



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104815319 A

(43) 申请公布日 2015. 08. 05

(21) 申请号 201510202983. 1

A61P 9/04(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 05. 15

(30) 优先权数据

61/127, 889 2008. 05. 16 US

61/190, 545 2008. 08. 28 US

61/201, 240 2008. 12. 08 US

(62) 分案原申请数据

200980117651. 6 2009. 05. 15

(71) 申请人 科尔泰拉公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 E·乌奈莫里 S·L·特伊奇曼

T·德斯彻特齐格 D·R·斯图尔特

M·J·维特豪斯

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 史文静 黄革生

(51) Int. Cl.

A61K 38/22(2006. 01)

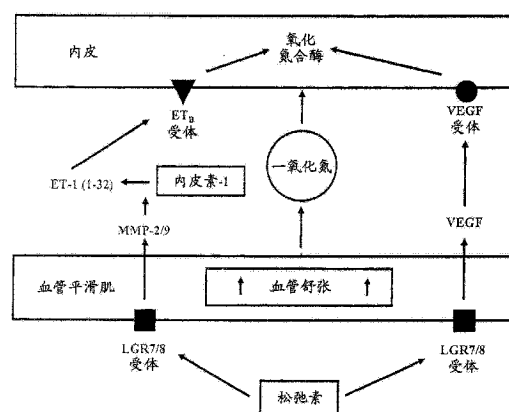
权利要求书2页 说明书28页 附图13页

(54) 发明名称

治疗慢性心力衰竭的方法

(57) 摘要

本发明涉及用于治疗患有慢性心力衰竭的人类对象的方法。本文描述的方法实施了施用松弛素。



1. 药学上有活性的松弛素在生产用于治疗慢性代偿性心力衰竭的药物中的用途,所述治疗是通过向具有纽约心脏协会的 II 类或 III 类心力衰竭的人类对象施用松弛素,所述松弛素的量治疗上有效的降低代偿失调的频率。

2. 权利要求 1 的用途,其中代偿失调包括需要不定期医疗护理的症状,所述症状选自呼吸困难、水肿和疲劳。

3. 权利要求 1 的用途,其中代偿失调包括一种或多种增加的液体潴留、低血压、高血压、心律失常、降低的肾血流、升高的循环脑利尿钠肽水平、升高的血尿素氮水平和升高的肌酸酐水平。

4. 权利要求 2 的用途,其中代偿失调需要施用静脉内的利尿药。

5. 权利要求 1 的用途,其还包括降低由于心力衰竭造成的死亡风险。

6. 权利要求 1 的用途,其中对象的收缩压是约 85mm Hg 或更高。

7. 权利要求 1 的用途,其中施用还导致一种或多种体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、血尿素氮、肌酸酐和循环型 N-端激素原脑利尿钠肽的降低。

8. 权利要求 1 的用途,其中对象没有因为急性心力衰竭而需要住院治疗。

9. 药学上有活性的松弛素在生产用于改善慢性代偿性心力衰竭的人类对象的功能能力的药物中的用途,所述改善是通过向具有纽约心脏协会的 III 类或 IV 类心力衰竭的人类对象施用松弛素,所述松弛素的量治疗上有效的改善功能能力。

10. 权利要求 9 的用途,其中改善的功能能力对应于在明尼苏达心力衰竭患者调查问卷中的一处或多处较高的分数,在 6 分钟步行测试中增加的行程距离,和最大氧消耗的增加。

11. 权利要求 9 的用途,其中改善的功能能力对应于根据 NYHA 分类的更温和的心力衰竭类型的改变。

12. 权利要求 9 的用途,其中根据美国心脏协会指导条例,所述对象具有阶段 C 的结构性心脏病,具有心力衰竭的现有症状。

13. 权利要求 9 的用途,其中根据美国心脏协会指导条例,所述对象具有阶段 D 的心力衰竭,特征是即使进行最优的医学治疗,仍在静止时具有明显的心力衰竭症状。

14. 药学上有活性的松弛素在生产用于治疗慢性代偿性心力衰竭的药物中的用途,所述治疗是通过向人类对象施用松弛素,所述松弛素的量治疗上有效的减少了并发性慢性心力衰竭药物治疗的使用,其中所述并发性药物治疗包括一种或多种的抗血小板药物治疗、 β -阻断剂、利尿药和抗凝固药物治疗。

15. 权利要求 14 的用途,其中对象具有根据纽约心脏协会分类的 II 类或 III 类心力衰竭。

16. 权利要求 14 的用途,其中根据美国心脏协会指导条例,对象具有阶段 B 或阶段 C 的结构性心脏病。

17. 权利要求 16 的用途,其中根据美国心脏协会指导条例,对象具有阶段 C 的结构性心脏病,具有心力衰竭的症状。

18. 权利要求 14 的用途,其中施用降低一种或多种体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、血尿素氮、肌酸酐和循环型 N-端激素原脑利尿钠肽。

19. 药学上有活性的松弛素在生产用于治疗慢性代偿性心力衰竭的药物中的用途,所述治疗是通过向人类对象施用松弛素,所述松弛素的量治疗上有效的增加了对象的心指

数,其中所述对象具有低于约 2.5 升 /min/m³的心指数。

20. 权利要求 19 的用途,其中对象没有因急性心力衰竭需要住院治疗。

治疗慢性心力衰竭的方法

[0001] 本申请为 2009 年 5 月 15 日提交的、发明名称为“治疗慢性心力衰竭的方法”的 PCT 申请 PCT/US2009/044247 的分案申请,所述 PCT 申请进入中国国家阶段的日期为 2010 年 11 月 16 日,申请号为 200980117651.6。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求于 2008 年 12 月 8 日提交的美国临时专利申请号 61/201,240 ;2008 年 8 月 28 日提交的 61/190,545 ;和 2008 年 5 月 16 日提交的 61/127,889 的优先权,出于任何目的,上述文件均通过引用全文整合到本文中。

[0004] 领域

[0005] 本公开文本涉及治疗患有慢性心力衰竭的人类对象的方法。本文描述的方法实施了施用松弛素 (relaxin)。

[0006] 背景

[0007] 心力衰竭是 65 岁以上患者的主要健康问题和住院的最频发的病因 (Krumholz 等人, Am. Heart J., 139:72-7, 2000)。心力衰竭的基础症状是呼吸困难、疲劳和液体潴留,可以导致肺充血和外周性水肿。心力衰竭一般是进行性疾病,并易于加重导致急性代偿失调性心力衰竭 (Hunt 等人, Circulation, 112:154-235, 2005)。根据医保和医疗帮助管理中心近期的报告,急性心力衰竭 (AHF) 是单个最昂贵的住院诊断。实际上,AHF 每年产生超过一百万次的住院治疗,且几乎 50% 在 6 个月内发生再次住院 (Koelling 等人, Am Heart J, 147:74-8, 2004)。

[0008] 虽然慢性心力衰竭 (HF) 控制领域已经取得了重大进展,但是仍与显著的发病率和死亡率相关。症状患者的中值预期寿命低于 5 年,且据报道具有最加剧疾病的患者一年死亡率高达 90% (Stewart 等人, Eur J Heart Fail, 3:315-322, 2001 ;Hershberger 等人, J Card Fail, 9:180-187, 2003 ;和 Rose 等人, N Eng J Med, 345:1435-1443, 2001)。因此,心力衰竭的临床控制目标是延长代偿 (稳定) 期,尽可能的阻止疾病进展。目前,对心力衰竭患者的心脏和肾脏之间发生的复杂相互作用具有日益增加的认识。照此而论,许多用于治疗该患者群体的可以显著改变肾功能的传统疗法,已不再认为是最佳的治疗选项。此外,目前用于管理慢性心力衰竭患者的药疗法具有有限的疗效或严重的副作用,例如低血压、心动过速、心律失常和加剧肾衰竭。因此,需要开发能够稳定具有慢性 HF 的患者和伴随较少不良副作用的新药物和治疗方案。

[0009] 优选实施方案的概述

[0010] 本发明涉及治疗患有慢性心力衰竭的人类对象的方法。本文描述的方法实施了施用松弛素。本发明提供了通过施用松弛素治疗患有充血性心力衰竭 (CHF) 的患者的方法。由于 CHF 恶化导致住院的数量增加,与照顾这类患者相关的花费是惊人的。因此,需要新的治疗方法,而本发明满足了这类需要。本发明的一个优点是施用松弛素导致平衡的血管舒张,阻止代偿性心力衰竭发展成急性代偿失调性心力衰竭。由此,可以将对象维持在不需要住院的稳态水平,显著降低住院的数量或持续时间。本发明的另一个优点是松弛素,当向患者施用时,表现出具有极少或没有不良的药物反应 (ADR) 的疗效。在本文中,松弛素通过稳

定患者不导致 ADR,表现出对减少急性代偿失调具有有益的影响。因此,本发明提供了在患有慢性 HF 的特定患者群体中导致平衡的血管舒张的治疗。

[0011] 本发明的一个方面提供了降低急性心代偿失调事件的方法,包括选择具有慢性 HF 的人类对象,其中所述对象具有脉管系统且脉管系统具有松弛素受体。方法还包括向对象施用药物制剂,包括有效降低对象中急性心代偿失调事件的频率的量的药学上有活性的松弛素,所述降低通过与对象的脉管系统中的松弛素受体结合,获得平衡的血管舒张。心代偿失调可以是由于任何一种或多种原因,包括但不限于神经激素失衡、液体过剩、心律紊乱和心肌缺血。在一个实施方案中,人类对象患有急性心力衰竭。

[0012] 在本发明的药物制剂中使用的松弛素可以是例如,合成的或重组的松弛素,或者药学有效的松弛素激动剂。在本发明的一个实施方案中,松弛素是 H1 人松弛素。在另一个实施方案中,松弛素是 H2 人松弛素。在另一个实施方案中,松弛素是 H3 人松弛素。在其他实施方案中,松弛素是合成的或重组的人松弛素,或者药学有效的松弛素激动剂。因此,可以用合成的或重组的人松弛素或松弛素激动剂的药物制剂治疗对象。在本发明的一个实施方案中,用合成的人松弛素治疗对象。在另一个实施方案中,用重组的人松弛素治疗对象。在另一个实施方案中,用药学有效的松弛素激动剂治疗对象。可以通过多种不同途径向对象施用松弛素,包括但不限于静脉内、皮下、肌肉内、舌下和通过吸入。更特定的,可以向对象施用的松弛素或松弛素激动剂的药物制剂的量的范围在每天约 10 至 1000 μ g/kg 对象体重。由此,向对象施用的松弛素维持约 1 至 500ng/ml 的松弛素血清浓度。

[0013] 可以从本发明的方法受益的人类对象在施用松弛素之前约 1 年或更久被诊断患有心力衰竭。通过松弛素治疗可以降低其频率的急性心代偿失调事件包括但不限于,呼吸困难、高血压、心律失常、减少的肾血流和肾功能不全。这类事件通常与住院或重复住院相关。在本发明的一个实施方案中,这类急性心代偿失调事件本质上是病理生理学的。更常见的,此类事件是与急性代偿失调性心力衰竭 (AHF) 相关的。在一个实施方案中,人类对象患有血管衰竭。在另一个实施方案中,急性心代偿失调是间歇的。

[0014] 本发明的另一个方面提供了降低急性心代偿失调事件的方法。在一些实施方案中,方法包括选择患有代偿性 CHF 的人类对象,其中对象具有脉管系统,且脉管系统具有松弛素受体;以及向对象施用包含药学上有活性的松弛素的药物制剂,所述松弛素的量有效降低对象经历的急性心代偿失调事件的频率,这是通过与对象的脉管系统中的松弛素受体结合。在该方法中,松弛素治疗导致急性心代偿失调事件的频率降低,且该影响从松弛素治疗开始持续至少约 1 至 14 天。急性心代偿失调事件包括但不限于呼吸困难、由于液体滞留导致额外的体重、住院长度、重复住院的可能性、对袪利尿药的需求、对静脉注射 (IV) 硝酸甘油的需求,和心力衰竭恶化的发生率。在一个实施方案中,用松弛素治疗患者 48 小时。在另一个实施方案中,用松弛素治疗患者 24 小时。在另一个实施方案中,用松弛素治疗患者 12 小时。在另一个实施方案中,用松弛素治疗患者 6 小时。可以在任何时间点测量松弛素的影响,例如在施用松弛素后 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天、10 天、11 天、12 天、13 天、14 天或更久。

[0015] 在一个优选的实施方案中,施用松弛素约 30mcg/kg/天。在一个优选的实施方案中,施用松弛素约 30mcg/kg/天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 35mcg/kg/天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 40mcg/kg/天。在另一个优选的实施方案中,施

用松弛素约 45mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 50mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 55mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 60mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 65mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 70mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 75mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 80mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 85mcg/kg/ 天。在另一个优选的实施方案中,施用松弛素约 100mcg/kg/ 天。松弛素还可以施用 90 至 200mcg/kg/ 天的剂量。药学有效的松弛素包括重组的或合成的 H1 人松弛素、H2 人松弛素或 H3 人松弛素或其激动剂或变体。在一个优选的实施方案中,向对象施用松弛素使血清浓度维持在约 10ng/ml。松弛素的药物制剂可以静脉内、皮下、肌肉内、舌下或通过吸入来施用。在一个优选的实施方案中,静脉内施用松弛素的药物制剂。松弛素受体通过与松弛素的结合而被激活,且包括但不限于 LRG7、LRG8、GPCR135 和 GPCR142。松弛素与松弛素受体的结合触发一氧化氮 (NO) 的产生,导致平衡的血管舒张。松弛素受体位于例如脉管系统的平滑肌组织上。

[0016] 此外,本发明提供了治疗心力衰竭的方法,包括向人类对象施用药学上有活性的松弛素,其中与不用松弛素的治疗相比,所述松弛素的量治疗上有效的降低对象住院治疗的频率或持续时间,其中在开始施用时,对象具有根据纽约心脏协会 (New York Heart Association, NYHA) 心力衰竭分类的 II 类或 III 类心力衰竭。在一个实施方案中,方法包括与不用松弛素的治疗相比,降低代偿失调的频率。在另一个实施方案中,代偿失调包括需要不定期医疗护理的症状,所述症状选自呼吸困难、水肿和疲劳。在另一个实施方案中,代偿失调包括一种或多种增加的液体潴留、低血压、高血压、心律失常、降低的肾血流、升高的脑利尿钠肽 (BNP) 水平、升高的 N- 端原 B- 型利尿钠肽 (NT-proBNP) 水平、升高的血尿素氮 (BUN) 水平和升高的肌酸酐水平。在另一个实施方案中,代偿失调需要施用静脉内的利尿药。在另一个实施方案中,代偿失调包括降低由于心力衰竭造成的死亡风险,其中对象具有根据美国心脏协会指导规范的阶段 B 或阶段 C 的结构性心脏病,而在开始施用时没有心力衰竭的现有症状。在另一个实施方案中,对象具有根据美国心脏协会指导规范的阶段 C 的结构性心脏病,在开始施用时具有心力衰竭的现有症状。在另一个实施方案中,在开始施用时,对象具有约 35% 或更少的左心室射血分数 (LVEF)。在另一个实施方案中,在开始施用时,对象具有约 85mm Hg 或更高的收缩压。在另一个实施方案中,在开始施用时,对象具有在约 85mm Hg 和 125mm Hg 之间的收缩压。在一个实施方案中,松弛素 (例如,重组的、纯化的或合成的) 是 H2 人松弛素 (或者在替代的实施方案中,是 H1 人松弛素或 H3 人松弛素)。在另一个实施方案中,松弛素是松弛素激动剂。在一个实施方案中,松弛素以在约 10 和 960 (例如,约 10、30、100、240、480 或 940)mcg/kg/ 天 (没有事先滴定) 之间的固定剂量施用。在另一个实施方案中,使用选自静脉内、肌肉内和皮下 (或者通过皮内、舌下、吸入或可穿戴的输液泵) 的递送途径施用松弛素。在另一个实施方案中,通过输液来施用松弛素,输液时间选自至少约 4、8、12、24 和 48 小时。在另一个实施方案中,施用包括连续施用松弛素。在另一个实施方案中,通过注射施用松弛素,注射的频率选自每天三次、每天两次、每天一次、每周三次、每周两次、每周一次、两周一次和每月一次。在一个实施方案中,施用包括间歇的施用松弛素。在另一个实施方案中,施用不导致选自低血压、心动过速、心律失常和肾功能恶化的不良效应。在另一个实施方案中,施用还导致降低一种或多种体血

管 (systemic vascular) 阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、血尿素氮、肌酸酐和循环型 N- 端激素原脑利尿钠肽。在另一个实施方案中, 在开始施用, 对象接受一种或多种的抗血小板、 β - 阻断剂、利尿药和抗血管紧张素疗法 (血管紧张素转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂)。在另一个实施方案中, 在开始施用, 对象没有需要住院治疗的急性心力衰竭。

[0017] 本发明还提供了治疗心力衰竭的方法, 包括向人类对象施用药学上有活性的松弛素, 所述松弛素的量治疗上有效的改善了对象的功能能力 (functional capacity), 其中对象具有根据纽约心脏协会 (NYHA) 心力衰竭分类的 III 类或 IV 类心力衰竭。在一个实施方案中, 改善的功能能力对应于在明尼苏达心力衰竭患者调查问卷 (Minnesota Living With Heart **failure**® Questionnaire) (或者对生活质量或生理性心力衰竭症状对社会、心智和 / 或情感功能的影响的相似评估) 中的较高分数。在另一个实施方案中, 改善的功能能力对应于在 6 分钟步行测试中增加的行程距离 (或者相似的运动耐受测量)。在一个实施方案中, 改善的功能能力对应于增加的最大氧消耗 (VO_{2max})。在另一个实施方案中, 改善的功能能力对应于根据 NYHA 心力衰竭分类的更温和的心力衰竭类型的改变。在另一个实施方案中, 根据美国心脏协会指导条例, 对象具有阶段 C 的结构性心脏病, 在开始施用, 具有心力衰竭的现有症状。在另一个实施方案中, 根据美国心脏协会指导条例, 对象具有阶段 D 的顽固性心力衰竭, 特征是在开始施用, 即使进行最优的医学治疗, 仍在静止时具有明显的心力衰竭症状。在另一个实施方案中, 对象具有阶段 D 的心力衰竭, 对机械循环支持 (mechanical circulatory support) 和心脏移植的一种或二者是适格的。在另一个实施方案中, 对象具有阶段 D 的心力衰竭, 对生命终期护理是适格的。在另一个实施方案中, 在开始施用前, 对象已诊断患有心力衰竭至少 1 年。在一个实施方案中, 松弛素 (例如, 重组的、纯化的或合成的) 是 H2 人松弛素 (或者在替代的实施方案中, 是 H1 人松弛素或 H3 人松弛素)。在另一个实施方案中, 松弛素是松弛素激动剂。在一个实施方案中, 松弛素以在约 10 和 960 (例如, 约 10、30、100、240、480 或 940) mcg/kg/ 天 (没有事先滴定) 之间的固定剂量施用。在另一个实施方案中, 松弛素以在约 240 和 960 (例如, 约 240、480 或 940) mcg/kg/ 天 (没有事先滴定) 之间的固定剂量施用。在一个实施方案中, 使用选自静脉内、肌肉内和皮下 (或者通过皮内、舌下、吸入或可穿戴的输液泵) 的递送途径施用松弛素。在另一个实施方案中, 通过输液来施用松弛素, 输液时间选自至少约 4、8、12、24 和 48 小时。在另一个实施方案中, 施用包括连续施用松弛素。在另一个实施方案中, 通过注射施用松弛素, 注射的频率选自每天三次、每天两次、每天一次、每周三次、每周两次、每周一次、两周一次和每月一次。在一个实施方案中, 施用包括间歇的施用松弛素。在另一个实施方案中, 施用不导致选自低血压、心动过速、心律失常和肾功能恶化的不良效应。在另一个实施方案中, 施用还导致降低一种或多种体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、血尿素氮、肌酸酐和循环型 N- 端激素原脑利尿钠肽。在另一个实施方案中, 在开始施用, 对象接受一种或多种的抗血小板、 β - 阻断剂、利尿药和抗血管紧张素疗法 (血管紧张素转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂)。在另一个实施方案中, 在开始施用, 对象没有需要住院治疗的急性心力衰竭。

[0018] 本发明的另一个方面体现为治疗心力衰竭的方法, 包括向人类对象施用药学上有活性的松弛素, 所述松弛素的量治疗上有效的减少了对对象使用并发性慢性心力衰竭药物治疗, 其中并发性慢性心力衰竭药物治疗包括一种或多种的抗血小板、 β - 阻断剂、利尿药

和抗血管紧张素疗法（血管紧张素转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂）。在一个实施方案中，对象在开始施用前，具有根据纽约心脏协会（NYHA）心力衰竭分类的 II 类或 III 类心力衰竭。在另一个实施方案中，根据美国心脏协会指导条例，对象具有阶段 B 或阶段 C 的结构性心脏病，在开始施用前，没有心力衰竭的现有症状。在另一个实施方案中，根据美国心脏协会指导条例，对象具有阶段 C 的结构性心脏病，在开始施用前，具有心力衰竭的现有症状。在一个实施方案中，在开始施用前，对象具有约 35% 或更少的左心室射血分数（LVEF）。在另一个实施方案中，在开始施用前，对象具有约 85mm Hg 或更高的收缩压。在另一个实施方案中，在开始施用前，对象具有在约 85mm Hg 和 125mm Hg 之间的收缩压。在另一个实施方案中，松弛素（例如，重组的、纯化的或合成的）是 H2 人松弛素（或者在替代的实施方案中，是 H1 人松弛素或 H3 人松弛素）。在另一个实施方案中，松弛素是松弛素激动剂。在一个实施方案中，松弛素以在约 10 和 960（例如，约 10、30、100、240、480 或 940）mcg/kg/天（没有事先滴定）之间的固定剂量施用。在另一个实施方案中，使用选自静脉内、肌肉内和皮下（或者通过皮内、舌下、吸入或可穿戴的输液泵）的递送途径施用松弛素。在另一个实施方案中，通过输液来施用松弛素，输液时间选自至少约 4、8、12、24 和 48 小时。在另一个实施方案中，施用包括连续施用松弛素。在另一个实施方案中，通过注射施用松弛素，注射的频率选自每天三次、每天两次、每天一次、每周三次、每周两次、每周一次、两周一次和每月一次。在一个实施方案中，施用包括间歇的施用松弛素。在另一个实施方案中，施用不导致选自低血压、心动过速、心律失常和肾功能恶化的不良效应。在另一个实施方案中，施用还导致降低一种或多种体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、血尿素氮、肌酐酞和循环型 N-端激素原脑利尿钠肽。在另一个实施方案中，减少使用的包括减少一种或多种并发性慢性心力衰竭药物治疗的剂量。在另一个实施方案中，减少使用的包括停止一种或多种并发性慢性心力衰竭药物治疗。在另一个实施方案中，在开始施用前，对象没有需要住院治疗的急性心力衰竭。

[0019] 本发明还提供了治疗心力衰竭的方法，包括向人类对象施用药学上有活性的松弛素，所述松弛素的量治疗上有效的增加了对对象的心指数（cardiac index），其中对象具有心力衰竭，并且在开始施用前，对象的心指数低于约 2.5L/min/m²。在另一个实施方案中，对象在开始施用前，具有根据纽约心脏协会（NYHA）心力衰竭分类的 II 类或 III 类心力衰竭。在另一个实施方案中，在开始施用前，对象的心指数在约 1.8 和 2.5L/min/m²之间。在另一个实施方案中，在开始施用前，对象具有约 35% 或更少的左心室射血分数（LVEF）。在另一个实施方案中，在开始施用前，对象具有约 85mm Hg 或更高的收缩压。在另一个实施方案中，在开始施用前，对象具有在约 85mm Hg 和 125mm Hg 之间的收缩压。在一个实施方案中，松弛素（例如，重组的、纯化的或合成的）是 H2 人松弛素（或者在替代的实施方案中，是 H1 人松弛素或 H3 人松弛素）。在另一个实施方案中，松弛素是松弛素激动剂。在一个实施方案中，松弛素以在约 10 和 960（例如，约 10、30、100、240、480 或 940）mcg/kg/天（没有事先滴定）之间的固定剂量施用。在另一个实施方案中，松弛素以在约 240 和 960（例如，约 240、480 或 940）mcg/kg/天（没有事先滴定）之间的固定剂量施用。在一个实施方案中，使用选自静脉内、肌肉内和皮下（或者通过皮内、舌下、吸入或可穿戴的输液泵）的递送途径施用松弛素。在另一个实施方案中，通过输液来施用松弛素，输液时间选自至少约 4、8、12、24 和 48 小时。在另一个实施方案中，施用包括连续施用松弛素。在另一个实施方案中，通过

注射施用松弛素,注射的频率选自每天三次、每天两次、每天一次、每周三次、每周两次、每周一次、两周一次和每月一次。在一个实施方案中,施用包括间歇的施用松弛素。在另一个实施方案中,施用不导致选自低血压、心动过速、心律失常和肾功能恶化的不良效应。在另一个实施方案中,施用还导致降低一种或多种体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、血尿素氮、肌酐和循环型 N-端激素原脑利尿钠肽。在另一个实施方案中,在开始施用,对象接受一种或多种的抗血小板、 β -阻断剂、利尿药和抗血管紧张素疗法(血管紧张素转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂)。在另一个实施方案中,在开始施用,对象没有需要住院治疗的急性心力衰竭。

附图简介

[0020] 当伴随附图一起阅读时,可以最好的理解本发明,所述附图用于示意优选的实施方案。但是,可以理解,本发明不限于附图公开的特定实施方案。

[0021] 图 1A 描述了大小与形状和胰岛素相似的肽激素 H2 松弛素。图 1B 提供了人松弛素 2(H2) 的 B 链(SEQ ID NO:1) 和 A 链(SEQ ID NO:2,具有 X 表示谷氨酸(E) 或谷氨酰胺(Q)) 的氨基酸序列。

[0022] 图 2 是松弛素可能的作用机制的示意。松弛素受体 LGR7 和 LGR8 结合松弛素,其激活基质金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9,将内皮素-1 转化为截短的内皮素-1(1-32),后者反过来与内皮素 B 受体(ET_B受体) 结合。这触发一氧化氮合成酶(NOS) 产生一氧化氮(NO),其增加血管舒张。

[0023] 图 3 是血管管腔的示意。箭头显示平滑肌细胞(SM) 和内皮(E)。松弛素受体位于血管(体血管结构和肾血管结果) 的平滑肌细胞上。

[0024] 图 4 显示了心指数和松弛素。图描述了输液(黑色条) 和输液后(白色条) 24 小时(任一的)。垂直线标示了每 8 小时 A 组和 B 组的剂量增加。C 组接受稳定剂量(都是 mcg/kg/天)。*, $P<0.05$ vs 基线。

[0025] 图 5 显示了心率和松弛素。图描述了输液(黑色条) 和输液后(白色条) 24 小时(任一的)。垂直线标示了每 8 小时 A 组和 B 组的剂量增加。C 组接受稳定剂量(都是 mcg/kg/天)。

[0026] 图 6 描述了体血管阻力和松弛素。图描述了输液(黑色条) 和输液后(白色条) 24 小时(任一的)。垂直线标示了每 8 小时 A 组和 B 组的剂量增加。C 组接受稳定剂量(都是 mcg/kg/天)。*, $P<0.05$ vs 基线。

[0027] 图 7 显示了肺毛细血管楔压和松弛素。图描述了输液(黑色条) 和输液后(白色条) 24 小时(任一的)。垂直线标示了每 8 小时 A 组和 B 组的剂量增加。C 组接受稳定剂量(都是 mcg/kg/天)。*, $P<0.05$ vs 基线。

[0028] 图 8 描述了收缩压和松弛素。图描述了输液(黑色条) 和输液后(白色条) 24 小时(任一的)。垂直线标示了每 8 小时 A 组和 B 组的剂量增加。C 组接受稳定剂量(都是 mcg/kg/天)。*, $P<0.05$ vs 基线。

[0029] 图 9 描述了血浆 NT-pro BNP 和松弛素。图显示了输液 24 小时(黑色符号) 和输液后 24 小时和第 9 天(白色符号)。垂直破折线标示了每 8 小时 A 组和 B 组的剂量增加。C 组接受稳定剂量(都是 mcg/kg/天)。*, $P<0.05$ vs 基线(点“0”)。

[0030] 图 10 描述了血清肌酐和松弛素。图描述了输液（黑色条）和输液后（白色条）24 小时（任一的）。垂直线标示了每 8 小时 A 组和 B 组的剂量增加。C 组接受稳定剂量（都是 mcg/kg/ 天）。*, $P < 0.05$ vs 基线。

[0031] 图 11 示意了右心房压、肺血管阻力和松弛素。图描述了输液（黑色条）和输液后（白色条）24 小时（任一的）。垂直线标示了每 8 小时 A 组和 B 组的剂量增加。C 组接受稳定剂量（都是 mcg/kg/ 天）。*, $P < 0.05$ vs 基线。

[0032] 图 12 描述了在系统性硬化病患者的松弛素临床试验中，高血压和血压正常对象的收缩压（SBP）的稳定降低。在进入研究时高血压的患者，其血压降低大于进入研究时血压正常的患者的血压降低。在持续给药的 6 个月期间，血压降低是稳定的。在给药过程中没有患者出现低血压。

[0033] 图 13 描述了在用松弛素而非安慰剂持续给药的 6 个月过程中，系统性硬化病患者的肾功能的稳定改善，以预测的肌酐清除率（CrCl）来测量。

[0034] 详细描述

[0035] 一般综述

[0036] 本发明涉及维持心力衰竭（HF）患者处于代偿状态的方法。已发现松弛素对 HF 患者具有有益影响，这是通过改善肾功能的标志物（例如，降低的血尿素氮和增加的肌酐清除率）、增加心指数和通过降低体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力和循环型 N- 端激素原脑利尿钠肽。此外，松弛素还具有用现有药物治疗未曾观察到的其它优点，包括在治疗过程中降低的低血压或心动过速的风险。重要的是，在实施例 1 描述的初步研究（Dschietzig 等人, J Cardiac Fail, 15:182-90, 2009）的整个给药范围中，都没有观察到施用松弛素的临床上显著的不良效应。

[0037] 定义

[0038] 术语“松弛素”指本领域普遍已知的肽激素（参见图 1）。如本文中使用的，术语“松弛素”涵盖了人松弛素，包括完整的全长人松弛素，或保留了生物学活性的松弛素分子的一部分。术语“松弛素”涵盖了人 H1 前原松弛素（preprorelaxin）、原松弛素（prorelaxin）和松弛素；H2 前原松弛素、原松弛素和松弛素；和 H3 前原松弛素、原松弛素和松弛素。术语“松弛素”还包括了来自重组的、合成的或天然来源的生物学活性（本文中也称为“药学上有活性的”）松弛素，以及松弛素变体，例如氨基酸序列变体。由此，术语考虑了合成的人松弛素和重组的人松弛素，包括合成的 H1、H2 和 H3 人松弛素，和重组的 H1、H2 和 H3 人松弛素。术语还涵盖了具有松弛素 - 样活性的活性物质，例如松弛素激动剂和 / 或松弛素类似物及其保留了生物学活性的部分，包括可以从松弛素受体（例如，LGR7 受体、LGR8 受体、GPCR136、GPCR142 等）上竞争性取代结合的松弛素的所有物质。因此，药学有效的松弛素激动剂是具有松弛素 - 样活性的任何物质，所述活性是能够结合松弛素受体，触发松弛素样应答。此外，本文中使用的的人松弛素的核酸序列不一定与人松弛素的核酸序列（例如，H1、H2 和 / 或 H3）100% 相同，而可以与人松弛素的核酸序列至少约 40%、50%、60%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同。如本文中使用的，可以通过本领域技术人员已知的任何方法制作松弛素。此类方法的实例示例在例如美国专利号 5,759,807 和 Büllensbach 等

人, (1991) *The Journal of Biological Chemistry* 266(17):10754-10761 中。松弛素分子和类似物的实例示例在例如美国专利号 5, 166, 191 中。天然存在的生物学活性的松弛素可源自人、鼠（即, 大鼠或小鼠）、猪或其他哺乳动物来源。还涵盖了经修饰增加了体内半衰期的松弛素, 例如 PEG 化的松弛素（即, 与聚乙二醇缀合的松弛素）, 松弛素中氨基酸的修饰经过了降解酶的切割等。术语还涵盖了包含 A 链和 B 链的松弛素, 所述 A 链和 B 链具有 N- 和 / 或 C- 端截短。通常, 在 H2 松弛素中, A 链可以在 A(1-24) 至 A(10-24) 变化, B 链可以在 B(1-33) 至 B(10-22) 变化; 在 H1 松弛素中, A 链可以在 A(1-24) 至 A(10-24) 变化, B 链可以在 B(1-32) 至 B(10-22) 变化。在术语“松弛素”的范围内还包括了一个或多个氨基酸残基的其它插入、取代或缺失, 糖基化变体、非糖基化的松弛素、有机和无机盐、共价修饰的松弛素衍生物、前原松弛素和原松弛素。术语还涵盖了松弛素类似物, 其具有不同于野生型（例如, 天然存在的）序列的氨基酸序列, 包括但不限于美国专利号 5, 811, 395 中公开的松弛素类似物。对松弛素氨基酸残基可能的修饰包括游离氨基（包括 N- 端）的乙酰化、甲酰化或相似保护, C- 端基团的酰胺化, 或羟基或羧基的酯形成, 例如通过添加甲酰基在 B2 修饰色氨酸 (Trp) 残基。甲酰基是可方便的移除的保护基团的典型实例。其它可能的修饰包括用不同的氨基酸（包括 D 型天然氨基酸）取代 B 和 / 或 A 链中的一个或多个天然氨基酸, 包括但不限于用正亮氨酸 (Nle)、缬氨酸 (Val)、丙氨酸 (Ala)、甘氨酸 (Gly)、丝氨酸 (Ser) 或高丝氨酸 (HomoSer) 取代在 B24 的 Met 部分。其它可能的修饰包括从链中缺失天然氨基酸, 或向链添加一个或多个额外的氨基酸。其它的修饰包括在原松弛素的 B/C 和 C/A 连接处的氨基酸取代, 所述修饰有利于从原松弛素切割 C 链; 变体松弛素包含非天然存在的 C 肽, 例如美国专利号 5, 759, 807 中所述。术语“松弛素”还涵盖了包含松弛素和异源多肽的融合多肽。异源多肽（例如, 非松弛素多肽）融合伙伴蛋白可以在融合蛋白的松弛素部分的 C- 端或 N- 端。异源多肽包括免疫学可检测的多肽（例如, “表位标签”）; 能够产生可检测信号的多肽（例如, 绿色荧光蛋白、酶例如碱性磷酸酶, 和其它本领域已知的）; 治疗性多肽, 包括但不限于细胞因子、趋化因子和生长因子。只要保留了松弛素的功能（生物学）活性, 则所有产生变体的此类松弛素分子结构中的变异或改变都包括在本发明的范围内。优选的, 松弛素氨基酸序列或结构的任何修饰是不增加用松弛素变体处理的个体中其免疫原性的修饰。可以使用本领域已知的体外和体内测定方便的鉴别具有所述功能活性的这类松弛素变体。

[0039] 术语“心力衰竭”通常意指心脏没有像它应该的那样有效地工作。当心肌跟不上机体对血流的需要时, 就发生心力衰竭 (HF)。这是可以由多种原因产生的综合征, 即发现的集合。HF 可以是由于心肌变弱（即, 心肌病）使其不能泵送充足的血液导致。HF 还称为充血性 HF, 因为液体通常积累在机体内, 就被称为充血。除了由于变弱的心脏导致的 HF 外, 还有其它的 HF 变种。有由于机体需求太高, 以至于正常的心脏不能跟上需求导致的 HF, 例如, 在甲状腺疾病的情况下产生过多的甲状腺激素、在贫血患者中, 或者其它一些病况; 有由于以下因素导致的 HF: 神经激素失衡最终导致呼吸困难或其他急性事件急性发作, 例如高血压 (hypertension)、高血压 (high blood pressure)、心律失常、降低的肾血流、肾功能不全和在严重情况下死亡。如果患者先前已诊断患有 HF, 则上述发作可以使患者从慢性 HF 转变为急性代偿失调性心力衰竭 (AHF) 和 / 或急性血管性衰竭。AHF 通常需要住院治疗或不定期的医疗支持, 以使患者从代偿失调变为代偿的状态。

[0040] 术语“代偿性慢性心力衰竭”和“代偿性慢性 HF”是可互换的,描述了通常导致正常的心排血量的受控性充血性心力衰竭,其通常通过医学干预实现。尽管心排量正常,但它仍然是异常情况,其中受损的心脏通过使用代偿机制维持足够的心排量。其结果是,代偿性慢性 HF 通常是进行性疾病,医疗干预的主要目标是使稳定的代偿性慢性 HF 状态最大化,并具有最小的副作用。

[0041] 如本文中使用的,术语“AHF”、“急性心力衰竭”和“急性代偿失调性心力衰竭”是通过在筛查中存在所有以下现象来定义的:在静止或最小用力时呼吸困难、胸部 X-射线的肺充血和升高的利尿钠肽水平(脑利尿钠肽(BNP) $\geq 350\text{pg/mL}$ 或 NT-pro-BNP $\geq 1400\text{pg/mL}$)。

[0042] 术语“急性心代偿失调”和“急性代偿失调”在本文中可互换的使用,意指出于说明书和权利要求的目的,由于机体神经激素失衡,导致心肌不能补偿全身和肾的血管收缩。急性心代偿失调的特征是改变的心脏功能和流体调节,导致出现血液动力学不稳定和生理学改变(特别是充血和水肿),以及心力衰竭症状(最常见的是呼吸困难)发作。虽然其通常不与低血压相关,但是该形式的功能性代偿失调可以被误诊为由瓣膜或心肌缺陷(即,结构缺陷)导致的。然而,如本文中使用的,“急性心代偿失调”是功能性的代偿失调,通常与任意一种或多种特定的代偿失调事件相关,包括但不限于呼吸困难、高血压(hypertension)、高血压(high blood pressure)、心律失常、降低的肾血流、肾功能不全和致死。如本文中使用的,存在“急性心代偿失调”的患者通常具有充血性或慢性心力衰竭,但之前可以尚未被诊断出。此类患者可以具有心脏病史,或者完全没有心脏病史。

[0043] 术语“脉管系统”指器官或机体一部分的血管网络,包括动脉和毛细血管。

[0044] 出于说明书和权利要求的目的,术语“平衡的血管舒张”意指作为松弛素或松弛素激动剂与特定松弛素受体(参见下文详细的说明)结合的结果,全身(常见为动脉)和肾脉管系统中发生的双重血管舒张。

[0045] 术语“神经激素失衡”和“神经体液失衡”在本文中可互换的使用,指机体内可以导致心力衰竭的激素障碍。例如,通过Gs-偶联的肾上腺素能通路或Gq-偶联的血管紧张素通路的过度信号传递可以导致神经激素失衡。在两种情况下,过度的神经激素信号传递可以导致以及加快功能性代偿失调(参见Schrier等人,The New England Journal of Medicine 341(8):577-585,1999)。此外,过度的神经激素信号传递可以导致以及加快急性血管衰竭。

[0046] 如本文中使用的,术语“液体过剩”指当血液含有太多水时发生的病况。液体过剩(血容量过多)在心力衰竭是常见的,后者可以通过激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统导致液体过剩。该液体主要是盐和水,积累在机体的不同部位,导致体重增加、腿和臂肿胀(外周性水肿)和/或腹部肿胀(腹水)。最终,液体进入肺部的空气区域,减少可以进入血液的氧气的量,导致呼吸短促(呼吸困难)。当晚上卧倒时,液体还可以集中在肺部,导致夜间呼吸和睡眠困难(阵发性夜间呼吸困难)。液体过剩是充血性 HF 最显著的特征之一。

[0047] 术语“心律紊乱”意指心脏的肌肉收缩开始不规律时的病况。不同寻常的快速节律(每分钟超过100次跳动)被称为心动过速。不同寻常的慢速节律(每分钟低于60次跳动)被称为心动过缓。

[0048] 当流向心脏肌肉(心肌)的血液被冠状动脉的部分或完全堵塞所阻碍时,就发生

“心肌缺血”。突然的、严重的堵塞可以导致心脏病发作（心肌梗塞）。心肌缺血还可以导致严重异常的心节律（心律失常），从而可以引起昏厥，以及在严重情况下引起死亡。

[0049] 术语“病理生理性的”或“病理生理（的）”是指任何正常的机械的、物理的或生物化学的功能的紊乱，其是由疾病引起的或者是由于疾病或不能在定性上被称为疾病的异常综合征或情况造成的。“病理生理学”是将疾病的生物学和身体表现与潜在的异常或生理学紊乱相关联对疾病的生物学和身体表现进行的研究。

[0050] 术语“一氧化氮”和“NO”在本文中可互换使用，是指哺乳动物（包括人）体内许多生理和病理过程中所涉及的重要信号分子。NO 能作为血管舒张剂起作用，松弛血管平滑肌，从而引起血管舒张。动脉血管（主要是小动脉）的舒张导致血压降低。据信松弛素通过 NO 引发至少一些血管舒张。像这样，松弛素与脉管系统平滑肌细胞上的特异性松弛素受体如 LGR7 和 LGR8 受体结合，其转而活化内皮缩血管肽级联以活化氧化氮合酶（NOS）生成 NO（参见图 2）。

[0051] 术语“心指数”或缩写“CI”描述了在 1 分钟内，左心室射入体循环中的血量，以升 / 分钟 (l/min) 来测量。这是血管动力学参数，将心排量 (CO) 与体表面积 (BSA) 相关，从而将心脏性能与个体的大小相关，获得的值的测量单位是升 / 分钟 / 平方米 (l/min/m²)。

[0052] 本文所用的术语“AHF”、“急性心力衰竭”和“急性代偿失调性心力衰竭”被定义为在筛选时存在所有下列情况：静息时或轻微运动时呼吸困难、胸部 X 线检查显示肺充血和利尿钠肽水平升高 [脑利尿钠肽 (BNP) $\geq 350\text{pg/mL}$ 或 NT-pro-BNP $\geq 1400\text{pg/mL}$]。

[0053] 术语“呼吸困难”是指难以呼吸或呼吸费力。它是许多障碍的体征，主要是换气不充分或循环血中氧气量不足的迹象。术语“端坐呼吸”是指当平躺时难以呼吸或呼吸费力，当处于直立位置（如倚着靠背坐或站）时上述症状缓解。

[0054] 临床研究和实践指导原则通常将高血压定义为收缩压 (SBP) 大于约 140mm Hg，将正常血压定义为 SBP 低于约 140mm Hg、130mm Hg 或 120mm Hg，这取决于具体的研究或指导原则。在急性心力衰竭或其它心脏疾病的情况下，低血压可表征为 SBP 低于约 110mm Hg、100mm Hg 或 90mm Hg。在一些优选的实施方案中，短语“血压正常或高血压状态”是指在研究筛选或施用松弛素时 SBP 大于 125mmHg。

[0055] 本文所用的短语“肾功能受损”被定义为使用简化的肾脏疾病饮食调整 (Modification of Diet in Renal Disease (sMDRD)) 方程计算的估计肾小球滤过率 (eGFR) 在 30-75mL/min/1.73m² 之间。

[0056] 术语“安慰剂”是指经常在临床研究试验中与生理学活性治疗相比的生理学惰性治疗。这些试验通常以双盲研究的形式进行，无论是开处方的医生还是患者都不知道他们服用的是活性药物还是无任何明显药物作用的物质（安慰剂）。已观察到如果接受生理学惰性治疗的患者相信他们接受的是生理学活性治疗，则他们能显示出他 / 她的状况得到改善（安慰剂效应）。因此，在试验中包含安慰剂确保统计学上显著的有益作用与生理学活性治疗有关或不单纯是安慰剂效应的结果。

[0057] “再住院”的定义是在初始治疗后某一段时间期间再住院。所述一段时间一般取决于治疗的种类和患者的状况。

[0058] 本文所用的术语“心血管病死亡”是指主要由于心血管原因引起的死亡，如由中风、急性心肌梗死、难治性充血性心力衰竭和任何猝发原因引起的死亡。

[0059] “袪利尿药”意指在具有充血性心力衰竭或肾功能不全的患者中用来减轻高血压和水肿症状的药物。袪利尿药属于利尿药的一类,其减少肾对钠和氯化物的再吸收,导致尿分泌增加。

[0060] 当在给出数值的语境中使用术语“约”包括高于或低于所给出的数值至多 10% 的范围(例如,所给出的数值的 90-110%)。例如,约 30mcg/kg/ 天的静脉内(IV) 输注速度包括 27mcg/kg/ 天至 33mcg/kg/ 天的 IV 输注速度。

[0061] “治疗上有效的”是指与患者的基线状态或与未治疗的或安慰剂治疗的(例如不用松弛素治疗的)个体的状态相比将产生患者的可测量的所需医疗或临床益处的药学上有活性的松弛素的量。

[0062] 松弛素

[0063] 松弛素是大小和形状与胰岛素相似的肽激素(参见图 1)。更特定的是,松弛素是内分泌的和自分泌的/旁分泌的激素,属于胰岛素基因超家族。编码的蛋白质的活性形态包括 A 链和 B 链,由二硫键结合在一起,2 个链间二硫键和 1 个内二硫键。因此,在二硫键的配置上结构与胰岛素非常近似。在人中,有三个已知的非等位松弛素基因:松弛素-1(RLN-1 或 H1)、松弛素-2(RLN-2 或 H2) 和松弛素-3(RLN-3 或 H3)。H1 和 H2 共享高度的序列同源性。有两种可选择剪接的转录变体,编码该基因描述的不同的同种型。H1 和 H2 是在繁殖器官中差异表达的(参见美国专利号 5,023,321 和 Garibay-Tupas 等人,(2004)Molecular and Cellular Endocrinology 219:115-125),而 H3 主要在脑中发现。松弛素肽家族受体的进化通常是本领域普遍已知的(参见 Wilkinson 等人,(2005)BMC Evolutionary Biology 5(14):1-17;和 Wilkinson 和 Bathgate(2007),第 1 章,Relaxin and Related Peptides, Landes Bioscience and Springer Science+Business Media)。

[0064] 松弛素激活特定的松弛素受体,即, LGR7(RXFP1) 和 LGR8(RXFP2) 以及 GPCR135 和 GPCR142。LGR7 和 LGR8 是含有富含亮氨酸的重复的、G 蛋白偶联受体(LGR),代表独特亚群的 G 蛋白偶联受体。它们含有七螺旋跨膜结构域和大量糖基化的胞外域,与糖蛋白激素(glycoproteohormone)的受体(例如 LH-受体或 FSH-受体)疏远地相关。这类松弛素受体可见于心脏、平滑肌、结缔组织,以及中枢和自律神经系统。有效的松弛素例如 H1、H2、猪和鲸鱼的松弛素具有共有的某些序列,即 Arg-Glu-Leu-Val-Arg-X-X-Ile 序列或结合盒。这类松弛素激活 LGR7 和 LGR8 受体。偏离该序列同源性的松弛素,例如大鼠、鲨鱼、狗和马松弛素,通过 LGR7 和 LGR8 受体表现出降低的生物学活性(参见 Bathgate 等人,(2005)Ann. N. Y. Acad. Sci. 1041:61-76;Receptors for Relaxin Family Peptides)。然而,与 H2 松弛素相似,H3 松弛素激活 LGR7 受体(参见 Satoko 等人,(2003)The Journal of Biological Chemistry 278(10):7855-7862)。此外,H3 表现出激活 GPCR135 受体(参见 Van der Westhuizen(2005)Ann. N. Y. Acad. Sci. 1041:332 - 337) 和 GPCR142 受体。GPCR135 和 GPCR142 是两种结构相关的 G-蛋白偶联受体。小鼠和大鼠 GPCR135 与人 GPCR135 表现出高的同源性(即,大于 85%),并与人 GPCR135 具有非常相似的药理学性质。人和小鼠以及大鼠松弛素-3 以高亲和力结合并激活小鼠、大鼠和人 GPCR135。相反,小鼠 GPCR142 与人 GPCR142 较不保守(即,74%同源性)。克隆了来自猴、奶牛和猪的 GPCR142 基因,表现出与人 GPCR142 高同源(即,大于 84%)。来自不同物种的 GPCR142 的药理学特征表示,松弛素-3 以高亲和力结合来自不同物种的 GPCR142(参见 Chen 等人,(2005)The Journal of

Pharmacology and Experimental Therapeutics 312(1):83-95)。

[0065] 在女人和男人中都发现了松弛素(参见 Tregear 等人, Relaxin 2000, Proceedings of the Third International Conference on Relaxin&Related Peptides(22-27 October 2000, Broome, Australia)。在女人中,松弛素由卵巢的黄体、乳房,和妊娠过程中的胎盘、绒毛膜和蜕膜产生。在男人中,在睾丸中产生松弛素。由于松弛素由黄体产生,松弛素水平在排卵后升高,在妊娠的前三个月过程中达到它的峰值,而不到妊娠末期。在缺少怀孕的条件下,它的水平下降。在人类中,松弛素在妊娠中发挥作用,增加精子的运动性、调节血压、控制心率和释放催产素和加压素。在动物中,松弛素拓宽耻骨、促进分娩、软化子宫颈(宫颈成熟)并放松子宫肌肉组织。在动物中,松弛素还影响胶原代谢、抑制胶原合成,并通过增加基质金属蛋白酶增强胶原降解。它还增加血管生成,是肾血管扩张剂。

[0066] 松弛素具有生长因子的常规性质,能够改变结缔组织的性质和影响平滑肌收缩。认为 H1 和 H2 主要在繁殖组织中表达,而 H3 主要在脑中表达(见上文)。然而,根据本发明发展中确定的,H2 和 H3 在心血管和心肾的功能中扮演主要角色,从而可用于治疗相关疾病。由于与 H2 的同源性,H1 可以相似地使用。此外,具有松弛素-样活性的药学上有效的松弛素激动剂能够激活松弛素受体,引发松弛素-样反应。

[0067] 松弛素激动剂

[0068] 在一些实施方案中,本发明提供了治疗诊断患有慢性心力衰竭的患者的方法,包括施用松弛素激动剂。在一些方法中,松弛素激动剂激活一种或多种松弛素-相关的 G-蛋白偶联受体(GPCR),选自但不限于 RXFP1、RXFP2、RXFP3、RXFP4、FSHR(LGR1)、LHCGR(LGR2)、TSHR(LGR3)、LGR4、LGR5、LGR6、LGR7(RXFP1)和 LGR8(RXFP2)。在一些实施方案中,松弛素激动剂包括 Compugen 的 W0 2009/007848 的通式 I 的氨基酸序列(通过引用整合到本文中,用于教导松弛素激动剂序列)。

[0069] 通式 I 肽优选的长度为 7 至 100 个氨基酸,包括氨基酸序列:X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-X20-X21-X22-X23-X24-X25-X26-X27-X28-X29-X30-X31-X32-X33;其中 X1 是空缺或 G 或小的天然或非天然存在的氨基酸;X2 是空缺或 Q 或极性的天然或非天然存在的氨基酸;X3 是空缺或 K 或碱性的天然或非天然存在的氨基酸;X4 是空缺或 G 或小的天然或非天然存在的氨基酸;X5 是空缺或 Q 或 S 或极性的天然或非天然存在的氨基酸;X6 是空缺或 V 或 A 或 P 或 M 或疏水的天然或非天然存在的氨基酸;X7 是空缺或 G 或小的天然或非天然存在的氨基酸;X8 是空缺或 P 或 L 或 A 或天然或非天然存在的氨基酸;X9 是空缺或 P 或 Q 或天然或非天然存在的氨基酸;X10 是空缺或 G 或小的天然或非天然存在的氨基酸;X11 是空缺或 A 或 H 或 E 或 D 或疏水的或小的或酸性的天然或非天然存在的氨基酸;X12 是空缺或 A 或 P 或 Q 或 S 或 R 或 H 或疏水的或小的天然或非天然存在的氨基酸;X13 是空缺或 C 或 V 或疏水的天然或非天然存在的氨基酸;X14 是空缺或 R 或 K 或 Q 或 P 或碱性的或极性的天然或非天然存在的氨基酸;X15 是空缺或 R 或 Q 或 S 或碱性的或极性的天然或非天然存在的氨基酸;X16 是空缺或 A 或 L 或 H 或 Q 或疏水的或小的天然或非天然存在的氨基酸;X17 是空缺或 Y 或疏水的或芳香的天然或非天然存在的氨基酸;X18 是空缺或 A 或疏水的或小的天然或非天然存在的氨基酸;X19 是空缺或 A 或疏水的小的天然或非天然存在的氨基酸;X20 是空缺或 F 或疏水的或芳香的天然或非天

然存在的氨基酸 ;X21 是空缺或 S 或 T 或极性的天然或非天然存在的氨基酸 ;X22 是空缺或 V 或疏水的天然或非天然存在的氨基酸 ;X23 是空缺或 G 或疏水的或小的非天然存在的氨基酸或被酰胺取代 ;X24 是空缺或 R 或碱性的天然或非天然存在的氨基酸 ;X25 是空缺或 R 或碱性的天然或非天然存在的氨基酸 ;X26 是 A 或疏水的或小的天然或非天然存在的氨基酸 ;X27 是 Y 或疏水的或芳香的天然或非天然存在的氨基酸 ;X28 是 A 或疏水的或小的天然或非天然存在的氨基酸 ;X29 是 A 或疏水的或小的天然或非天然存在的氨基酸 ;X30 是 F 或疏水的天然或非天然存在的氨基酸 ;X31 是 S 或 T 或极性的天然或非天然存在的氨基酸 ;X32 是 V 或疏水的天然或非天然存在的氨基酸 ;X33 是空缺或 G 或疏水的或小的天然或非天然存在的氨基酸或被酰胺取代 ;或其制药上可接受的盐 (SEQ ID NO:4)。在一些优选的实施方案中,松弛素激动剂包括肽 P59C13V(游离酸)的序列 GQKGQVGPPGAA VRRRA Y AAFSV(SEQ ID NO:5)。在另一个优选的实施方案中,松弛素激动剂包括肽 P74C13V(游离酸)的序列 GQKGQVGPPGAA VRRRA Y AAFS VRRRA Y AAFS V(SEQ ID NO:6)。人补体 C1Q 肿瘤坏死因子-相关蛋白 8(CTRP8 或 C1QT8)的其它衍生物,例如肽 P59-G(游离酸 Gly)GQKGQVGPPGAACRRA Y AAFSVG(SEQ ID NO:7)也考虑适合用于本发明的方法中。C1QT8 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:8 所述:

[0070] MAAPALLLLALLLPVGAWPGLPRRPCVHCCRPAPPPGPYARVSDRDLWRGDLWRGLPRVRPTIDIEILK
GEKGEAGVRGRAGRSKGEGPPGARGLQGRRGQKGQVGPPGAAGRRAYAAFSVGRRAYAAFSVGRREGLHSSDHFQAV
PFDTELVNLDDGAFDLAAGRFLCTVPGVYFLSLNVHTWNYKETYLHIMLNRRPAAVLYAQPSERSVMQAQSLMLLLA
AGDAVWVRMFQRDRDNAIYGEHGDLYITFSGHLVKPAEEL。

[0071] 本发明还涵盖了这类多肽的同源物,此类同源物可以与示例性的松弛素激动剂(例如,SEQ ID NO:5 或 SEQ ID NO:6)的氨基酸序列至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 85%、至少 90%、至少 95% 或更高的 100% 相同,可以使用国立生物技术信息中心 (NCBI) 的 BlastP 软件来确定,使用缺省参数,任选的和优选的包括下列:过滤开启(该选项使用 Seg(蛋白质)程序从查询中过滤重复的或低复杂度的序列),用于蛋白质的评分矩阵是 BLOSUM62,字节大小是 3,E 值是 10,空位成本是 11,1(起始和(起始和延伸))。任选的和优选的,使用国立生物技术信息中心 (NCBI) 的 BlastN 软件来确定核酸序列同一性/同源性,使用缺省参数,所述参数优选的包括使用 DUST 过滤程序,并且还优选的包括 E 值为 10,过滤低复杂度的序列,和字节大小为 11。最后,本发明还涵盖了上述多肽的片段,和具有突变的多肽,所述突变例如一个或多个氨基酸的缺失、插入或取代,所述突变是天然存在的或者人工诱导的,以随机的或靶向的方式。

[0072] 治疗方法

[0073] A. 增加心指数 (CI)

[0074] 对于纽约心脏协会 (NYHA) 分类,II 类和 III 类患者携带慢性代偿性心力衰竭生活,即使优化标准的药物治疗,仍然存在对每天生活质量的限制。在大部分患慢性 HF 的患者中,心指数 (CI) 和心排血量 (CO) 都是降低的。由于这类患者的心脏不能理想的工作,所以使用药物补偿心脏的损坏。然而,现有的药物具有副作用,例如低血压和肾毒性。相反,松弛素治疗增加慢性代偿性 HF 患者的 CI 和 CO,而没有有害的副作用。特别地是,施用松弛素不增加对象的心率,而在不引起低血压或不恶化肾功能的条件下降低体血管阻力。心力衰竭最常见的病因是左心室收缩功能障碍,导致降低的心脏收缩力,从而导致低 CI 和高

肺动脉压。重要的是,除了增加 CI 外,已经证实松弛素降低慢性心力衰竭患者的肺毛细血管楔压。因此,松弛素具有许多可对慢性 HF 患者(例如,具有低于正常 CI 的患者)非常有益的特征。此外,可以以固定剂量施用治疗有效量的松弛素,不需要事先滴定。所述剂量通常在约 10 和 960mcg/kg/ 天之间。然而,还可以以 960mcg/kg/ 天的固定剂量向慢性代偿性心力衰竭患者施用松弛素。该剂量已表现出导致 CI 的显著增加和肺毛细血管楔压的降低。可以静脉内施用松弛素 8 或 24,或达 48 小时,或者施用所需要的足够长的时间(例如,7、14、21 天等)。然而,其它的递送途径和方案也是合适的,其中一些已经更详细的描述在本发明的“施用和给药计划”章节中。除了对治疗已经受心脏的左心室重构的患者有好处外,很明显最重要的是阻止此类重构来减慢心力衰竭疾病的进展。因此,为了避免结构性心脏病的进一步发展,松弛素对不应答标准预防措施的人群是有益的。

[0075] B. 改善功能能力

[0076] 具有更多症状性病或晚期(advanced)病的慢性 HF 患者,例如 NYHA 分类 III 类,特别是 IV 类,通常可以仅进行亚优化控制。即使治疗,症状也通常明显持续,并且药物耐受或副作用的出现会进一步降低现有治疗的治疗成功。为了改善患晚期心力衰竭或在静止时具有顽固性 HF 症状的患者的生活质量,用松弛素干预可以是有益的。目前,静脉内施用 inotrope 和血管舒张剂(例如,多巴酚丁胺(dobutamine)、米利农(milrinone)、硝酸甘油(nitroglycerin)、硝普钠(nitroprusside)或奈西立肽(nesiritide))用于治疗有严重症状的 HF 患者,包括在静止时有顽固性症状的,具有限制它们用于慢性代偿性 HF 患者的局限(例如,有限的功效、肾毒性、低血压的风险或需要滴定)。然而,可以以固定剂量施用治疗有效量的松弛素,不需要事先滴定。此外,在宽的剂量范围内,都没有观察到松弛素在患者中肾毒性。此外,松弛素增加慢性代偿性 HF 患者的 CI 和 CO,而不增加心率,同时在不引起低血压或不恶化肾功能的条件下降低体血管阻力。重要的是,除了增加 CI 外,松弛素已表现出降低慢性心力衰竭患者的肺毛细血管楔压。因此,松弛素具有许多对慢性 HF 患者高度有益的特征,包括对晚期疾病的患者。施用剂量通常在约 10 和 960mcg/kg/ 天之间。然而,还可以以 960mcg/kg/ 天的固定剂量向慢性代偿性心力衰竭患者施用松弛素。该剂量已表现出导致 CI 的显著增加和肺毛细血管楔压的降低。可以静脉内施用松弛素 8 或 24,或达 48 小时,或者施用所需要的足够长的时间(例如,7、14、21 天等)。然而,其它的递送途径和方案也是合适的,其中一些已经更详细的描述在本发明的“施用和给药计划”章节中。

[0077] C. 降低代偿失调发作的频率

[0078] 在患稳定的代偿性慢性 HF 的患者(例如,通过确立的药物治疗方案实现了代偿的患者)中施用松弛素,导致甚至更有利的结果,具有增加的心指数,以及体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、循环的 N-端激素原脑利尿钠肽和肾功能障碍的标志物(血尿素氮和肌酐)的降低。重要的是,在具有松弛素的这类益处的同时,没有低血压、心动过速和/或心律失常作为松弛素治疗结果的明显风险。由此,松弛素可以向稳定的代偿性慢性 HF 群体提供稳定且有益健康的影响,获得较低的代偿失调风险和降低的、需要住院治疗的代偿失调发作的频率。由此,松弛素的这类独特的特征是松弛素有利的用于门诊病人的指示,所述病人具有可控的、诊断为根据 NYHA 分类的 II 类或 III 类心力衰竭的慢性 HF。施用剂量通常在约 10 和 960mcg/kg/ 天之间。可以静脉内施用松弛素 8 或 24,或达 48 小时,或者施用所需要的足够长的时间(例如,7、14、21 天等)。然而,其它的递送途径和方案也是

合适的,其中一些已经更详细的描述在本发明的“施用和给药计划”章节中。

[0079] D. 减少并发性慢性心力衰竭药物治疗的使用

[0080] 目前有非常多种的许可药物用于控制患慢性 HF 的患者。治疗有风险患心力衰竭的患者,来控制潜在的病因,例如高血压和脂肪紊乱。一些糖尿病和血管病的患者接受药物治疗,例如血管舒张剂、肾上腺素能阻断剂、中枢作用的 α -激动剂、血管紧张素-转化酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 受体阻断剂 (ARB)、钙通道阻断剂、阳性 inotrope 和多种类型的利尿药 (例如,祥的、保钾的、噻嗪类和噻嗪-样)。在一些实施方案中,本发明提供了治疗心力衰竭的方法,包括结合施用松弛素和辅助疗法,例如抗高血压药物。在一些方法中,抗高血压药物选自但不限于抗血小板、 β -阻断剂、利尿药和抗血管紧张素疗法。

[0081] 血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂已用于治疗高血压多年。ACE 抑制剂阻断血管紧张素 II 的形成,血管紧张素 II 是一种对 CHF 患者的心脏和循环具有不良作用的激素。这些药物的副作用包括干咳、低血压、肾功能恶化和电解质失衡,以及有时还包括变态反应。ACE 抑制剂的实例包括卡托普利 (CAPOTEN)、依那普利 (VASOTEC)、赖诺普利 (ZESTRIL, PRINIVIL)、贝那普利 (LOTENSIN) 和雷米普利 (ALTACE)。对于那些不能耐受 ACE 抑制剂的患者,可以使用替代组药物,即血管紧张素受体阻断剂 (ARB)。这些药物与 ACE 抑制剂作用于相同的激素途径,不同的是其在血管紧张素 II 的受体部位直接阻断血管紧张素 II 的作用。这些药物的副作用类似于与 ACE 抑制剂相关的副作用,但是干咳较为不常见。这类药物的实例包括氯沙坦 (COZAAR)、坎地沙坦 (ATACAND)、替米沙坦 (MICARDIS)、缬沙坦 (DIOVAN) 和依贝沙坦 (AVAPRO)。

[0082] β -阻断剂是阻断某些刺激激素如肾上腺素 (肾上腺素)、去甲肾上腺素和其它类似激素的作用的药物,其作用于各身体组织的 β 受体。这些激素对心脏 β 受体的天然作用是心肌更有力的收缩。 β -阻断剂是阻断这些刺激激素对 β 受体的作用的物质。这些激素的刺激作用最初用于维持心脏功能,随着时间推移表现出对心肌有害的作用。一般而言,如果慢性 HF 患者接受 β -阻断剂,则最初对他们给予极低的剂量,然后逐渐增加。副作用包括液体潴留、低血压、低脉搏以及四肢无力 (general fatigue) 和头晕目眩 (lightheadedness)。 β -阻断剂也不应用于具有气道疾病 (例如,哮喘、肺气肿) 或静息心率极低的人。卡维地洛 (COREG) 已经是在充血性心力衰竭情况中研究最彻底的药物,并且一直是 FDA 批准的用于治疗充血性心力衰竭的唯一 β -阻断剂。然而,直接比较卡维地洛和其它 β -阻断剂在治疗充血性心力衰竭方面的研究正在进行中。长效美托洛尔 (TOPROL XL) 在具有充血性心力衰竭的患者中也是有效的。地高辛 (LANOXIN) 是洋地黄开花植物天然产生的,已用于治疗慢性 HF 患者十年。地高辛刺激心肌更有力地收缩。副作用包括恶心、呕吐、心节律紊乱、肾功能障碍和电解质异常。在具有明显肾损伤的患者中,需要小心地调节和监控地高辛的剂量。

[0083] 利尿药常常用于治疗慢性 HF 患者来预防或减轻液体潴留症状。这些药物通过促进液体通过肾的流动来帮助避免液体在肺和其它组织中蓄积。尽管它们在缓解症状如呼吸短促和腿肿胀方面是有效的,但尚未证明它们积极影响长期存活率。当需要住院时,常常静脉内施用利尿药,因为吸收口服利尿药的能力可能受损。利尿药的副作用包括脱水、电解质异常 (特别是钾水平低)、听力障碍和低血压。适宜时,通过给患者提供补充剂来预防低钾水平是重要的。任何电解质失衡均可使患者易于发生严重的心节律紊乱。各类利尿

药的实例包括呋塞米 (LASIX)、氢氯噻嗪、布美他尼 (BUMEX)、托塞米 (DEMADEX) 和美托拉宗 (ZAROXOLYN)。螺内酯 (ALDACTONE) 多年来已经作为较弱的利尿药用于治疗各种疾病。该药物阻断激素醛固酮的作用。醛固酮在充血性心力衰竭中对心脏和循环具有理论上的有害作用。血管紧张素 II 刺激醛固酮的部分释放 (同上)。该药物的副作用包括钾水平升高和在男性中乳腺组织生长 (男子乳腺发育)。另一种醛固酮抑制剂是依普利酮 (INSPIRA)。

[0084] 在受治疗患者中已经观察到松弛素的有益特征,例如增加的心指数,以及体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、循环的 N-端激素原脑利尿钠肽和肾功能障碍的标志物 (血尿素氮和肌酸酐) 的降低,表示施用松弛素代替目前许可的心力衰竭药物,或在所述药物之外还施用松弛素,是理想的。松弛素具有许多使用现有药物治疗没有观察到的优点,包括在治疗过程中没有低血压和心动过速的显著风险,在施用前不需要滴定,且没有肾毒性。处于标准药物治疗下以实现并维持稳定的代偿性 HF 的状态的 HF 患者可以接受通常在约 10 和 960mcg/kg/天之间的剂量施用的松弛素。可以静脉内施用松弛素 8 或 24,或达 48 小时,或者施用所需要的足够长的时间 (例如,7、14、21 天等)。然而,其它的递送途径和方案也是合适的,其中一些已经更详细的描述在本发明的“施用和给药计划”章节中。当在优化的标准治疗之外施用松弛素时,松弛素的有益效果甚至可见于慢性代偿性 HF 患者中。结果证实了上文描述的松弛素的益处,并提示降低剂量或者停止一种或多种并发性 HF 的药物治疗。

[0085] E. 其它治疗方法

[0086] 松弛素治疗导致平衡的血管舒张。认为松弛素的有益作用是作为肾和全身的脉管系统中的受体特异性血管舒张剂通过与脉管系统的平滑肌组织上发现的特异性松弛素受体结合起作用的松弛素的直接结果。这转而引起平衡的血管舒张,因为全身和肾的动脉以中度的但有效的方式进行血管舒张,且在治疗的患者中不引起低血压。松弛素作为受体特异性和平衡血管舒张剂的这种性质在希望在身体的特定区域获得增加的血管舒张的情况中是特别有利的,在所述特定区域血管收缩引起严重的有害作用,如在向心脏和肾供应血液的动脉中。值得注意的是,在治疗过程中出现平衡的血管舒张,不引起任何有害的副作用。非特异性血管舒张剂治疗的常见问题是这些药物常常在治疗的患者中引起严重的副作用,主要是因为一般的激动剂作用太强且没有特异性。比较而言,松弛素的中度作用缓慢增加最需要血管舒张的身体区域中的血管舒张。重要的是注意松弛素治疗不象许多对血管收缩过度补偿的药物那样导致低血压。特定地,非特异性血管舒张剂能引起全身的大和小的动脉和静脉过度舒张,导致低血压。因此,当患者接受具有药学上有活性的松弛素或药学上有有效的松弛素激动剂的药物组合物时,结果是平衡的血管舒张,且不引起低血压,所述药学上有活性的松弛素或药学上有有效的松弛素激动剂经由局限化的特异性松弛素受体 (例如, LRG7、LGR8、GPCR135、GPCR142 受体) 靶向于全身和肾的血管。

[0087] 此外,根据本发明发展过程中确定,由松弛素在心力衰竭患者中引起的平衡的血管舒张是一类全身 (主要是动脉) 和肾脉管系统的双重血管舒张。然而,松弛素引起心力衰竭患者的血管舒张平衡是由于松弛素向全身血管舒张上添加了实际的肾血管舒张,从而实现了全身和肾脉管系统之间的平衡。作为全身血管舒张的结果,现有药物已知引起一些间接的肾改善,但不足以实现所述平衡。实际上,由松弛素施用引起的血管舒张平衡允许 AHF 患者在相对较短的时间段内,从急性状态转为稳定的状态。此外,在通过现有已确定的

药物治疗实现的稳定的代偿性慢性 HF 患者中施用松弛素,导致甚至更有益的结果,如降低的肾功能障碍的标志物和与血管舒张一致的有利的血液动力学效应。由此,松弛素可以为稳定的代偿性慢性 HF 群体提供稳定且有益健康的效应,获得降低的代偿失调风险,并可能减慢该疾病的发展,在代偿性慢性心力衰竭患者中获得降低的、需要住院治疗的代偿失调发作频率。进一步的,在不增加心率的条件下心指数的增加,以及其他参数的降低,例如体血管阻力、肺毛细血管楔压、肺血管阻力、血尿素氮、肌酸酐和循环型 N- 端激素原脑利尿钠肽,是松弛素在一般的慢性 HF 患者以及需要更侵入性的治疗规划的晚期 HF 患者中有益用途的指示。

[0088] 松弛素的这类有益效应涉及松弛素与其受体(例如,LRG7、LGR8、GPCR135、GPCR142 受体)的结合,所述结合导致平衡的血管舒张,即在全身和肾脉管系统中的双重血管舒张。因此,通过选择患稳定的代偿性心力衰竭的人类对象,并向这些对象施用含药学上有活性的松弛素的药物制剂,松弛素可以用于降低心代偿失调事件的风险,或(通过)限制疾病的进展。特别的是,此类对象接受药学上有活性的人松弛素(例如,合成的、重组的)或药学有效的松弛素激动剂,其量的范围在每天每 kg 的对象体重约 10 至 960mcg。可以静脉内施用松弛素 8 或 24,或达 48 小时,或者施用所需要的足够长的时间(例如,7、14、21 天等)。然而,其它的递送途径和方案也是合适的,其中一些已经更详细的描述在本发明的“施用和给药计划”章节中。松弛素的施用是连续的,以维持松弛素的血清浓度为约 0.5 至约 500ng/ml,更优选的从约 3 至约 300ng/ml。因此,本发明的方法包括施用导致上述血清浓度的松弛素。这类松弛素浓度可以降低或阻止疾病的发展,以及具有代偿失调事件的风险,所述事件例如呼吸困难、高血压、心律失常、降低的肾血流和肾功能不全。

[0089] 松弛素治疗与肾毒性不相关。肾功能障碍是慢性 HF 的常见且进行性的并发症。临床过程通常随患者的临床状态和治疗而变化。尽管对频繁出现的结合的心脏和肾脏功能障碍(也称为“心肾综合征”)的认识日益增长,其潜在的病理生理学仍未充分了解。本领域尚未取得对其适当管理的共识。因为患慢性心力衰竭的患者由于心脏心律失常的存活较长且死亡较不频繁,因此,心肾综合征越来越常见,需要正确的管理(Gary Francis(2006) Cleveland Clinic Journal of Medicine 73(2):1-13)。松弛素施用给对象,并通过与全身和肾脉管系统中的松弛素受体结合,实施双重作用,获得平衡的血管舒张。如上所述(见上文),此类对象接受药学上有活性的人松弛素(例如,合成的、重组的)或药学有效的松弛素激动剂,其量的范围在每天每 kg 的对象体重约 10 至 960mcg。上述剂量导致松弛素的血清浓度分别为约 75、150 和 300ng/ml。松弛素的施用是连续的,以维持松弛素的血清浓度为约 0.5 至约 500ng/ml,更优选的从约 3 至约 300ng/ml。可以静脉内施用松弛素 8 或 24,或达 48 小时,或者施用所需要的足够长的时间(例如,7、14、21 天等)。然而,其它的递送途径和方案也是合适的,其中一些已经更详细的描述在本发明的“施用和给药计划”章节中。

[0090] 患有与心力衰竭相关的肾功能不全的对象通常也经历了升高的脑利尿钠肽(BNP)的水平。BNP 在应答心力衰竭和左心室功能障碍的心室合成,用作心力衰竭的诊断标志物。它的效应包括全身血管舒张和肾脏的不平衡的血管舒张,即,输出小动脉收缩和输入小动脉舒张。当向稳定的代偿性慢性 HF 患者施用松弛素时,BNP 的水平甚至进一步降低。这使 BNP 成为方便的标志物,因其随代偿失调的严重程度降低而降低,从而监控用松弛素治疗的患者的 BNP 水平是方便的方法,以保证代偿性慢性 HF 是稳定化的。

[0091] 当向稳定的代偿性慢性 HF 患者施用₁时,松弛素引起低或无肾毒性。这意味着作为治疗的结果,患者的肾功能₂是改善的而非破坏的。即使使用约 75ng/ml 的较高血清浓度的松弛素,也远低于目前可获得的药物治疗的毒性(例如,袢利尿药如呋塞米(furosemide)、血管紧张素转化酶抑制剂如卡托普利(captopril)、血管紧张素受体阻断剂如坎地沙坦(candesartan),等)。本发明的一个重要特征是在治疗过程中,松弛素保护了肾功能而引起极少的或不引起肾毒性。虽然现有药物可以保护一部分的肾功能,但它们在患者体内也增加了肾毒性。然后,该肾毒性进一步破坏心脏情况。作为比较的,部分的因为缺少肾毒性,松弛素施用₃在大部分患者中实现了维持稳态。这允许更稳定的慢性 HF 群体实现可控的病况,其中可测量的降低了恶化的心力衰竭的可能性。

[0092] 松弛素组合物和制剂

[0093] 将松弛素、松弛素激动剂和/或松弛素类似物配制成药品用于本公开物的方法中。能刺激与生物学上或药学上有活性的松弛素(例如,合成的松弛素、重组的松弛素)或松弛素激动剂(例如,松弛素类似物或松弛素样调节剂)与松弛素受体的结合相关的生物学反应的任何组合物或化合物在本公开物中可用作药品。关于配制和施用技术的综合细节在科学文献中有充分描述(参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, Maack Publishing Co, Easton Pa.)。可以根据本领域中已知的药品生产方法来制备含有药学上有活性的松弛素的药物制剂。可以将本公开物的方法中使用的含有药学上有活性的松弛素或松弛素激动剂的制剂配制用于以常规可接受的方式施用,包括但不限于静脉内、皮下、肌肉内、舌下、局部、口服、经由吸入和可穿戴的输液泵施用。下文给出了说明性的实例。在一个优选的实施方案中,静脉内(IV)施用松弛素。

[0094] 当药物通过静脉内注射递送时,含有药学上有活性的松弛素或药学上有效的松弛素激动剂的制剂可以₄是无菌注射制剂的形式,如无菌的注射用含水或含油混悬剂。该混悬剂可以根据已知技术使用上文已提到的那些适当的分散剂或湿润剂和助悬剂进行配制。所述无菌注射制剂也可以是在无毒性的胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液。在能使用的可接受的赋形剂和溶剂中,尤其是水和林格氏液(一种等张氯化钠)。另外,可方便地用无菌不挥发性油作为溶剂或混悬媒介。对于该目的,可以使用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油单酯和甘油二酯。另外,脂肪酸如油酸也可用于制备注射剂。

[0095] 可以使用本领域中熟知的药学上可接受的载体以适于口服施用的剂量配制用于口服施用的药物制剂。这类载体能将药物制剂配制成适合患者摄入的单位剂型,如片剂、丸剂、散剂、胶囊、液体制剂(liquids)、锭剂、凝胶、糖浆、膏剂(slurries)、混悬剂等。通过以下方法可以获得用于口服使用的药物制剂:将松弛素化合物与固体辅料混合,任选将所得的混合物粉碎,和在加入适合的另外的化合物(如果需要的话)后加工颗粒混合物以获得片剂或丸剂。适合的固体赋形剂是碳水化合物或蛋白质填充剂,其包括但不限于:糖,包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇;来源于玉米、小麦、米、马铃薯或其它植物的淀粉;纤维素如甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素或羧甲基纤维素钠;和树胶,包括阿拉伯胶和西黄蓍胶;以及蛋白质,如明胶和胶原。如果需要的话,可以加入崩解剂或增溶剂,如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、海藻酸或其盐如海藻酸钠。也可以口服使用的本公开物的药物制剂是例如由明胶制成的推入契合胶囊(push-fit capsule)以及由明胶和包衣如甘油或山梨醇制成的密封的软胶囊。推入契合胶囊能含有与填充剂或粘合剂如乳糖或淀粉、润滑剂如滑石粉或硬脂

酸镁和任选的稳定剂混合的松弛素。在软胶囊中,松弛素化合物可以在存在或不存在稳定剂的情况下溶解或混悬在适合的液体如脂肪油、液体石蜡或液体聚乙二醇中。

[0096] 本公开物的含水混悬剂含有与适于生产含水混悬剂的赋形剂混合的松弛素。这类赋形剂包括助悬剂如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、西黄蓍胶和阿拉伯胶、以及分散剂或湿润剂如天然存在的磷脂如卵磷脂、烯化氧(alkylene oxide)与脂肪酸的缩合产物(例如,聚氧乙烯硬脂酸酯)、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物(例如,heptadecaethylene oxycetanol)、环氧乙烷与衍生自脂肪酸或己糖醇的部分酯的缩合产物(例如,聚氧乙烯山梨醇单油酸酯)或环氧乙烷与衍生自脂肪酸或己糖醇酐的部分酯的缩合产物(例如,聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯)。含水混悬剂还可以含有一种或多种防腐剂如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯、一种或多种着色剂、一种或多种矫味剂、一种或多种甜味剂如蔗糖、阿司帕坦或糖精。还可以针对渗透性调整制剂。

[0097] 油混悬剂可以通过将松弛素混悬在植物油如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油中或混悬在矿物油如液体石蜡中来配制。油混悬剂可以含有增稠剂如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可以加入甜味剂以提供可口的口服制剂。这些制剂可以通过加入抗氧化剂如抗坏血酸来保护。

[0098] 适合用于通过加入水来制备含水混悬剂的本公开物的可分散的粉末和颗粒能由松弛素以及分散剂、助悬剂和/或湿润剂和一种或多种防腐剂来配制。也可以存在另外的赋形剂例如甜味剂、矫味剂和着色剂。

[0099] 本公开物的药物制剂还可以是水包油型乳剂的形式。油相可以是植物油如橄榄油或花生油、矿物油如液体石蜡或它们的混合物。适合的乳化剂包括天然存在的树胶如阿拉伯胶和西黄蓍胶、天然存在的磷脂如大豆卵磷脂、衍生自脂肪酸或己糖醇酐的酯或部分酯如失水山梨醇单油酸酯和这些部分酯与环氧乙烷的缩合产物如聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯。乳剂还含有甜味剂和矫味剂。糖浆和酏剂可以用甜味剂如甘油、山梨醇或蔗糖配制。此类制剂还可以含有缓和剂、防腐剂、矫味剂或着色剂。

[0100] 施用和给药计划

[0101] 在本公开物的方法中所用的含有药学上有活性的松弛素或药学上有效的松弛素激动剂的制剂可以以任何常规可接受的方式施用,包括但不限于静脉内、皮下、肌肉、舌下、局部、口服、经由吸入以及通过可穿戴的输液泵施用。施用将随着药物的药动力学和其它性质以及患者的健康状况而改变。下面给出了总的指导原则。

[0102] 发明的方法产生了与血管舒张一致的血液动力学效应,包括改善的患稳定的代偿性慢性 HF 的对象的反映肾功能的参数。认为足以实现上述效应的、单独的或与另一种或多种的物质和药物组合的松弛素的量是治疗有效剂量。对该用途有效的剂量方案和量,即“给药计划”,依赖于多种因素,包括疾病或病况的阶段、疾病或病况的严重程度、有害副作用的严重程度、患者健康的一般状态、患者的身体状态、年龄等。在计算患者的给药计划中,施用的模式也要列入考虑。剂量计划还必须考虑药物动力学,即,吸收速率、生物利用度、代谢、清除率等。基于上述原则,松弛素可用于治疗诊断患有心力衰竭症状的人类对象,维持稳定的代偿性慢性 HF。

[0103] 本发明提供了松弛素和其他药物,包括用于同步的、组合的、分离的或顺序的施用

的抗血小板疗法、 β -阻断剂、利尿药、硝酸盐、肼苯哒嗪 (hydralazine)、inotrope、洋地黄 (digitalis) 和血管紧张素-转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂。发明还提供了抗血小板疗法、 β -阻断剂、利尿药、硝酸盐、肼苯哒嗪、inotrope、洋地黄和血管紧张素-转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂在生产用于管理稳定的代偿性慢性 HF 的药物中的用途，其中制备药物用于与松弛素一起施用。

[0104] 还考虑了松弛素在生产用于管理稳定的代偿性慢性 HF 的药物中用途，其中患者原先（例如，数小时前，一天或数天、数周、数月或数年前，等）已经用抗血小板疗法、 β -阻断剂、利尿药、硝酸盐、肼苯哒嗪、inotrope、洋地黄和血管紧张素-转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂治疗过。在一个实施方案中，一种或多种药物在患者体内仍然是有活性的，所述药物例如抗血小板疗法、 β -阻断剂、利尿药、硝酸盐、肼苯哒嗪、inotrope、洋地黄和血管紧张素-转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂。发明还提供了抗血小板疗法、 β -阻断剂、利尿药、硝酸盐、肼苯哒嗪、inotrope、洋地黄和血管紧张素-转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂在生产用于管理稳定的代偿性慢性 HF 的药物中用途，其中患者原先已经用松弛素治疗过。

[0105] 本领域的现状允许临床医师确定用于各个患者的松弛素剂量计划。作为示例性的实例，下文提供的用于松弛素的指导条例可用作确定剂量计划的指导，即，当实践本发明的方法时，施用的含有药学上有活性松弛素的制剂的给药方案和剂量水平。作为一般性指导条例，预期药学上有活性的 H2 人松弛素（例如，合成的、重组的、类似物、激动剂等）的每日剂量通常是以下范围的量：每天每 kg 对象体重约 10 至 960mcg。在一个实施方案中，松弛素的剂量是 10、30 和 100mcg/kg/天。在另一个实施方案中，这些剂量导致松弛素的血清浓度分别为约 3、10 和 30ng/ml。在另一个实施方案中，松弛素的剂量是 240、480 和 960mcg/kg/天。在另一个实施方案中，这些剂量导致松弛素的血清浓度分别为约 75、150 和 300ng/ml。在另一个实施方案中，持续施用松弛素使松弛素的血清浓度维持在约 0.5 至约 500ng/ml，更优选的从约 3 至约 300ng/ml。因此，本发明的方法包括导致这些松弛素血清浓度的施用。这些松弛素浓度可以改善或降低代偿失调事件，例如呼吸困难、高血压 (hypertension)、高血压 (high blood pressure)、心律失常、减少的肾血流、肾功能不全和致死。此外，这些松弛素浓度可以改善或降低神经激素失衡、液体过剩、心脏心律失常、心肌缺血、致死风险、心区不适、血管阻力等。根据对象，维持松弛素施用一段特定的时期，或长至维持对象的稳定性所需要。

[0106] 松弛素治疗的持续期对一些对象可以是不确定的，或优选的根据患者保持在约 4 小时至约 96 小时的范围，以及需要时一次或多次任选的重复治疗。例如，关于施用的频率，松弛素施用可以是持续治疗约 8 小时至 48 小时的连续输注。可以通过静脉内或皮下（或皮内、舌下、吸入或通过可穿戴的输液泵）施用连续的或间歇的给予松弛素。对于静脉内施用，可以通过注射泵或通过 IV 袋递送松弛素。IV 袋可以是标准盐水、二分之一生理盐水、5% 水中的右旋糖、乳酸林格氏液或在 100、250、500 或 1000ml IV 袋中的类似溶液。对于皮下输注，可以通过与可穿戴的输液泵连接的皮下输注装置施用松弛素。根据对象，维持施用松弛素一段特定的时期（例如，4、8、12、24 和 48 小时），或长至维持对象的稳定性所需要（例如，每天、每月或 7、14、21 天等）。

[0107] 一些对象的治疗是不确定的，而其它对象则治疗特定的时期。当需要时还可以用

松弛素断断续续的治疗对象。因此,施用可以持续足以维持稳定的代偿性慢性 HF 的时间,获得急性心代偿失调事件的改善或减少,包括但不限于呼吸困难、高血压 (hypertension)、高血压 (high blood pressure)、心律失常、减少的肾血流和肾功能不全。制剂应该提供足量的松弛素,以有效地改善和稳定病况。用于静脉施用松弛素的典型药物制剂可以依赖于特定的疗法。例如,可以通过单一治疗(即,没有其它的伴随药物治疗)或与另一种药物治疗(例如抗血小板疗法、 β -阻断剂、利尿药、硝酸盐、肼苯哒嗪、inotrope、洋地黄和血管紧张素-转化酶抑制剂或血管紧张素受体阻断剂或其他药物)组合治疗,来向患者施用松弛素。在一个实施方案中,松弛素作为单一治疗每天向患者施用。在另一个实施方案中,松弛素与另一种药物作为组合治疗每天向患者施用。值得注意的是,向患者施用松弛素的剂量和频率可以依赖于年龄、疾病程度、药物耐受、伴随的药物治疗和病况而变化。在其他实施方案中,向患者施用松弛素的最终目标是取代、减少或排除其它药物治疗,以减少它们的副作用,增加或维持使用松弛素药物干预的治疗受益,以便最佳的维持稳定的、代偿的和慢性的心力衰竭。

[0108] 实验

[0109] 下列特定的实例意在示例本发明,不应视为对权利要求范围的限制。

[0110] 缩写:AUC(曲线下面积);BNP(脑利尿钠肽);BP(血压);BUN(血尿素氮);CHF(充血性心力衰竭);CI(心指数);CO(心排量);CrCl(肌酸清除率);DBP(舒张血压);dL(分升);eGFR(估计的肾小球滤过率);HF(心力衰竭);hr(小时);HR(心率);ICU(加护病房);IV(静脉内);kg(千克);L(升);LVEDP(左心室舒张末期压);LVEF(左心室射血分数);mcg 或 μ g(微克);mEq(毫当量);MI(心肌梗塞);mIU(毫-国际单位);mL(毫升);NYHA(纽约心脏协会);PAH(对氨基马尿酸盐);PAP(肺动脉压);PCWP(肺毛细血管楔压);PD(药效);RAP(右心房压);RBBB(右束支传导阻滞);RBF(肾血流);rhRlx 或 rhRLX(重组的人松弛素);Rlx 或 RLX(松弛素);RR(呼吸率);SBP(收缩压);SI(心搏指数);sMDRD(简化的肾病饮食修正,simplified Modification of Diet in Renal Disease);SQ(皮下SQ);SVR(体血管阻力);T(温度);VAS(直观类比标度);VF(心室纤颤);VT(室性心动过速);和 WHF(恶化的心力衰竭)

[0111] 实施例 1

[0112] 向慢性心力衰竭患者施用松弛素

[0113] 综述。在开放标签的研究(open-label study)中,招募 16 名慢性和稳定的代偿性充血性 HF 的患者到 3 组超过 24 小时的剂量递增的重组静脉内松弛素(10 至 960mcg/kg/天)中。松弛素产生了心指数和搏出量的增加,以及肺楔压和 NT-pro BNP 的降低。它改善了肾功能的标志物,在输注后的过程中在最高剂量处具有小的反跳。该研究表明,在稳定的代偿性 HF 患者中,松弛素具有血液动力学的、神经体液的和肾脏的有益效果,而没有相关的不良效应,这使松弛素成为保持患者的稳定代偿性慢性心力衰竭处于控制之下的主要候选药物。确定了最大耐受剂量。

[0114] 研究的设计。在该单中心的、开放标签研究中,16 名满足了选择标准而不符合淘汰标准的慢性和稳定的代偿性充血性 HF 患者相继分入 3 个静脉内(IV)松弛素的递增性组中。主要的选择标准包括:年龄>18 岁;NYHACHF 分类 II-III,没有病因学的限制;在招募的 6 个月内左心室射血分数<35%;在研究期间接受确定的口服 HF 治疗,预期保持不变。主要

的淘汰标准包括：楔压 $<16\text{mmHg}$ 或 $\text{CI}>2.5\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ ；急性冠状动脉综合征（在4周内）或近期发生心肌梗塞或心脏手术（在6个月内）；在基线需要静脉内治疗的AHF；收缩压 $<85\text{mmHg}$ ；未纠正的瓣膜性心脏病，预期相关的二尖瓣和/或三尖瓣功能不全；阻塞性或限制性心肌病；近期发作的室性心动过速或心室纤颤（在4周内）；近期中风（在3个月内）；在筛选观察（screening visit）时，肌酸酐 $>2.0\text{mg}/\text{dl}$ 或血清转氨酶和/或总胆红素 >2.5 倍正常值的上限；子宫内异位史。

[0115] 药物设计。研究的药物是松弛素（由重组技术生产）。重组松弛素与天然的人激素H2松弛素相同。剂量升级如下：组A包括8小时连续治疗，每个使用等于10、30和 $100\text{mcg}/\text{kg}/\text{天}$ 的剂量。组B包括8小时连续治疗，每个使用等于240、480和 $960\text{mcg}/\text{kg}/\text{天}$ 的剂量。组C接受24小时 $960\text{mcg}/\text{kg}/\text{天}$ 的治疗。在检查了组A使用的剂量的安全性和耐受性后，进行从组A向组B的升级。在确定了组B的最高剂量（ $960\text{mcg}/\text{kg}/\text{天}$ ）的安全性和耐受性后，进行从组B向组C的升级。

[0116] 研究程序、终点和统计学分析。在加护病房监控患者的输注和输注后时期（或24小时）。使用Swan-Ganz和动脉导管连续实施血液动力学的测量，包括CI、SVR、PCWP、SBP、RAP和PVR。同样地，在输注和输注后的全程，以及开始输注后的第9天，连续进行临床和实验室的监控。通过电话实施对严重的不良事件的额外30天的评估。终点包括偏离基线的血液动力学和神经体液（NT-pro BNP水平）的改变，以及在研究过程中监控生命体征、心电图、血清化学和血液学参数。对于统计学分析， $P<0.05$ 的误差概率视为显著的。使用在秩上（on rank）的Kruskal-Wallis ANOVA，然后进行Dun's测试，比较基线值。使用在秩上的Friedman重复测量的方差分析，然后进行Dun's测试，与基线进行比较，分析单个组内随时间变化的差异（血液动力学、肾参数和肽水平）。

[0117] 人口统计数据 and 安全性。所有患者都进行标准HF药物治疗，并由于冠状动脉病、高血压、扩张型心肌病，或（在一例情况下）纠正的瓣膜性心脏病，而表现出显著低下的左心室收缩功能。所有对象都完全给药，且良好的耐受了松弛素的所有剂量。参见下表1。没有任何输注相关的临床显著性不良事件；因此选择了在组A和B中测试的最高剂量 $960\text{mcg}/\text{kg}/\text{d}$ 在组C中施用超过24小时。在研究药物输注后3周，发生了一次不良事件（温和的心绞痛，根据血管造影评估，没有任何进行性冠状动脉病的信号），所述事件不视为与松弛素相关。到第9天的给药过程中，报道有7次与研究药物不相关的不良事件，即，两名患者抱怨有温和的心绞痛（不包括SAE），各一名患者抱怨有无力、失眠、头痛、良性前列腺肥大和温和的咯血。咯血事件明确地是由Swan-Ganz导管插入嵌固部位引起的，并自发的恢复了。

[0118] 表1. 研究对象

[0119]

[0120]

组	对象	药物治疗	LVEF
A	男性, 高加索人, 79 岁, CAD	ASA、STA、BB、ACEI、AA、DIG、D	31%
A	男性, 高加索人, 65 岁, CAD	ASA、CLO、STA、BB、ACEI、NIT、D	33%
A	男性, 高加索人, 82 岁, CAD	ASA、CLO、STA、BB、ACEI、D	23%
A	女性, 高加索人, 73 岁, 高血压	ASA、BB、ACEI、D	28%
B	男性, 高加索人, 68 岁, 高血压	BB、SAR、AA、DIG、D	28%
B	男性, 高加索人, 60 岁, DCMP	BB、ACEI、AA、D	30%
B	男性, 高加索人, 73 岁, CAD	ASA、CLO、STA、BB、ACEI、AA	23%
B	男性, 高加索人, 47 岁, 高血压	STA、BB、ACEI、AA、DIG、D	28%
B	男性, 高加索人, 50 岁, CAD	STA、CLO、BB、ACEI、AA、NIT、CCB、D	22%
B	男性, 高加索人, 63 岁, 高血压	BB、ACEI、AA、NIT、D、AMD	26%
C	男性, 高加索人, 69 岁, DCMP	STA、BB、SAR、AA、DIG、D	25%
C	男性, 高加索人, 78 岁, CAD	ASA、CLO、STA、BB、ACEI、CCB、D	29%
C	男性, 高加索人, 64 岁, CAD	ASA、STA、BB、ACEI、SAR、D	23%
C	男性, 高加索人, 72 岁, 瓣膜性 CHF*	BB、ACEI、DIG、D、AMD	26%
C	男性, 高加索人, 64 岁, CAD	ASA、BB、ACEI、AA、NIT、D	20%
C	男性, 高加索人, 64 岁, CAD	ASA、CLO、STA、BB、SAR、AA、CCB、D	24%

[0121] LVEF = 左心室射血分数 ;ASA = 乙酰水杨酸 (acetylsalicylic acid) ;CLO = 氯吡格雷 (clopidogrel) ;STA = 抑制素 ;BB = β - 阻断剂 ;ACEI = 血管紧张素转化酶抑制剂 ;SAR = sartan ;CCB = 钙通道阻断剂 ;AA = 醛固酮拮抗剂 ;DIG = 洋地黄 ;NIT = 硝酸盐 ;D = 利尿药 ;AMD = 胺碘酮 (amiodarone)。

[0122] * 在手术纠正后。

[0123] 基线血液动力学和肾功能。组 A 的患者具有倾向于更异常的基线参数的倾向,而组 B 表现出较不异常。组 B 的患者具有显著低于组 A 患者的 SVR,而组 C 表现出显著高于组 B 的 PVR 值。考虑到肾参数,组 C 的患者倾向于具有高于组 A 和 B 患者的肌酸酐和 BUN 值,虽然尚未达到显著性。同样,在组 B 中观察到的较低 NT-pro BNP 值的倾向不显著。参见下表 2。

[0124] 表 2. 研究小组的基线值

[0125]

	组 A	组 B	组 C
CI (l/min/m ²)	2.1 ± 0.2	2.3 ± 0.1	2.1 ± 0.1
PCWP (mm Hg)	20 ± 1	19 ± 2	20 ± 2
SVR (dyn s ⁻¹ cm ⁵)	1518 ± 134	1010 ± 52*	1254 ± 98
PVR (dyn s ⁻¹ cm ⁵)	194 ± 34	128 ± 12	PVR (dyn s-1 cm5)
SBP (mm Hg)	128 ± 9	109 ± 5	118 ± 8
MPAP (mm Hg)	30 ± 1	27 ± 2	33 ± 4
RAP (mm Hg)	8 ± 2	12 ± 2	10 ± 2
HR (bpm)	71 ± 6	68 ± 2	66 ± 5
肌酸酐 (mg/dl)	1.08 ± 0.13	1.19 ± 0.10	1.46 ± 0.16
BUN (mg/dl)	39 ± 7	47 ± 8	72 ± 12
NT-pro BNP (pg/ml)	3715 ± 1046	2273 ± 648	2693 ± 501

[0126] CI = 心指数; PCWP = 肺毛细血管楔压; SVR/PVR = 体/肺血管阻力; SBP = 收缩压; MPAP = 平均肺动脉压; RAP = 右心房压; HR = 心率; BUN = 血尿素氮。

[0127] P < 0.05, *A vs. B, #B vs. C

[0128] 输注和输注后。随组 A 中松弛素剂量增加, CI 值倾向于增加 (图 4)。在组 B 中, 在前 8 小时过程中 (240mcg/kg/d), CI 倾向于增加, 然后在 480mcg/kg/d 时降低, 最后, 在 960mcg/kg/d 时显著增加。在组 C 中, 后一剂量产生显著且持续的 CI 升高, 绝对增量达 0.8 l/min/m²。在输注后前 8 小时内, 该显著的效应逐渐消失。值得注意的是, 由于在所有组中, 心率都未改变 (图 5), 因此, 该 CI 增加仅出于提高的搏出量。CI 的改变与 SVR 的相应的反向改变平行 (图 6), 在组 C 达到了统计学的显著性。考虑到 PCWP (图 7), 值在组 A 的 30 和 100mcg/kg/d 处显著下降。在组 B 中, 在前 8 个小时的过程中, PCWP 表现出下降, 然后尽管增加松弛素剂量, 仍返回到基线水平。再一次的, 在组 C 给予 960mcg/kg/d 的松弛素超过 24 小时, 诱导了清楚且显著的效应, PCWP 绝对降低了约 4mm Hg。一般而言, 没有观察到 SBP 的显著改变 (图 8)。在组 A 中, 已表现出在基线处较高的 SBP 的倾向 (128 ± 9mm Hg, cp. 表 2), 而在组 B 和 C 中 SBP 明显倾向于降低, 没有相关的改变。NT-pro BNP 的时间过程 (图 9) 与不同组中观察到的血液动力学应答对应良好: 在组 A 和 C 中观察到显著地降低, 而在组 B 中没有改变, 而在该组中第 9 天有出现甚至更高的值的倾向。最后, 在所有的组中, 肌酸酐的值在松弛素输注过程中都降低 (图 10), 在组 A 和 C 中所述效应更显著。随着组 B 和 C 中增加的剂量, 第 9 天确定的值似乎表明了一定的反跳效应, 尽管没有患者出现肾脏的不良事件或者需要医学干预。BUN 值的时间过程与针对肌酸酐所确定的平行。在整个研究过程中, 松弛素没有触发任何关于生命体征、ECG、血清化学和血液学参数的异常。

[0129] 发现。该前沿研究是第一次探讨松弛素在慢性充血性 HF 患者中的用途。前沿研

研究的主要目标是探讨松弛素制剂的安全性和耐受性,以及在稳定的慢性 HF 患者中它的剂量应答。研究证实了以下内容。1) 在宽的剂量范围内 (10-960mcg/kg/ 天), 松弛素表现出没有相关的不良效应, 且是良好耐受的。2) 松弛素产生了有益的血液动力学效应 (例如, 血管阻力的减小, 由于升高的搏出量导致心指数的增加, 和楔压的降低, 而不引起低血压)。3) 松弛素施用与肌酸酐和 BUN 的早期降低相关。4) 在接受最高松弛素剂量 (960mcg/kg/ 天) 的患者中, 观察到治疗后肌酸酐水平的潜在的剂量限定性增加。这提示, 在缺少医生监管的条件下, 240-480mcg/kg/ 天的剂量可能是在该群体中 IV 松弛素的最大耐受剂量 (MTD)。一般而言, 组 A 和 C 对松弛素输注表现出可比较的应答, 而组 B 没有。这可能是由于基线差异: 根据其显著较低的 SVR 和倾向于较低 SBP 和 NT-proBNP 值的倾向所表现的, 组 B 的患者已经是最大程度的血管舒张的 (表 2)。在这些患者中, 松弛素造成的进一步的潜在血管舒张 (“过度血管舒张”) 可能促使了相关的反向调节应答, 阻止了对药物的全面的潜在血液动力学效应的评估, 特别是在中间剂量时 (480mcg/kg/ 天)。

[0130] 该研究中的患者是稳定的, 但表现出晚期心力衰竭的体征。他们最可能落入 ADHERE 登记处的四分值内, 具有低于 120mmHg 的 SBP 值和相应的最坏的结果。根据下述事实判断, 所述事实是已知或怀疑允许住院的低血压以及治疗相关的低血压会恶化 AHF 预后, 故评估 SBP 对松弛素疗法的应答是关键的。在该研究中, 尽管体血管阻力显著降低, 但是并没有观察到症状性的低血压。在组 A 中似乎存在 SBP 降低的趋势, 但这可以归因于 4 名患者之一经历了持续但无症状的 SBP 降低 (从约 120/65mm Hg 至约 100/50mm Hg)。组 B (较不严重的组) 和 C 中没有显著地 SBP 改变, 尽管记录到了上升的松弛素剂量。然而, 重要是注意到缺少明显的低血压。此外, 在该研究中记录的患者中的血压较高的患者中, 松弛素的低血压效应可能更显著。这些发现得到了他人的证实 (参见 Debrah 等人, (2005) Hypertension 46:745-50), 即, 在高血压和正常血压的大鼠中, rhR1x 都引发了 CI 的升高, 和 SVR 的降低, 而不影响平均动脉压。如果 rhR1x 是非特异性的血管舒张剂, 可以期待由于增加的搏出量而部分抵消的 SBP 的下降。

[0131] 没有治疗组表现出右心房压的显著降低 (图 11), 尽管在组 C 中 PVR 显著且明显的下降 (~30%), 组 A 和 C 中可见 PCWP 的明显下降 (图 7)。这表示松弛素可以促进静脉回复到维持中央静脉充盈压。一些研究人员 (Edouard 等人, 1998) Am J. Physiol. 274:H1605-H1612) 报道, 在妊娠的前三个月开始下肢静脉张力升高。松弛素首先作为妊娠激素发现, 是肾脏适应妊娠的关键介质 (参见 Novak 等人, (2001) J. Clin. Invest. 107:1469-75)。此外, 本文观察到的血液动力学模式, 增加的 CI 和降低的 SVR 但没有相关的 SBP 下降, 类似在妊娠中可见的 (参见 Slangen 等人, (1996) Am J. Physiol. 270:H1779-H1784)。

[0132] 松弛素输注导致在大多数患者中反映肾功能的参数 (肌酸酐、BUN) 的改善, 是组 A 和 C 中变得显著的效应。因为松弛素已表现出增加动物的肾小球滤过率 (GFR) 和肾血流 (参见 Novak, 见上文; 和 Jeyabalan 等人, (2003) Circ. Res. 93:1249-57), 在此相似的机制可能是有活性的。即使如此, 对机制的理解对于产生和使用本发明的实施方案并不是必需的。虽然没有在人类中测量松弛素诱导的 GFR 增加, 小规模开放标签研究表明松弛素增加健康的志愿者的肾血流 (Smith 等人, (2006) J. Am. Soc. Nephrol. 17:3192-7)。在硬皮病患者的临床试验中 (Seibold 等人, (2000) Ann. Intern. Med. 132:871-9), 松弛素导致预测

的肌酸酐清除率的持续改善。关于输注后时期,在施用剂量相当于 960mcg/kg/ 天的 IV 松弛素后,记录到肌酸酐和 BUN 在第 9 天升高,在第 30 天自发解决了。没有肌酸酐的增加超过 ϵ 0.5mg/dl,这是最普遍使用的恶化肾功能的定义,且没有任何临床的肾脏不良事件。实际上,960mcg/kg/ 天的剂量与 CI 的显著增加相关。可能是该高剂量刺激了反向调节系统,导致与较低的肾灌注相关的反跳血液动力学应答,以及之后 BUN 和肌酸酐的增加。事实上,在 960mcg/kg/ 天剂量后进行 32- 和 48- 小时的血液动力学测量,楔压和右心房压都倾向于高于基线,这是在其它剂量下不可见的效应。这些发现提示,剂量为 960mcg/kg/ 天的 IV 松弛素可以对血液动力学和肾功能具有一些剂量限制性不良效应。因此,通过本研究可以确定在没有医师监管的条件下,最大耐受剂量 (MTD) 是在 240-480mcg/kg/ 天的范围内。有趣的是,在 10-100mcg/kg/ 天的范围内的松弛素剂量表现出比更高的剂量对 PCWP、SBP 和 NT-pro-BNP 更明显的影响,而在 240-960mcg/kg/ 天的范围内的较高剂量趋向于对 CO 和 CI 具有更大的影响。较低范围内的剂量主要可以产生静脉血管舒张 (较低的 PCWP, 没有 CO/CI 的相关改变), 而较高剂量可以产生更多的动脉血管舒张 (较高的 CO/CI)。

[0133] 表 3. 心脏和血液动力学参数的基线和偏离基线的改变

[0134]

	组 A			组 B			组 C	
输注速率 (mcg / kg / d)	10	30	100	240	480	960	960	960
输注持续期 (hr)	8	8	8	8	8	8	8	24
HR 基线 (beats/min)	71.5 ± 11.2			67.5 ± 6.1			66.2 ± 11.5	
偏离基线的改变	3.3 ± 7.6	2.3 ± 16.2	0.5 ± 1.3	1.7 ± 6.7	-1.8 ± 4.5	1.8 ± 3.4	2.5 ± 4.3	0.67 ± 3.6
SBP 基线 (mm Hg)	128.5 ± 18.0			109.2 ± 11.6			118.3 ± 20.0	
偏离基线的改变	-12.5 ± 9.3	-5.3 ± 16.8	-13.0 ± 8.3	-2.5 ± 7.4	2.2 ± 5.6	-3.0 ± 5.1	-1.3 ± 4.7	-7.3 ± 9.5
DBP 基线 (mm Hg)	59.5 ± 5.2			55.3 ± 6.1			55.3 ± 9.7	
偏离基线的改变	-3.0 ± 4.2	2.5 ± 10.9	-5.0 ± 3.7	3.0 ± 6.0	0.0 ± 7.2	-0.3 ± 6.8	-4.8 ± 5.4	-6.5 ± 7.5
CI 基线 (L / min / m ²)	2.1 ± 0.4			2.3 ± 0.2			2.1 ± 0.2	
偏离基线的改变	0.08 ± 0.3	0.25 ± 0.4	0.25 ± 0.2	0.28 ± 0.2	0.17 ± 0.3	0.25 ± 0.3	0.43 ± 0.3	0.67 ± 0.15*
CO 基线 (L / min)	4.0 ± 0.7			4.8 ± 0.5			4.1 ± 0.6	
偏离基线的改变	0.13 ± 0.5	0.45 ± 0.6	0.45 ± 0.2	0.62 ± 0.4	0.33 ± 0.7	0.48 ± 0.7	0.85 ± 0.5	1.25 ± 0.03*
SVR 基线 (dynes*sec/cm ⁵)	1518 ± 268			1011 ± 127#			1254 ± 239	
偏离基线的改变	-143 ± 140	-171 ± 159	-288 ± 92	-150 ± 138	-12 ± 219	-102 ± 248	-255 ± 188	-395 ± 217*
RAP 基线 (mm Hg)	12.8 ± 10.0			11.7 ± 5.0			10.3 ± 6.1	
偏离基线的改变	0.8 ± 0.9	-1.0 ± 1.8	-0.8 ± 1.2	0.3 ± 1.4	0.5 ± 1.1	0.8 ± 1.2	-1.2 ± 2.9	-1.5 ± 2.7
PAP 基线 (mm Hg)	29.8 ± 2.8			27.5 ± 5.4			32.7 ± 8.9	
偏离基线的改变	-3.75 ± 4.1	-4.0 ± 5.5	-4.5 ± 4.2	-1.7 ± 1.6	1.7 ± 2.7	0.3 ± 3.7	-3.2 ± 3.1	-5.0 ± 3.4
PCWP 基线 (mm Hg)	19.8 ± 1.7			19.3 ± 4.8			19.8 ± 4.2	
偏离基线的改变	-1.8 ± 1.9	-5.0 ± 2.6*	-3.5 ± 3.7	-1.5 ± 1.9	0.33 ± 2.6	-0.17 ± 2.7	-2.5 ± 3.5	-3.5 ± 3.0
PVR 基线 (dynes*sec/cm ⁵)	193.5 ± 67.2			127.7 ± 29.0			267.2 ± 168.1§	
偏离基线的改变	-17.3 ± 60.5	-0.5 ± 56.7	-25.3 ± 28.9	-14.8 ± 16.9	5.5 ± 35.2	3.3 ± 27.5	-58.5 ± 69.4	-82.5 ± 55.5*

[0135] CI : 心指数 ; CO : 心排血量 ; PCWP : 肺毛细血管楔压 ; SVR/PVR : 体 / 肺血管阻力 ; SBP : 收缩压 ; DBP : 舒张压 ; PAP : 平均肺动脉压 ; RAP : 右心房压 ; HR : 心率。

[0136] 值是平均值 ± SD。

[0137] * 与基线相比 P < .05。

[0138] # 组 A vs. B. § 组 B vs. C。

[0139] 结论。前沿研究的目标是确定当向慢性心力衰竭患者施用 1 时, 松弛素的安全性和耐受性, 以及患确定的慢性 HF 的患者对静脉内松弛素的药效剂量应答。该研究是松弛素在人类心力衰竭中的第一次治疗应用。从慢性 HF 临床试验得到多个结论。在整个剂量范围, 松弛素都没有表现出相关的不良效应。松弛素产生与 NT-pro BNP 改变相平行的有益的血

液动力学效应,即,归因于升高的搏出量的心指数的增加,和肺楔压与体血管阻力的降低,而没有诱导低血压。松弛素快速地改善肾功能的标志物(肌酸酐、BUN)。在最高剂量处,在输注后的过程中,它引起肾脏标志物的少量且自发的回复性增加。因此,在本研究中,在没有医师监管的条件下,松弛素的最大耐受剂量是 240-480mcg/kg/天。

[0140] 总而言之,向患慢性稳定性心力衰竭的患者施用 IV 松弛素导致血管舒张,然后导致楔压的降低和搏出量的增加。由于群组的大小、招募的患者的特征和 / 或松弛素的其它性质,没有观察到血压的显著降低。除了血液动力学效应外,IV 松弛素诱导了肌酸酐和 BUN 的早期降低,当向患 AHF 的患者施用时,这可以是积极的属性。基于在 IV 松弛素最高剂量(960mcg/kg/天)时停用研究药物后,楔压和右心房压,以及肌酸酐和 BUN 的后期增加,在本研究中鉴别了松弛素的 MTD。因此,在该静脉内松弛素在人类 HF 患者的第一治疗用途过程中,松弛素的安全性和功效模式表示它在治疗慢性和稳定性代偿性 HF 中是有效的。

[0141] 实施例 2

[0142] 向系统性硬化病患者施用松弛素

[0143] 综述。还已在系统性硬化病患者中进行用松弛素的临床试验。通过连续的皮下(SQ)输注 6 个月,用松弛素治疗患系统性硬化病(一种严重的纤维变性病)的 257 名人类对象。结果包括广泛和长期的安全性信息,已显示这些患者没有经历作为松弛素结果的任何严重的低血压事件(图 12),验证了之后的 CHF 发现。系统性硬化病的实验显示松弛素施用与血压的稳定降低、没有严重的低血压发作,和预测的肌酸酐清除率的统计学显著的增加相关(参见图 13)。这些发现支持这样的假说,即松弛素施用与平衡的全身和肾血管舒张相关。

[0144] 此外,在 19 次完整的实验中,用松弛素治疗了 570 名人类对象。这些对象包括患纤维肌痛的患者、进行卵子捐赠的女性、到期的怀孕女性、健康的女性和男性志愿者、进行牙科正畸治疗的健康成年人和系统性硬化病的患者。

[0145] 发现和结论。松弛素可以向患多种潜在病况的对象安全的施用。在多种这类实验中,数据提示松弛素导致平衡的全身和肾脏血管舒张。

[0146] 在不脱离发明的范围和精神条件下,本发明的多种修饰和改变对本领域技术人员都是显而易见的。虽然发明的描述与特定的优选实施方案有关,但应该理解权利要求不应不适当的限于此类特定的实施方案。实际上,本领域技术人员理解的、用于进行本发明的所述模式的多种修饰都意在属于权利要求的范围之内。

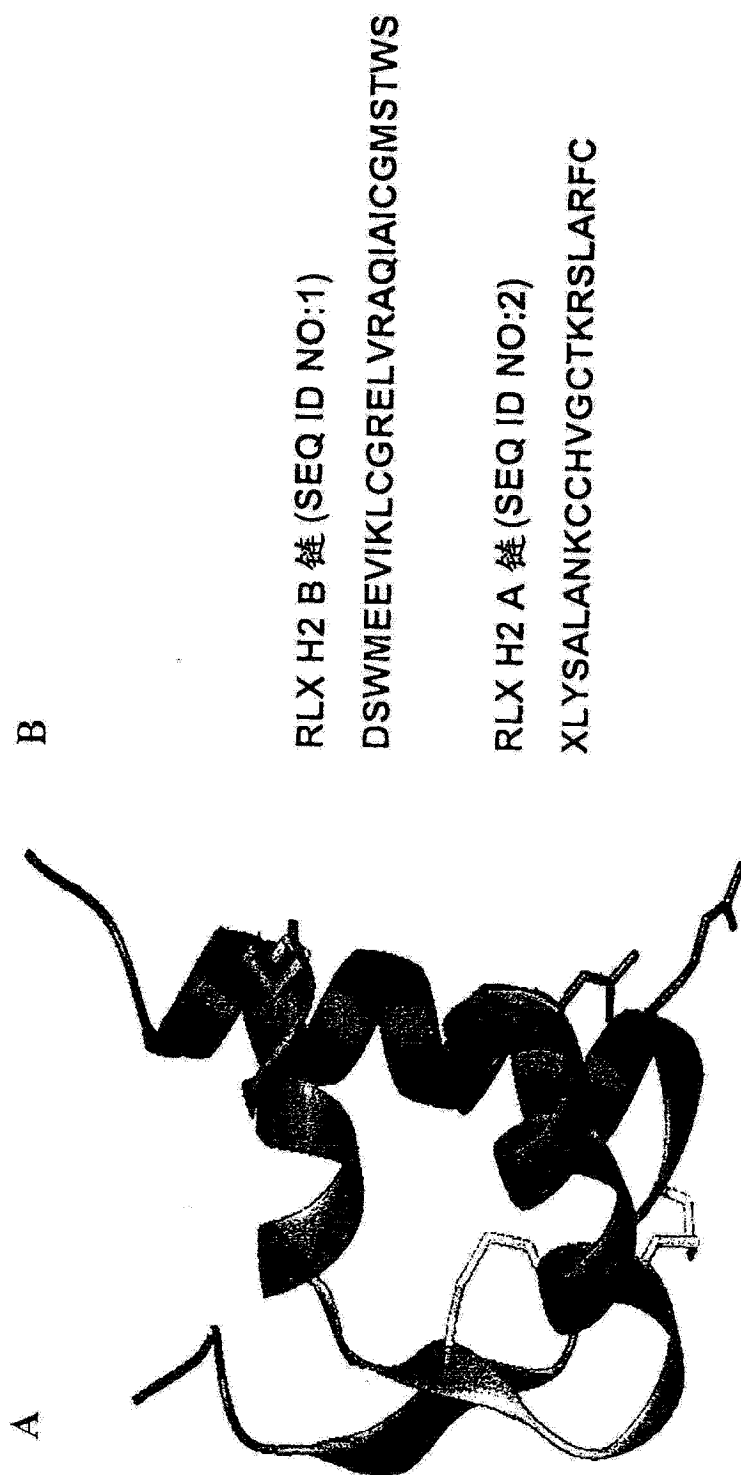


图 1

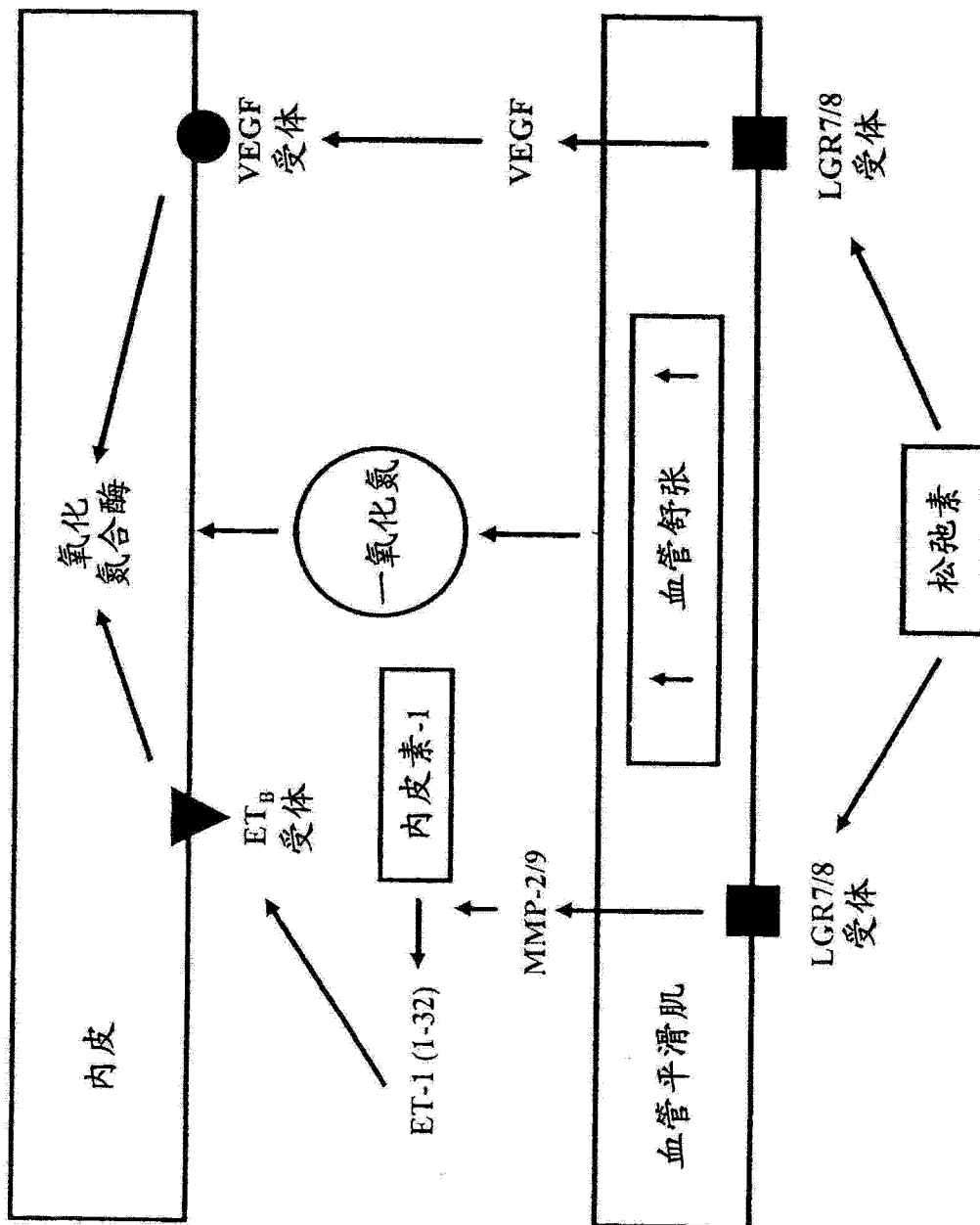


图 2

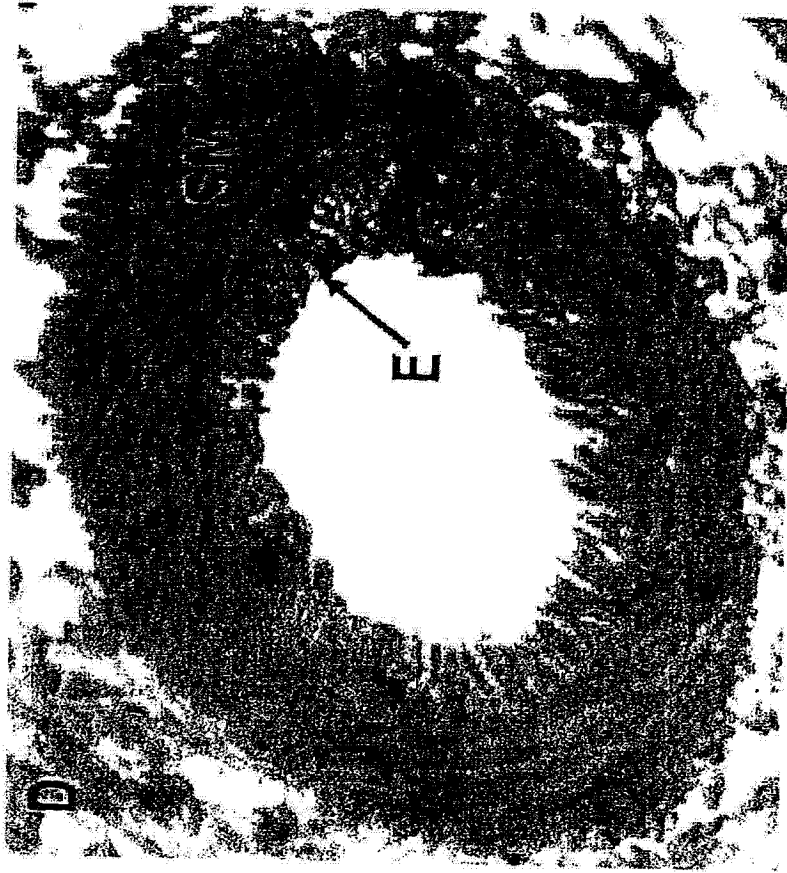


图 3

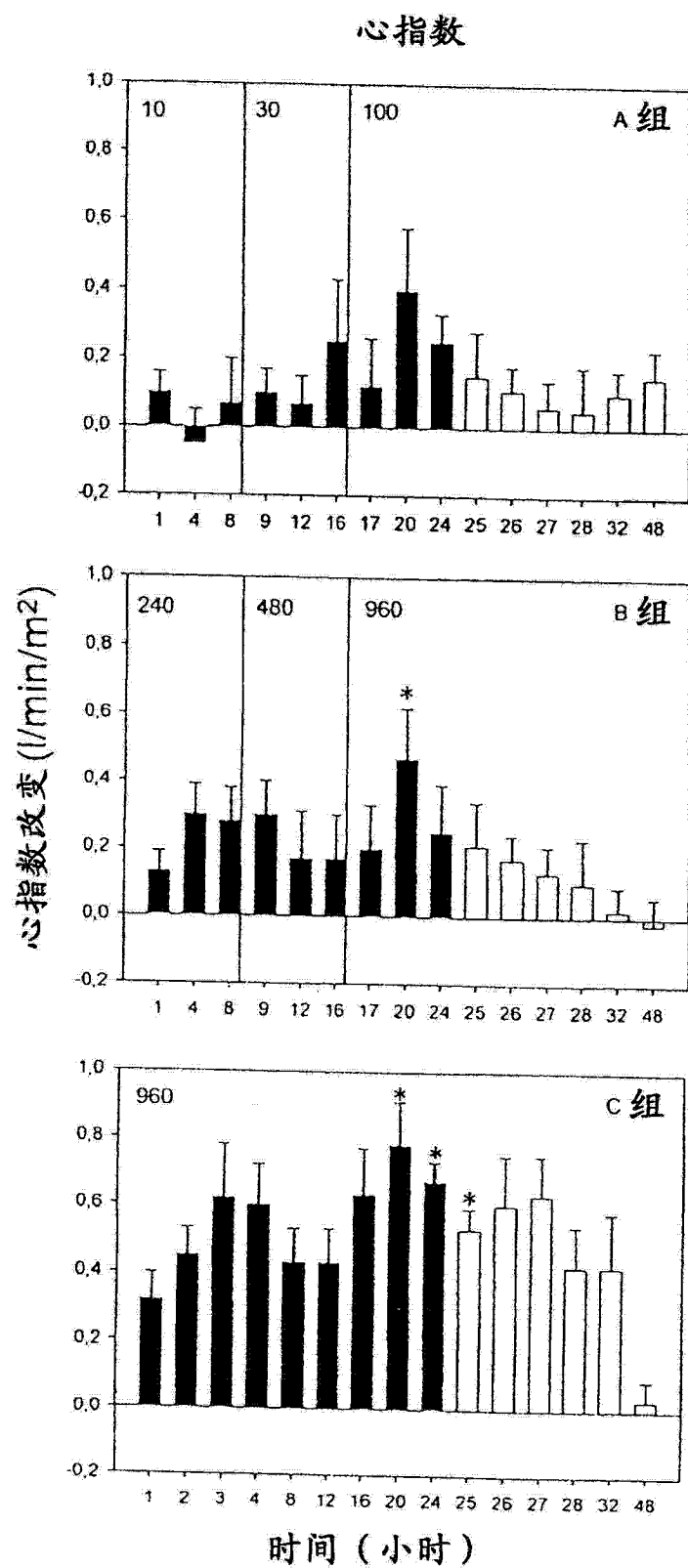


图 4

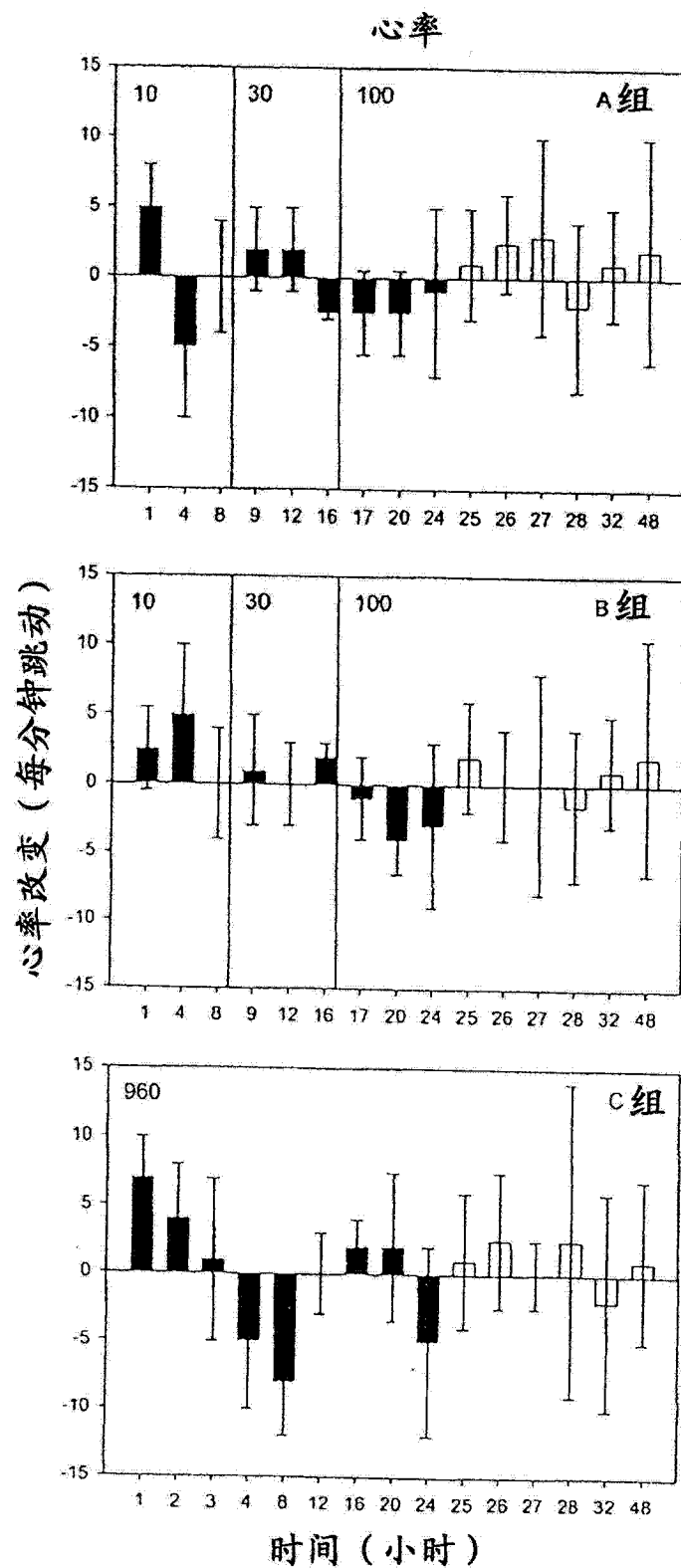


图 5

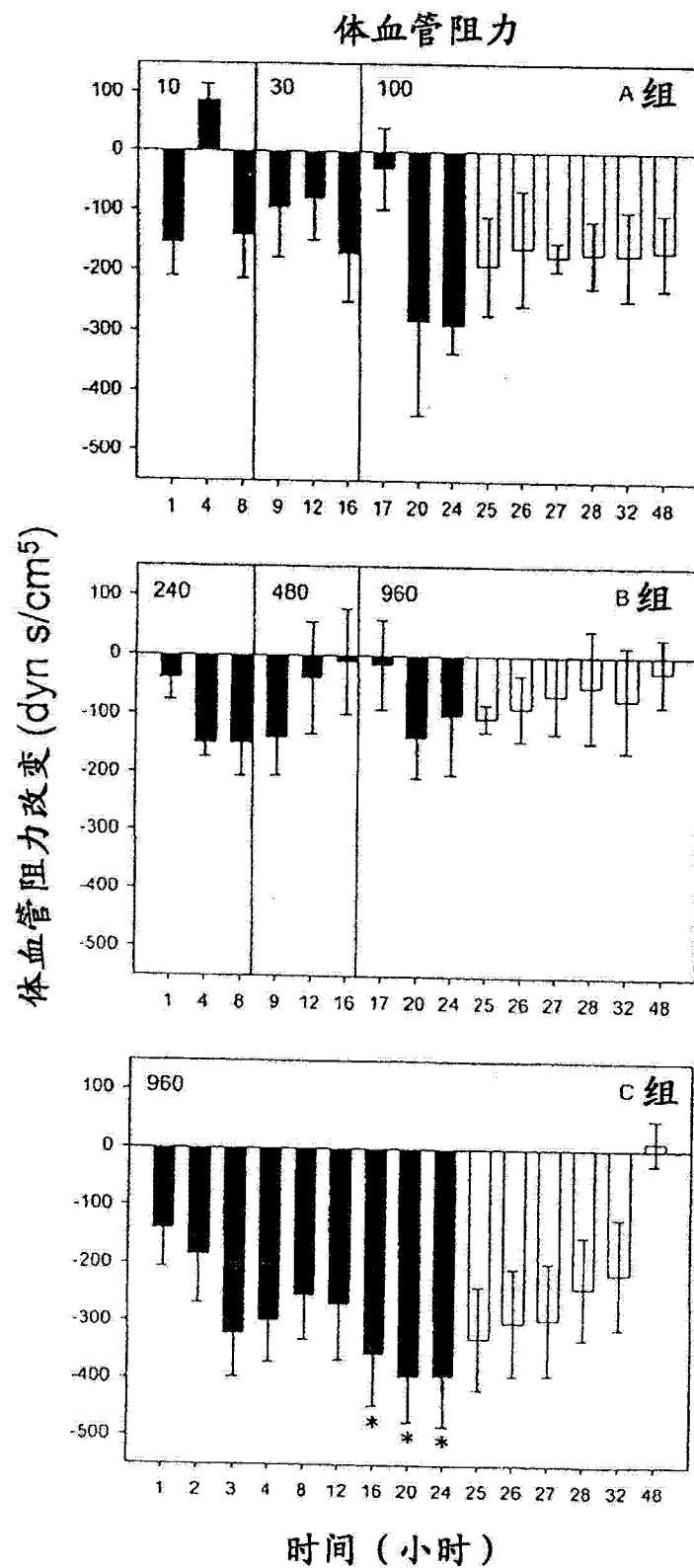


图 6

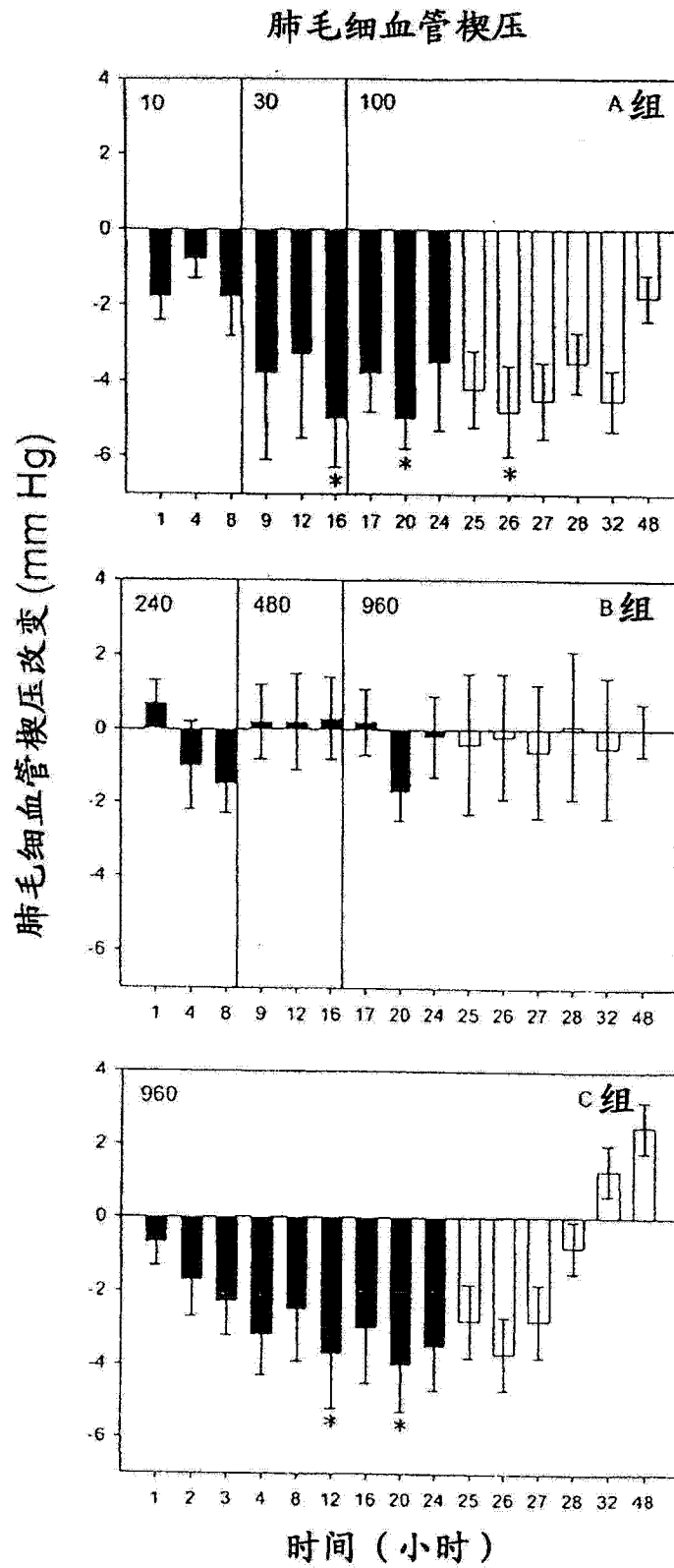


图 7

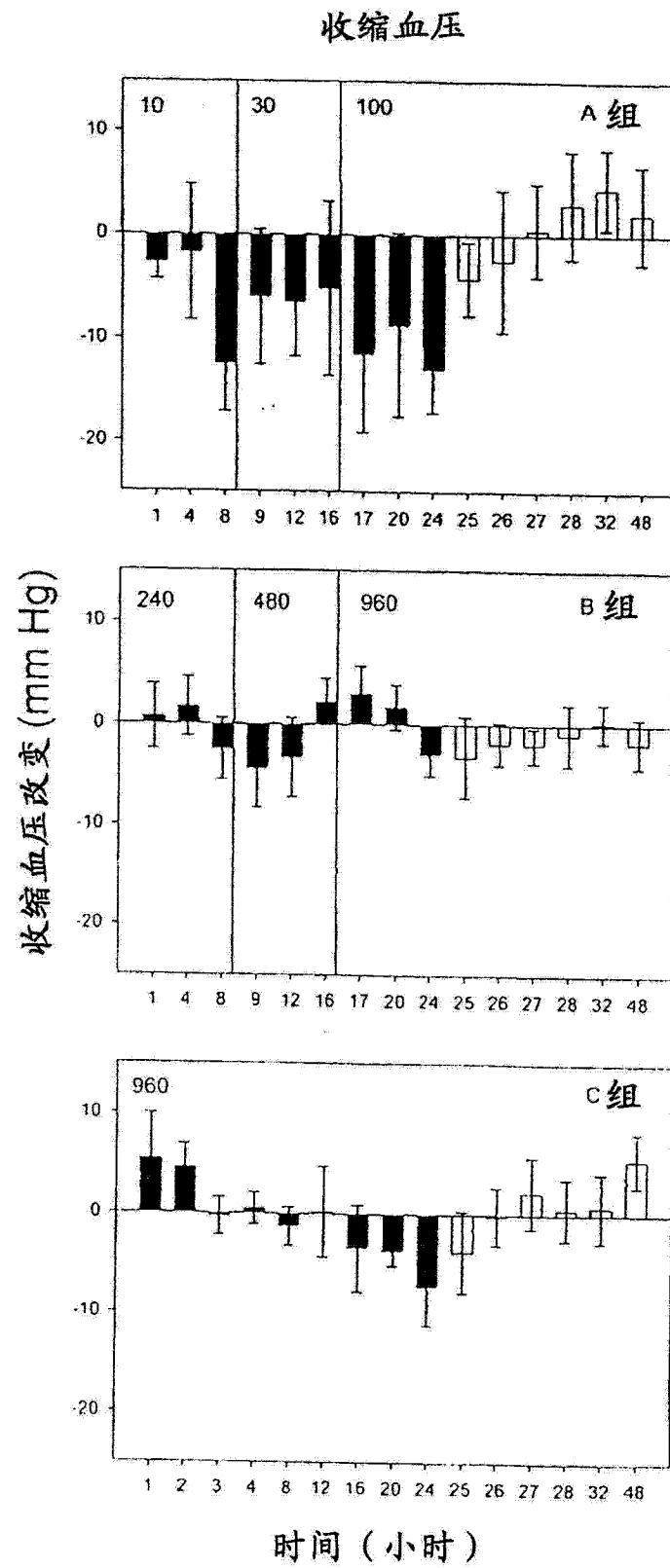


图 8

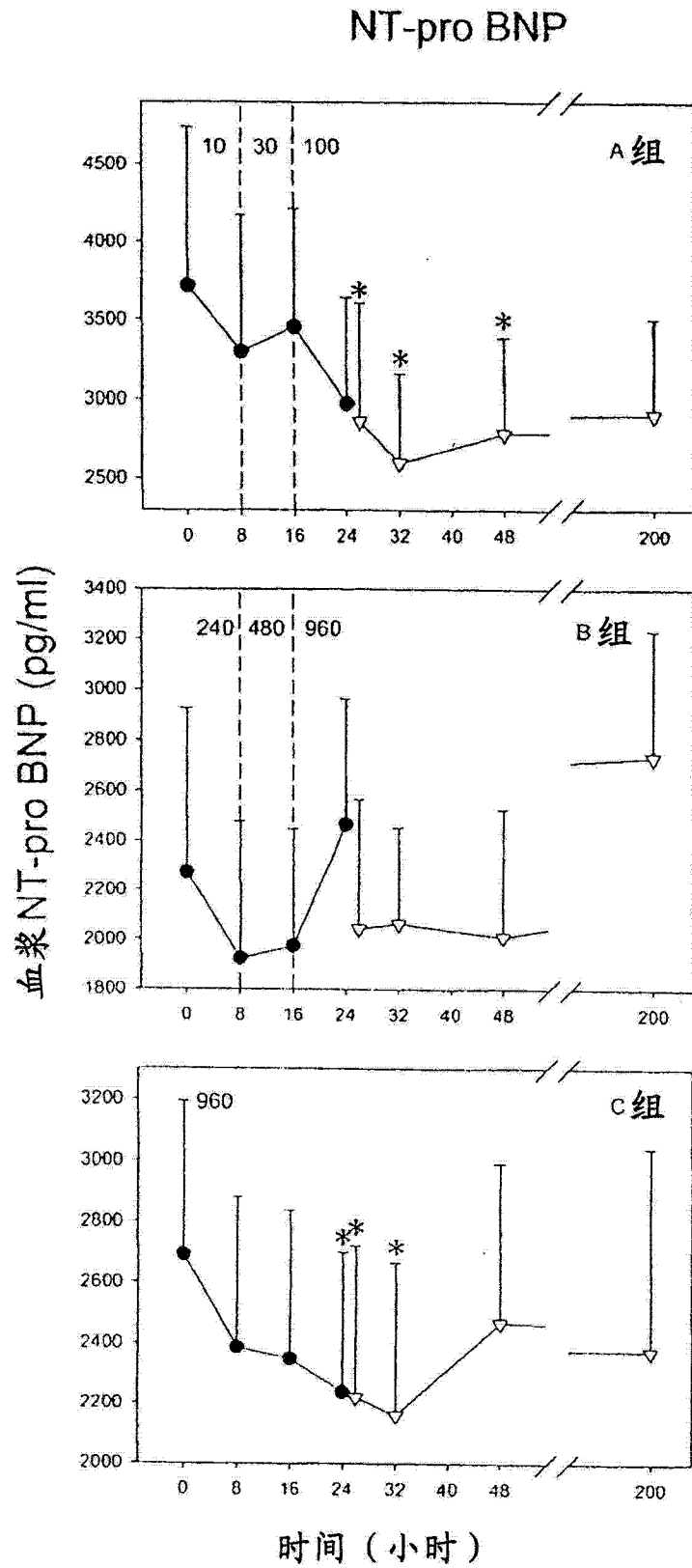


图 9

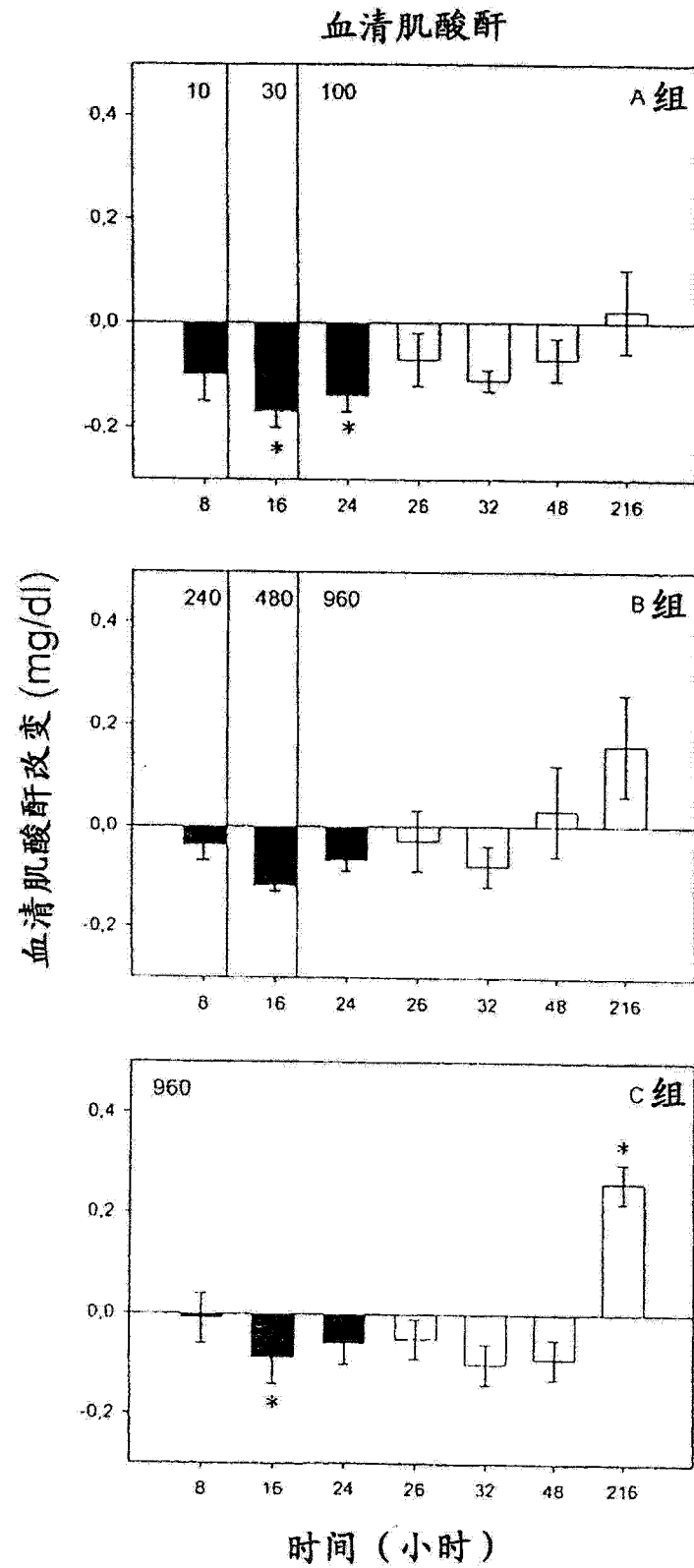


图 10

右心房压和肺血管阻力

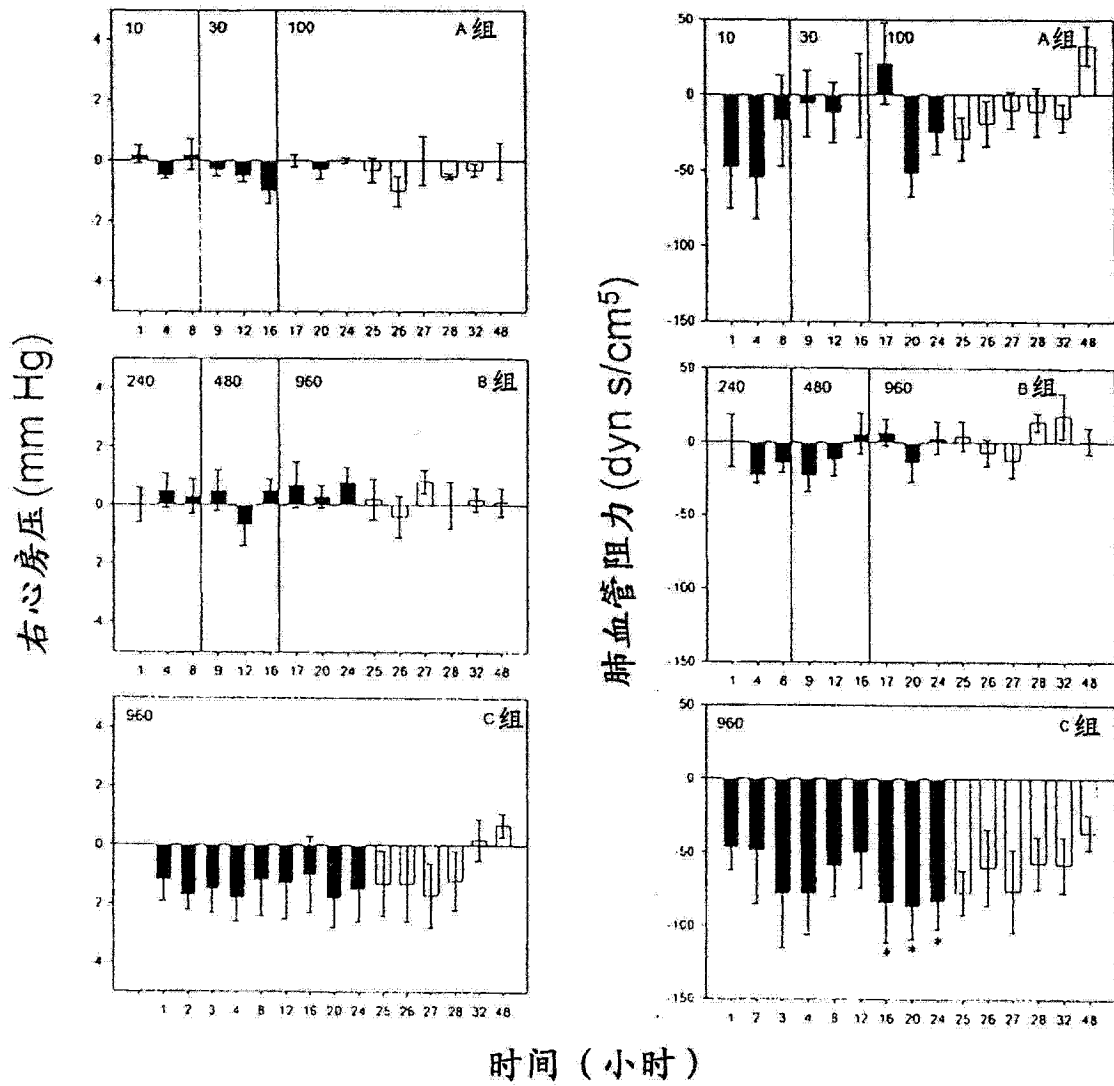


图 11

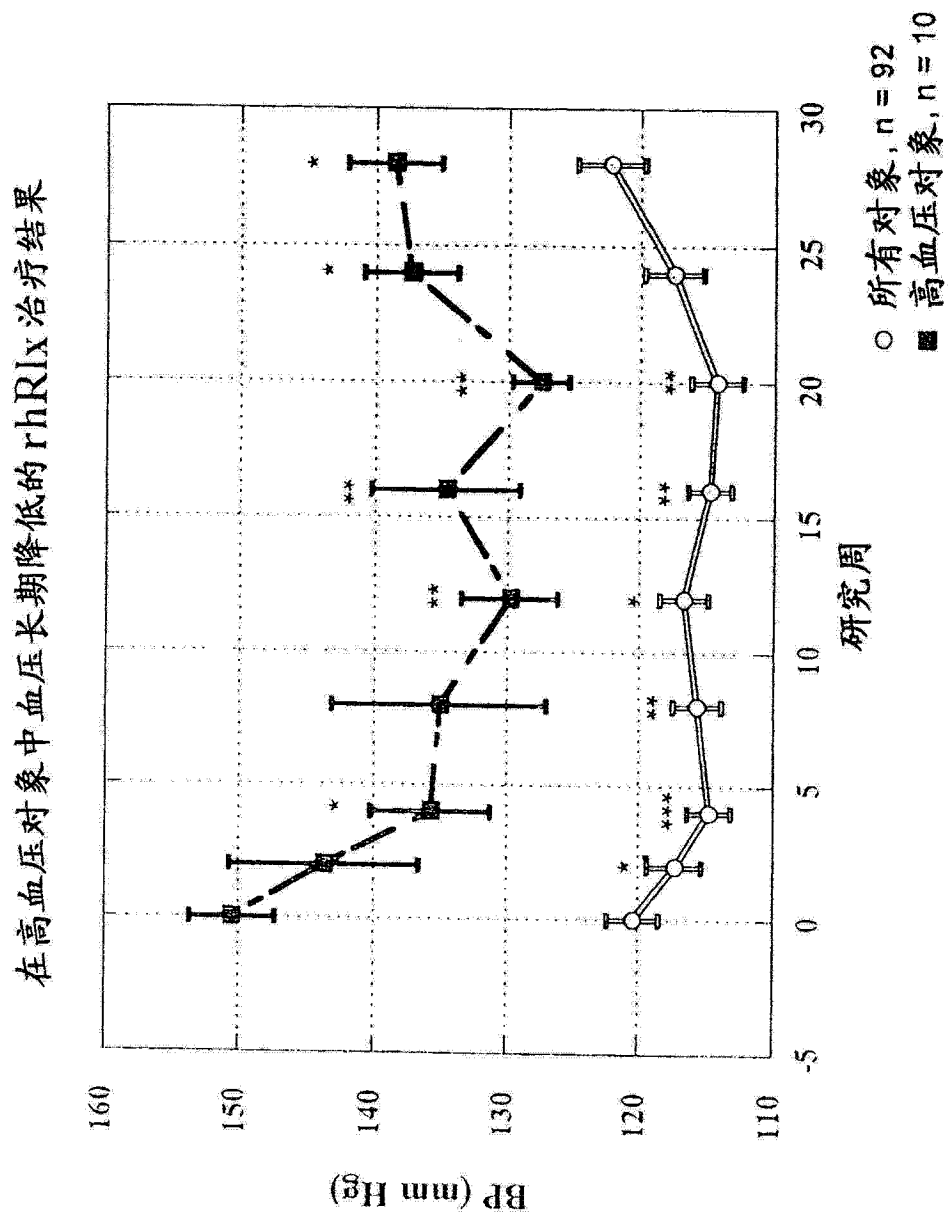


图 12

改善的肾功能的rhRLx治疗结果

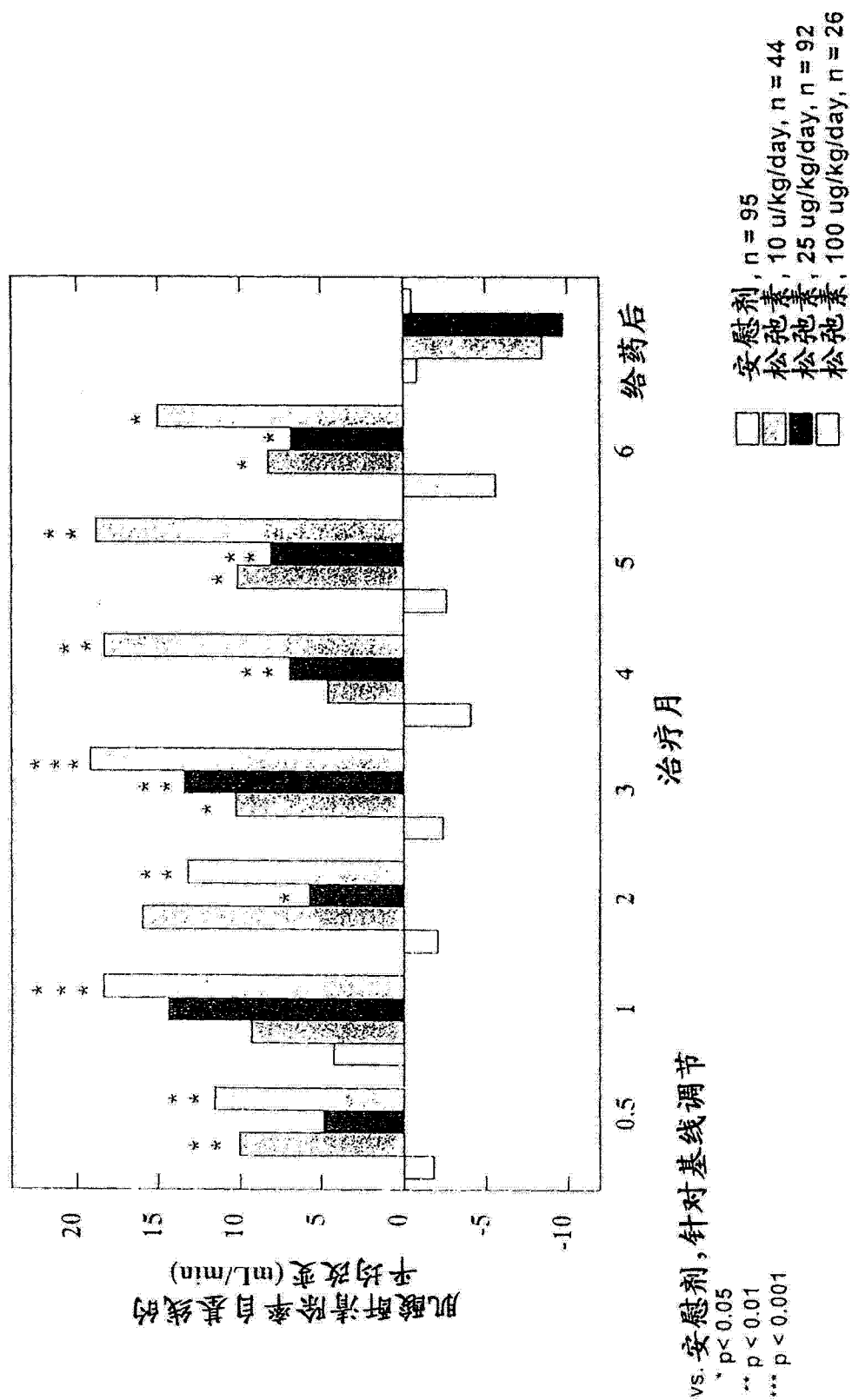


图 13