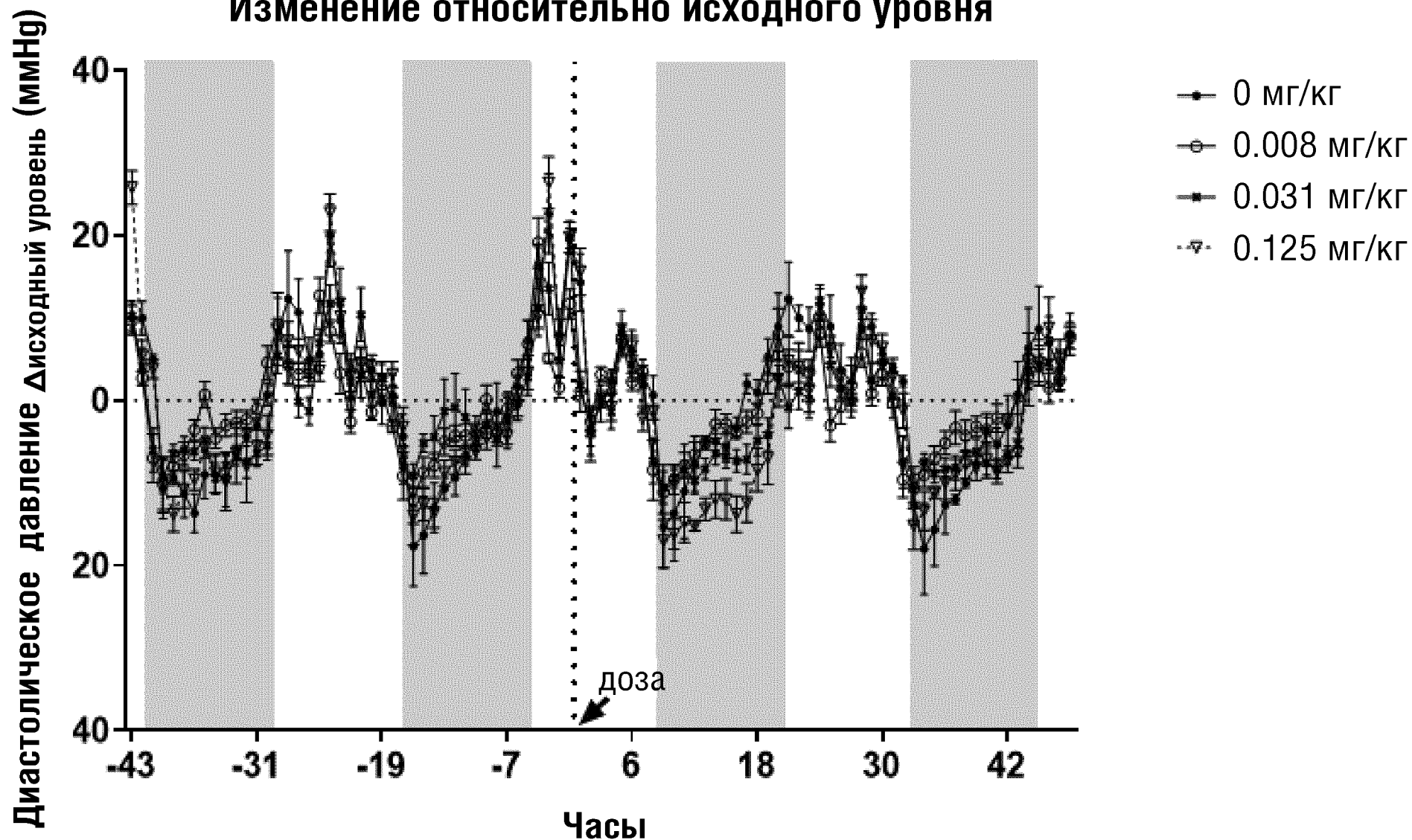
ФИГ.3А

**Систолическое артериальное давление -
Изменение относительно исходного уровня**



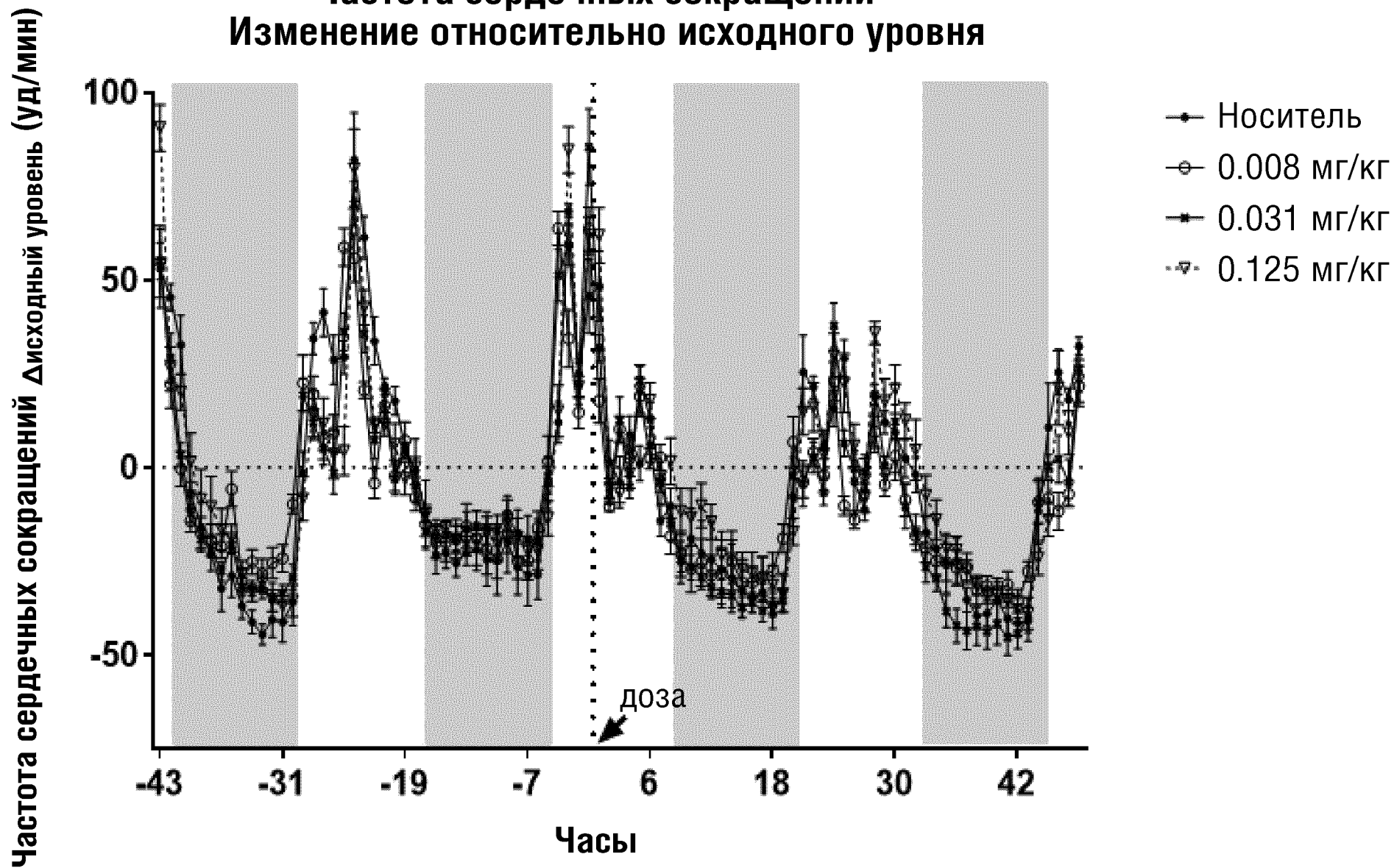
ФИГ.3В

**Диастолическое артериальное давление -
Изменение относительно исходного уровня**



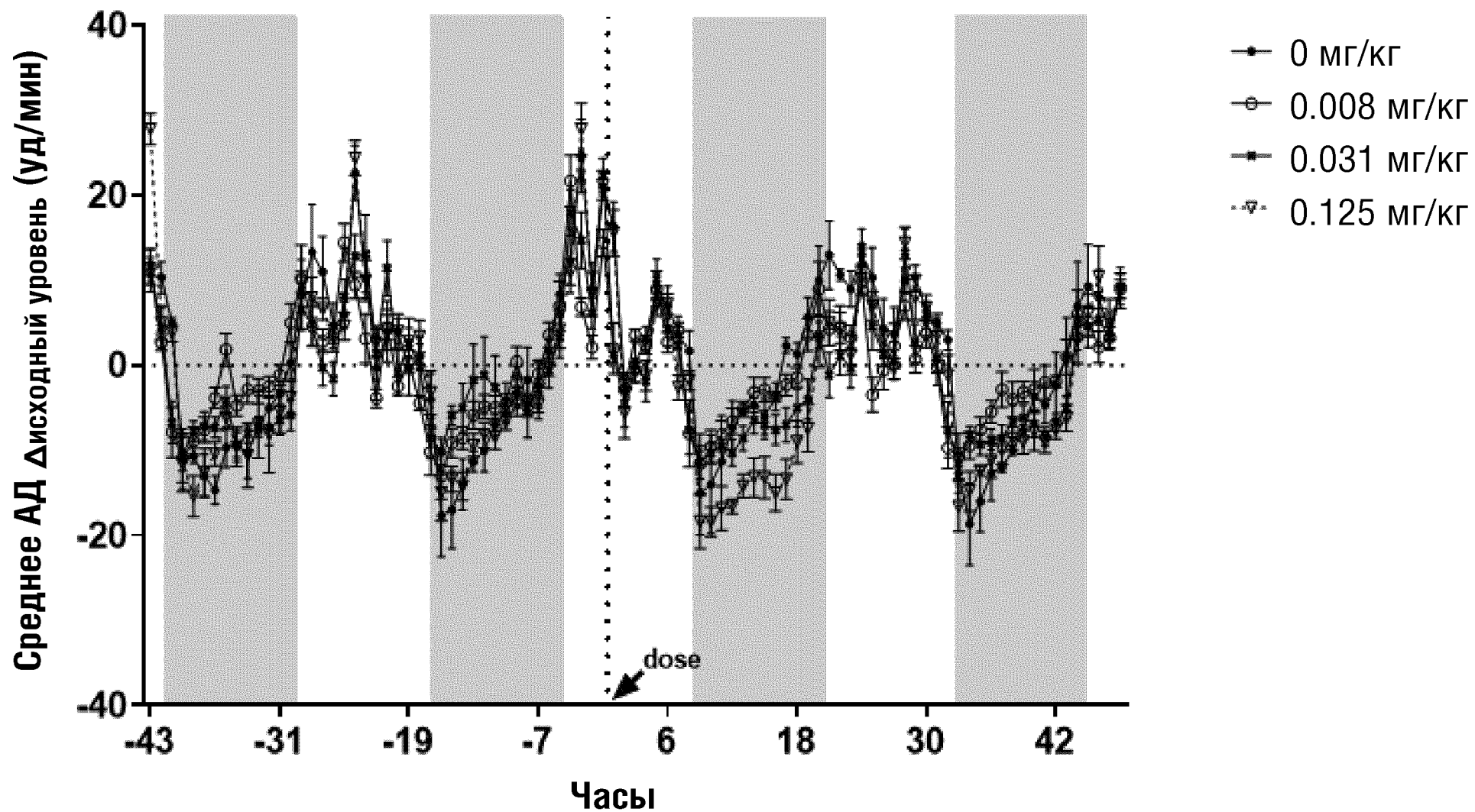
ФИГ.3С

**Частота сердечных сокращений -
Изменение относительно исходного уровня**



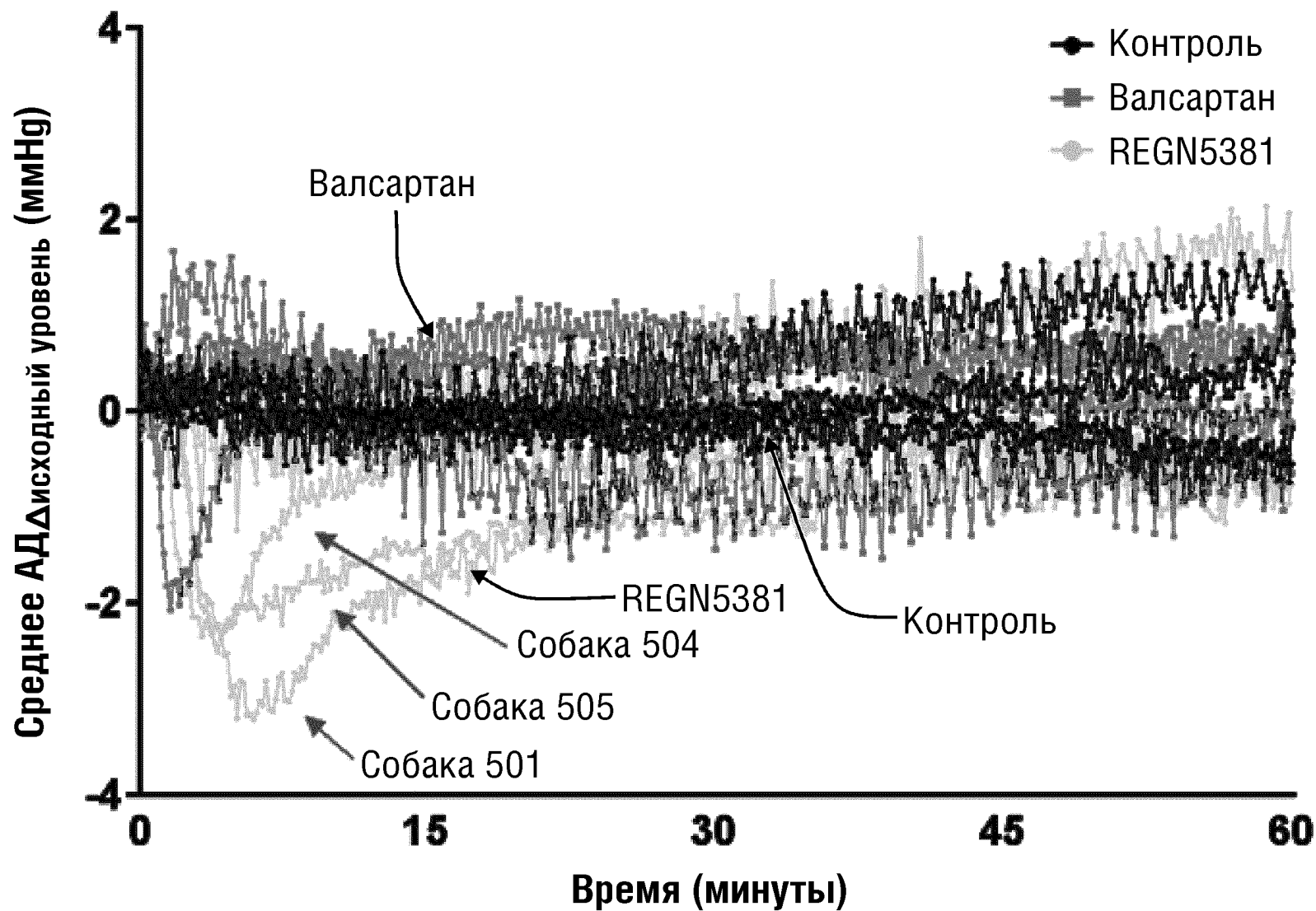
ФИГ.3D

**Среднее артериальное давление -
Изменение относительно исходного уровня**

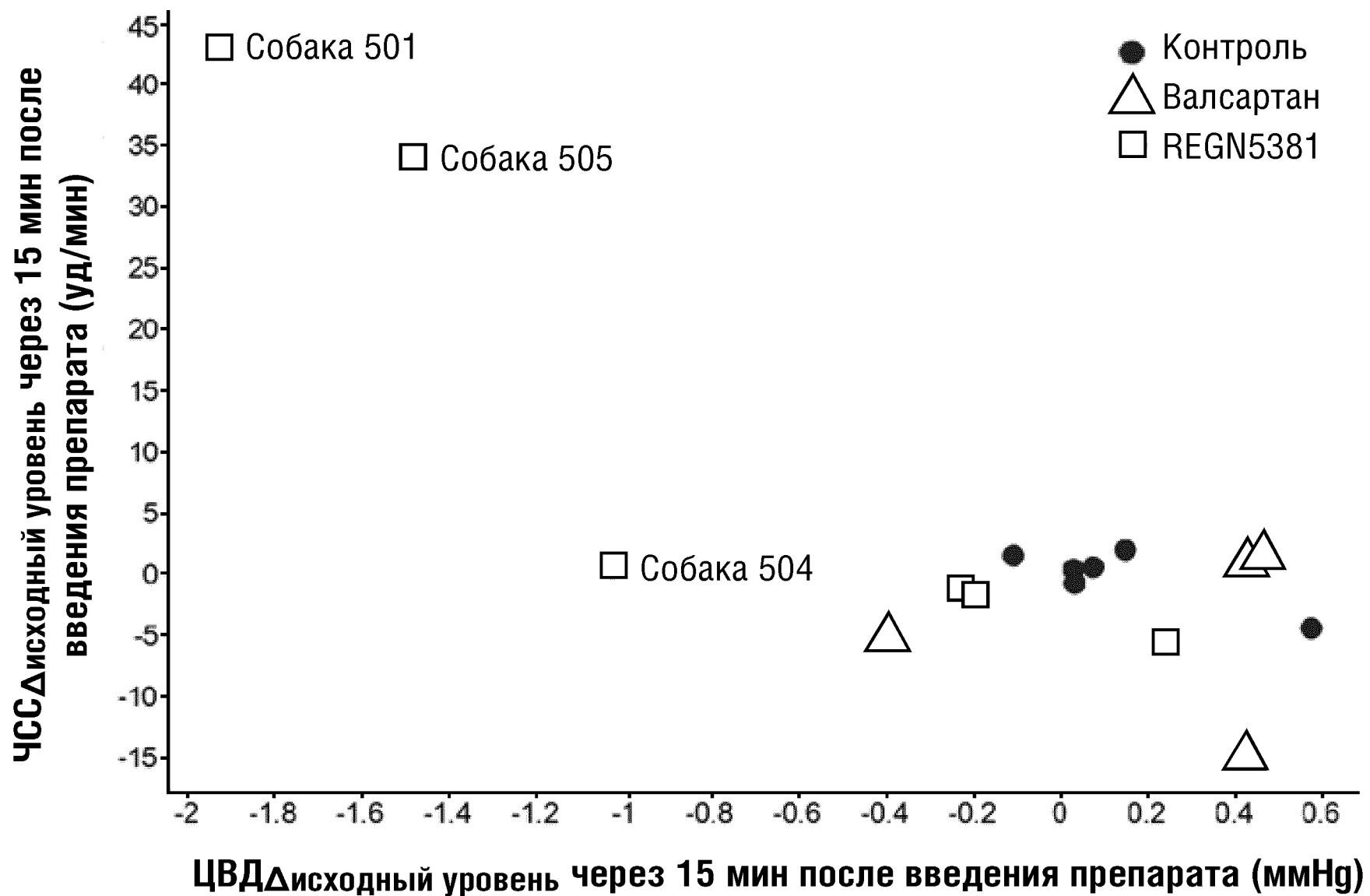


ФИГ.4А

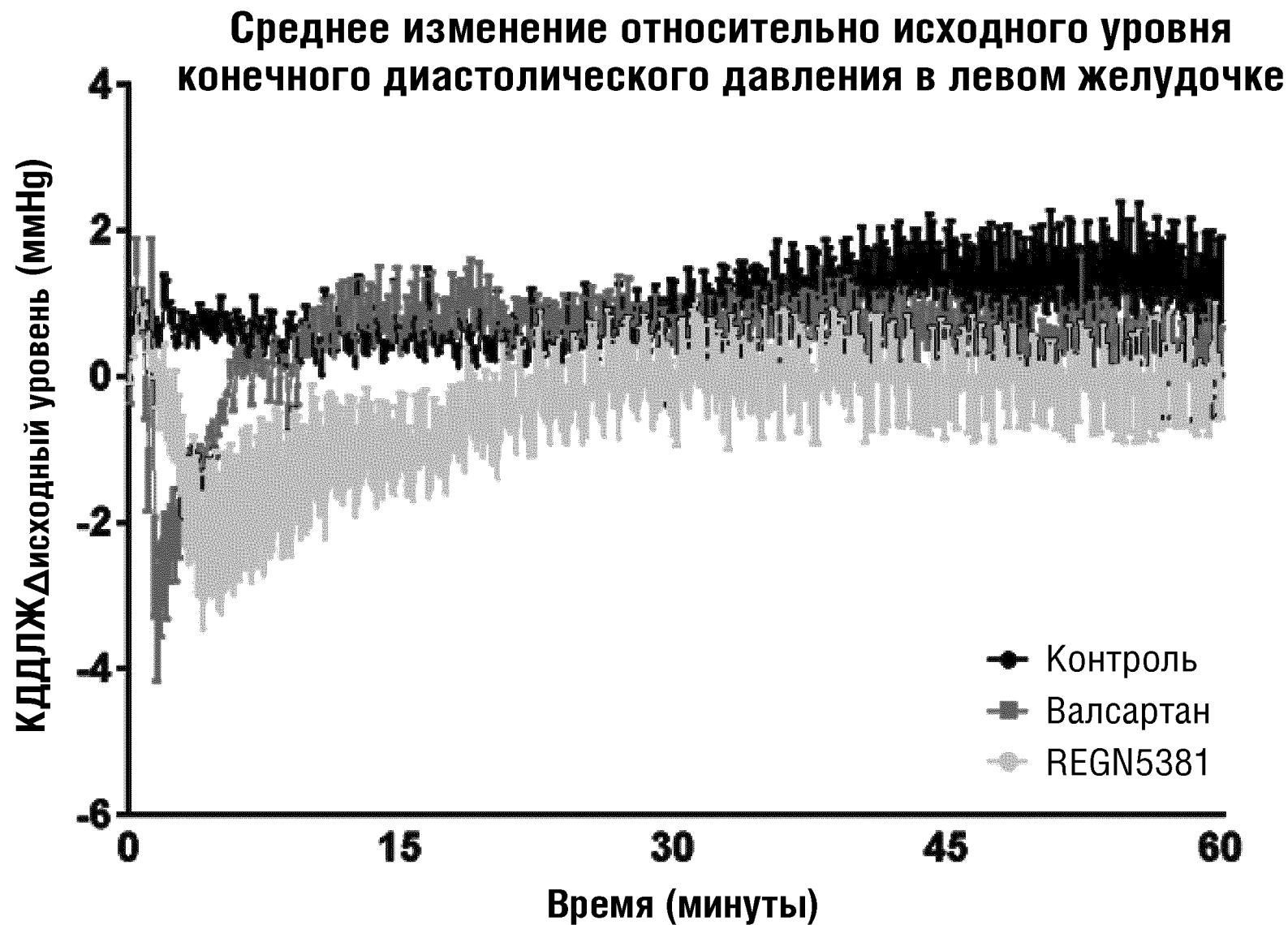
**Индивидуальное изменение относительно исходного
уровня центрального венозного давления**



ФИГ.4В

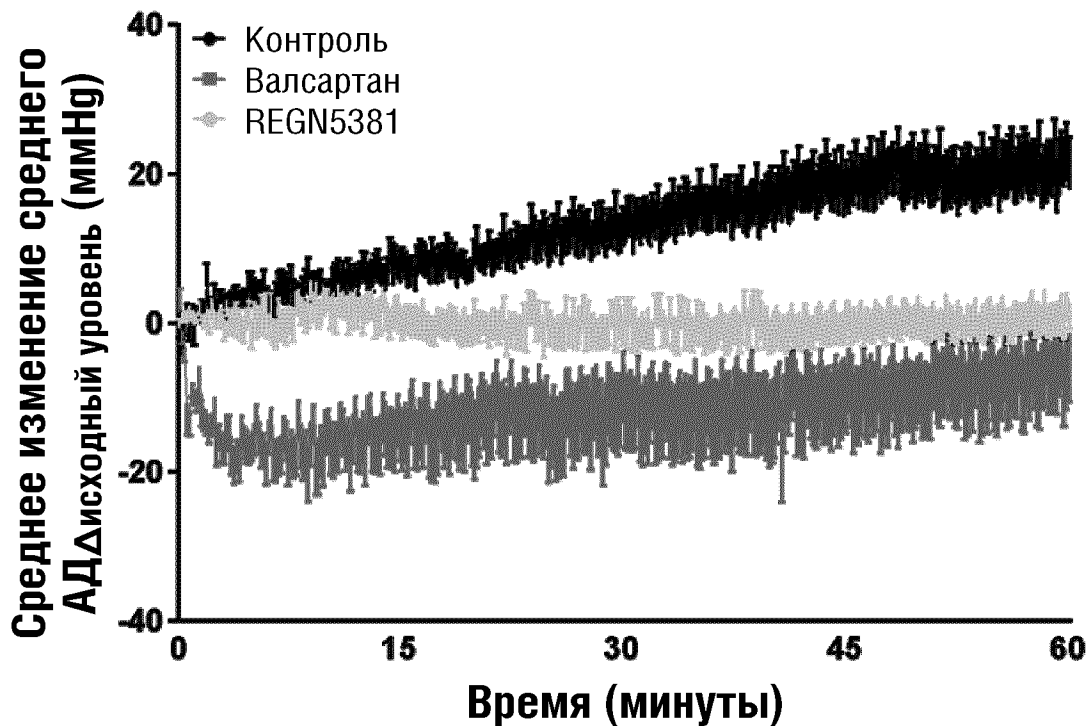


ФИГ.5



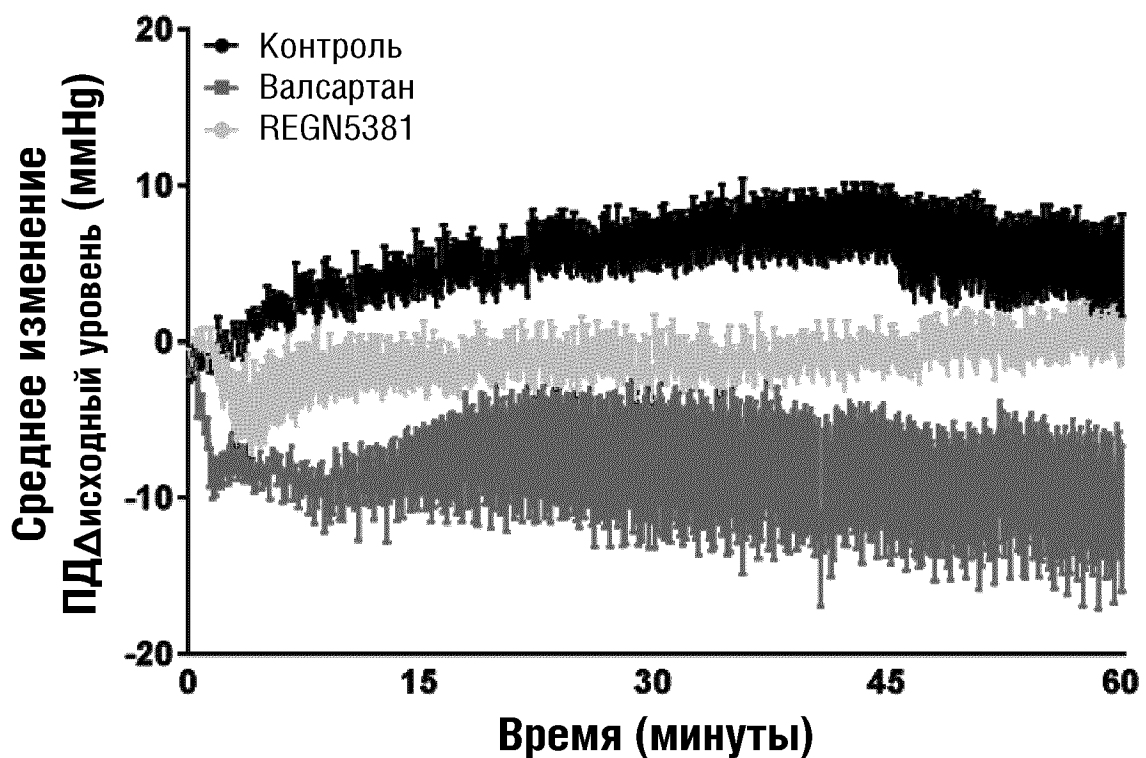
ФИГ.6А

Среднее изменение относительно исходного уровня среднего артериального давления

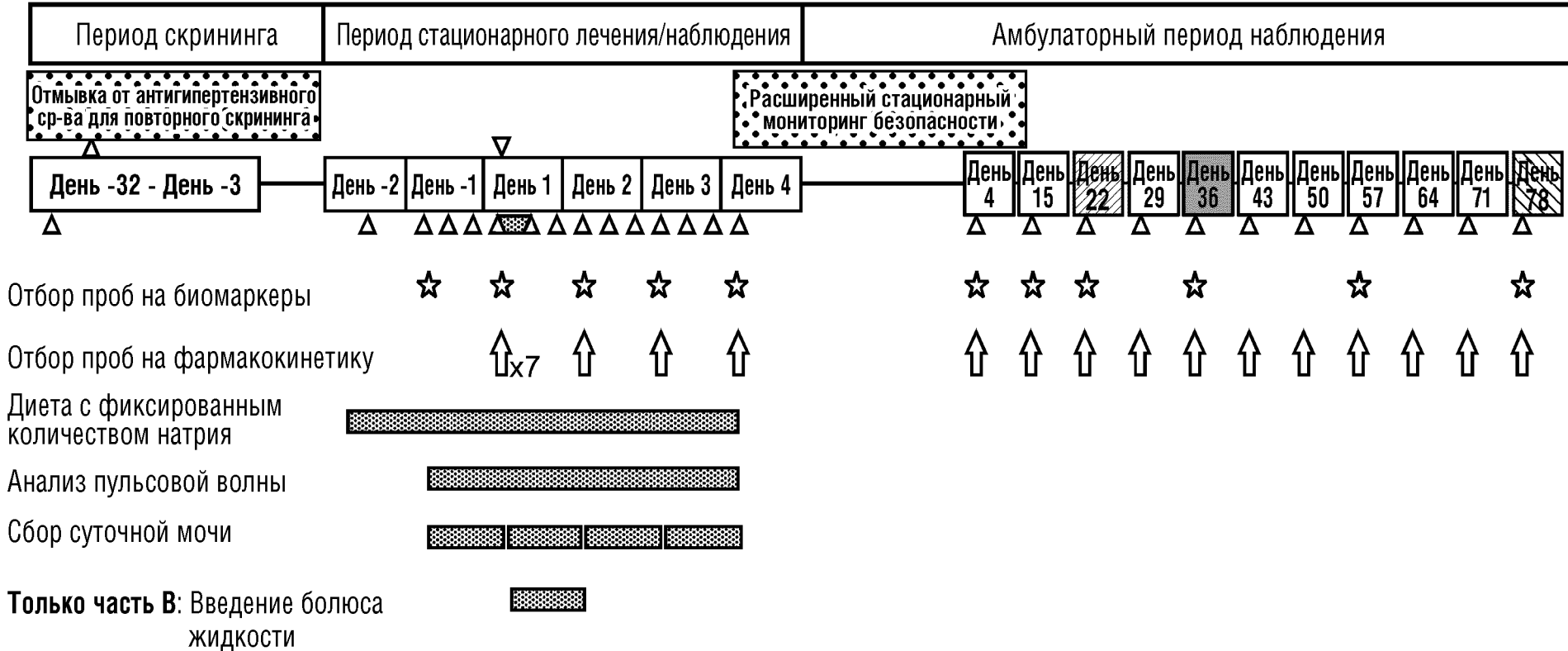


ФИГ.6В

Среднее изменение относительно исходного уровня артериального пульсового давления



ФИГ.7



Введение исследуемого продукта
 ▽ Доза внутривенного REGN5381 или Плацебо

Осциллометрическое измерение артериального давления и частоты сердечных сокращений **Оценки безопасности**
 ■ Сбор осуществляется в течение 3 часов до введения дозы и в течение 15 минут, 1 часа, 2 часов, 4 часов и 12 часов после окончания инфузии

▲ Сбор осуществляется один раз в день 2 и, начиная с дня 1, каждые 8 часов в течение оставшегося периода стационарного лечения/наблюдения, а также один раз при каждом скрининге и последующем амбулаторном визите

Условно

Визит окончания исслед. < 10 мг

Визит окончания исслед. > 10 мг и < 30 мг

Визит окончания исслед. > 30 мг и < 100 мг

Часть А Объем выборки и рандомизация

- N=8 для каждой когорты
- Рандомизация 6:2 (REGN5381:Плацебо)
- Рандомизировали 1:1 (REGN5381:Плацебо) Сигнальное дозирование за 48 часов до полной когорты

Часть В Объем выборки и рандомизация

- N=20 для каждой когорты
- Рандомизация 1:1 (REGN5381:Плацебо)
- Нет сигнального дозирования