



(10) 申请公布号 CN 118159290 A

(43) 申请公布日 2024.06.07

(21) 申请号 202280068577.9

(22) 申请日 2022.10.11

(30) 优先权数据

63/254,447 2021.10.11 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.04.10

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/077908 2022.10.11

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/064769 EN 2023.04.20

(71) 申请人 瑞泽恩制药公司

地址 美国

(72) 发明人 M·邓恩 A·基思卡特

B·A·奥伦乔克

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 史文静 黄革生

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

权利要求书2页 说明书34页

序列表(电子公布) 附图15页

(54) 发明名称

通过施用抗NPR1抗体来影响血液动力学变化的方法

(57) 摘要

本公开涉及在受试者中降低血压或影响血液动力学变化的方法,所述方法包括向受试者施用包含钠尿肽受体1(NPR1)的激动剂(例如,激动剂抗NPR1抗体)的药物组合物。

1. 一种治疗受试者中与血液动力学改变相关的疾病的方法,其包括:(i) 选择收缩压(SBP)在100mm Hg和140mm Hg之间或135mm Hg和160mm Hg之间的受试者;和(ii) 向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述疾病选自心力衰竭、高血压和慢性肾病。
3. 一种降低受试者的血压的方法,所述方法包括:(i) 选择收缩压(SBP)在100mm Hg和140mm Hg之间或135mm Hg和160mm Hg之间的受试者;和(ii) 向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。
4. 根据权利要求3所述的方法,其中所述血压选自收缩压、舒张压、平均动脉压和脉压。
5. 一种影响受试者的血液动力学变化的方法,所述方法包括:(i) 选择收缩压(SBP)在100mm Hg和140mm Hg之间或135mm Hg和160mm Hg之间的受试者;和(ii) 向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。
6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述血液动力学变化是静脉压、左心室舒张末期压(LVEDP)和/或动脉脉压(PP)的降低。
7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述静脉压的降低是中心静脉压(CVP)的降低。
8. 根据权利要求5至7中任一项所述的方法,其中所述施用不影响尿排出量和全身器官灌注。
9. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者的心率(HR)增加。
10. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含:在包含SEQ ID NO:1的氨基酸的重链可变区(HCVR)内所含有的三个重链互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3);以及在包含SEQ ID NO:2的氨基酸的轻链可变区(LCVR)内所含有的三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。
11. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含三个重链互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中HCDR1具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列,HCDR2具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列,HCDR3具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列,LCDR1具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列,LCDR2具有VAS的氨基酸序列,且LCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列。
12. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸的重链可变区(HCVR)和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。
13. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。
14. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。
15. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列且所述轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。
16. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段以低剂量进行施用。
17. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段以约0.031mg/kg至约25mg/kg受试者体重的剂量进行施用。

18. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段以约1mg至约200mg的剂量进行施用。

19. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段在静脉内、皮下、皮内、腹腔内或肌内施用于所述受试者。

20. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段以单剂量施用于所述受试者。

21. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用另外的治疗剂。

22. 根据权利要求21所述的方法,其中所述第二治疗剂与所述抗体或其抗原结合片段同时或分开施用。

23. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者患有高血压。

24. 根据权利要求23所述的方法,其中所述受试者患有中度高血压。

25. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

26. 一种用于治疗受试者中与血液动力学改变相关的疾病的药物组合物,其包含治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体或稀释剂。

27. 一种用于降低受试者血压的药物组合物,其包含治疗有效量的特异性结合NPR1的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体或稀释剂。

28. 一种用于影响受试者的血液动力学变化的药物组合物,其包含治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体或稀释剂。

## 通过施用抗NPR1抗体来影响血液动力学变化的方法

### 技术领域

[0001] 本公开涉及在受试者中治疗与血液动力学改变相关的疾病的方法、降低血压的方法和影响血液动力学变化的方法,包括向受试者施用药物组合物,所述药物组合物包含治疗有效量的特异性结合NPR1的抗体或其抗原结合片段。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请是在2022年10月11日提交的PCT国际专利申请,其要求在2021年10月11日提交的美国临时专利申请第63/254,447号的优先权和权益,其全部内容通过引用并入本文。

[0004] 对序列表XML的引用

[0005] 本申请包含XML格式的序列表。XML文件通过引用并入本文。所述XML列表在2022年10月7日创建,被命名为40848\_0111WOU1\_SL.xml,大小为9933字节。

### 背景技术

[0006] 钠尿肽受体1 (NPR1) 是膜结合的鸟苷酸环化酶,其介导鸟苷三磷酸向环鸟苷酸(cGMP)的细胞内转化(Martinez-Rumayor等人,2008 Am J Cardiol 101(3a):3-8)。NPR1在肾脏、脉管系统、肾上腺和脑中广泛表达(Yancy等人,2017Circulation 136(6):e137-e161)。NPR1激动作用通过cGMP介导的对血管内容积、血管舒张、尿钠排泄(natriuresis)和利尿的作用导致全身血压(BP)的改变。

[0007] NPR1被心脏激素心房钠尿肽(ANP)和脑钠尿肽(BNP)激活,它们被合成为前肽(proANP和proBNP)并被心脏储存在位于心房和/或心室心肌中的分泌颗粒内(Martinez Rumayor 2008)。在因压力增加或神经激素刺激引起的拉伸而释放时,proANP和proBNP被酶促裂解成具有生物活性的ANP和BNP。这些肽从循环中的清除主要是通过被基质金属蛋白酶(包括脑啡肽酶)降解和钠尿肽清除受体NPR3来实现的(Martinez Rumayor 2008)。钠尿肽在利尿和尿钠排泄的调节以及肾素-血管紧张素-醛固酮系统的抑制中具有重要作用,其最终效果是调节局部和全身血液动力学。脑啡肽酶(一种降解钠尿肽的金属蛋白酶)的抑制降低了钠尿肽的清除率,并且已经在心力衰竭患者中进行了研究。脑啡肽酶抑制导致内源性ANP和BNP增加,进而刺激NPR1活性。

[0008] 针对NPR1的单克隆抗体首先由Kitano等人描述于1995(Immunol.Lett.47:215-22)。激活或激动抗NPR1抗体公开于例如美国专利/公开号9090695和20160168251以及W02010065293中。以高亲和力特异性结合NPR1蛋白并激活它的全人抗体在例如高血压、肥胖症和心力衰竭的预防和治疗中可能是重要的。

### 发明内容

[0009] REGN5381是基于人免疫球蛋白G4的单克隆抗体(mAb),其在存在和不存在内源性配体ANP和BNP的情况下结合并激活NPR1。通过NPR1的信号传导可以直接复制在其他钠尿途径疗法中看到的许多生理反应。REGN5381是NPR1的直接激动剂,与目前的疗法例如脑啡肽

酶抑制剂、沙库巴曲 (sacubitril) 和缬沙坦或重组BNP肽奈西立肽的组合相比,其长作用持续时间可提供持续的血液动力学控制和心脏卸载。如本文所示,REGN5381在遥测的血压正常雄性食蟹猴(非人灵长类(NHP))中诱导全身性BP的可预测的和持久的降低。因此,本文考虑REGN5381用于治疗与血液动力学改变相关的疾病,包括心力衰竭、高血压和慢性肾病。

[0010] 重要的是,相对于其他已知药物,施用REGN5381会导致血压持续下降,并且不会伴随通常与低血压相关的可能的负面影响。因此,抗体或其抗原结合片段的施用频率较低。

[0011] 在一个方面,本公开提供了治疗受试者中与血液动力学改变相关的疾病的方法,其包括:(i)选择收缩压(SBP)在100mmHg和140mmHg之间或135mmHg和160mmHg之间的受试者;和(ii)向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。在另外的实施方案中,所述疾病选自心力衰竭、高血压和慢性肾病。

[0012] 在另一个方面,本公开提供了降低受试者血压的方法,所述方法包括:(i)选择收缩压(SBP)在100mmHg和140mmHg之间或135mmHg和160mmHg之间的受试者;和(ii)向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。在另外的实施方案中,血压选自收缩压、舒张压、平均动脉压和脉压。

[0013] 在又一方面,本公开提供了影响受试者的血液动力学变化的方法,所述方法包括:(i)选择收缩压(SBP)在100mmHg和140mmHg之间或135mmHg和160mmHg之间的受试者;和(ii)向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。在另外的实施方案中,血液动力学变化是静脉压、左心室舒张末期压(LVEDP)和/或动脉脉压(PP)的降低。在其他的实施方案中,静脉压的降低是中心静脉压(CVP)的降低。

[0014] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,尿液输出和全身器官灌注不受施用的影响。

[0015] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,受试者的心率(HR)增加。

[0016] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含:在包含SEQ ID NO:1的氨基酸的重链可变区(HCVR)内所含有的三个重链互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3);以及在包含SEQ ID NO:2的氨基酸的轻链可变区(LCVR)内所含有的三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0017] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含三个重链互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中HCDR1具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列,HCDR2具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列,HCDR3具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列,LCDR1具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列,LCDR2具有VAS的氨基酸序列,且LCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0018] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸的重链可变区(HCVR)和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。

[0019] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,抗体包含重链和轻链,其中重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

[0020] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,抗体包含重链和轻链,其中轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

[0021] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,抗体包含重链和轻链,其中重链包含SEQ

ID NO:9的氨基酸序列且轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

[0022] 在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以低剂量进行施用。

[0023] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以约0.031mg/kg至约25mg/kg受试者体重的剂量进行施用。

[0024] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以约1mg至约200mg的剂量进行施用。

[0025] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,将抗体或其抗原结合片段在静脉内、皮下、皮内、腹腔内或肌内施用于受试者。

[0026] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段以单剂量来施用于受试者。

[0027] 在某些实施方案中,根据本公开的方法还包括向受试者施用另外的/第二治疗剂。在某些实施方案中,另外的治疗剂可以选自醛固酮拮抗剂、 $\alpha$ -肾上腺素能阻滞剂、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、小动脉血管扩张剂、自主神经节血管扩张剂、 $\beta$ -肾上腺素能阻滞剂、消耗儿茶酚胺的交感神经阻滞剂、中枢 $\alpha$ -2肾上腺素能激动剂、钙通道阻滞剂、利尿剂、肾素抑制剂、抗凝剂、抗血小板剂、胆固醇降低剂、血管扩张剂、洋地黄、外科手术、可植入装置、抗肿瘤疗法、胰岛素、GLP1激动剂、二甲双胍、透析、骨髓刺激剂、血液滤过、生活方式改变、膳食补充剂以及本领域已知的任何其他药物或疗法。在某些实施方案中,如果发生与特异性结合NPR1的抗体或其抗原结合片段相关的任何可能的副作用,则另外的治疗剂可以是帮助抵消或减少这种副作用的试剂。在某些实施方案中,另外的治疗剂与组合物同时或分开施用。在某些实施方案中,第二治疗剂与抗体或其抗原结合片段同时或分开施用。

[0028] 在根据本公开的方法的某些实施方案中,受试者患有高血压。在一个实施方案中,受试者患有轻度高血压。在一个实施方案中,受试者是人。

[0029] 在一个方面,本公开提供了用于治疗受试者中与血液动力学改变相关的疾病的药物组合物,其包含治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体或稀释剂。

[0030] 在另一个方面,本公开提供了用于降低受试者血压的药物组合物,其包含治疗有效量的特异性结合NPR1的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体或稀释剂。

[0031] 在另一方面,本公开提供了用于影响受试者的血液动力学变化的药物组合物,其包含治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体或稀释剂。

[0032] 在其他方面,本公开提供了本公开的抗NPR1抗体或其抗原结合片段在制备药物中的用途,所述药物用于治疗受试者中与血液动力学改变相关的疾病、用于降低受试者的血压和/或用于影响受试者的血液动力学变化。

[0033] 通过阅读随后的详细描述,其他实施方案将变得显而易见。

## 附图说明

[0034] 图1A-1E显示了REGN5381对血压正常的NPR1hu/hu小鼠的血压和心率的影响,其中(图1A)对收缩压的影响,(图1B)对舒张压的影响,(图1C)对脉压的影响,(图1D)对心率的影响,以及(图1E)对平均动脉压的影响。将遥测的血压正常NPR1hu/hu小鼠随机分成5组,每组

体重相等,并按表3所列剂量单次皮下注射REGN5381。磷酸盐缓冲盐水(PBS)用作对照。所有数值均为平均值 $\pm$ SEM,n=3-6/组。

[0035] 图2显示了第7天REGN5381血清浓度。将遥测的血压正常NPR1hu/hu小鼠随机分成5组,每组体重相等,并按表1所列剂量单次皮下注射REGN5381。磷酸盐缓冲盐水用作对照。在研究第7天收集血液,并评估REGN5381浓度。所有数值均为平均值 $\pm$ SEM,n=5-6/组。

[0036] 图3A-3D显示了低剂量REGN5381对遥测的血压正常食蟹猴的血压和心率的影响:(图3A)收缩压-相对于基线的变化;(图3B)舒张压-相对于基线的变化;(图3C)心率-相对于基线的变化;(图3D)平均动脉压-相对于基线的变化。将遥测的血压正常食蟹猴随机分成4组,每组体重相等,并按表4所列剂量单次静脉注射REGN5381。以图形方式描绘给药前43小时至给药后48小时的收缩压、舒张压、心率和平均动脉压。遥测数据以1小时为单位(1hour-bins)呈现,灰色区域代表12小时黑暗周期。所有数值均为平均值 $\pm$ SEM,n=4-7/组。

[0037] 图4A和4B显示了与REGN5381相关的中心静脉压的急剧降低与反射性心动过速反应相关。图4A示出了个体相对于基线中心静脉压的变化;图4B示出了中心静脉压和心率变化之间的相关性。将11-13月龄的雄性比格犬麻醉,并进行心血管血液动力学数据和尿液收集。每只动物接受单次静脉推注生理盐水(n=6)、10mg/kg缬沙坦(n=4)或25mg/kg REGN5381(n=6)。在给药前(用于基线测量)和给药后4小时监测期间收集每只动物的左心室和全身压力波形。(图4A)显示了给药后第一小时内每只个体动物相对于基线中心静脉压(CVP)的变化;每条线代表一只个体动物。(图4B)描绘了在给药后15分钟时间点每只动物相对于基线CVP变化与相对于基线心率(HR)变化之间的相关性;每个符号代表一只个体动物。

[0038] 图5显示了REGN5381诱导左心室舒张末期压的急剧降低。将11-13月龄的雄性比格犬麻醉,并进行心血管血液动力学数据和尿液收集。每只动物接受单次静脉推注生理盐水(n=6)、10mg/kg缬沙坦(n=4)或25mg/kg REGN5381(n=6)。在给药前(用于基线测量)和给药后4小时监测期间收集每只动物的左心室和全身压力波形。显示了每个治疗组在给药后第一小时内相对于基线左心室舒张末期压(LVEDP)的平均变化。数据表示为分组均值 $\pm$ 均值的标准误。

[0039] 图6A和6B显示了REGN5381不诱导动脉压的变化。图6A示出了相对于基线平均动脉压的平均变化;并且图6B示出了相对于基线动脉脉压的平均变化。将11-13月龄的雄性比格犬麻醉,并进行心血管血液动力学数据和尿液收集。每只动物接受单次静脉推注生理盐水(n=6)、10mg/kg缬沙坦(n=4)或25mg/kg REGN5381(n=6)。在给药前(用于基线测量)和给药后4小时监测期间收集每只动物的左心室和全身压力波形。(图6A)显示了每个治疗组在给药后第一小时内相对于基线平均动脉压(MAP)的平均变化。(图6B)显示了每个治疗组在给药后第一小时内相对于基线动脉脉压(PP)的平均变化。数据表示为分组均值 $\pm$ 均值的标准误。

[0040] 图7显示了实施例5中描述的研究的A部分和B部分的研究流程图。

### 具体实施方式

[0041] 在描述本方法之前,应当理解本公开不限于所描述的特定方法和实验条件,因为这些方法和条件可以变化。还应当理解,这里使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,而不旨在限制,因为本公开的范围将仅由所附权利要求限制。

[0042] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。尽管在本公开的实践或测试中可以使用与本文所述的那些类似或等同的任何方法和材料,但描述了优选的方法和材料。本文提及的所有出版物通过引用以其整体并入本文。

[0043] 影响血液动力学变化的方法

[0044] 本文公开了治疗受试者中与血液动力学改变相关的疾病的方法,其包括:(i)选择收缩压(SBP)在100mmHg和140mmHg之间或135mmHg和160mmHg之间的受试者;和(ii)向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。

[0045] 如本文所用,术语“治疗(treat)、治疗(treating)或治疗(treatment)”是指由于向有需要的受试者施用治疗剂(如本文所述的抗体)而减轻或改善受试者中与血液动力学改变相关的疾病或障碍的至少一种症状或指征的严重性。该术语包括抑制疾病进展或症状/指征恶化。该术语还包括疾病的积极预后,即,在施用治疗剂诸如本公开的抗体后,受试者可以没有疾病或可以减轻疾病。在一个实施方案中,症状或指征是指受试者的血压。治疗剂可以以治疗剂量来施用于受试者,如下文进一步讨论的。

[0046] 与血液动力学改变相关的疾病包括例如心血管疾病、动脉粥样硬化颈动脉狭窄、心力衰竭、中风、高血压和慢性肾病。

[0047] 如本文所用,短语“血液动力学改变(altered hemodynamics)”是指血流的变化。血流的变化可以包括心率、每搏输出量、心输出量、全身血管阻力和血压中的一个或多个的变化。在具体实施方案中,血液动力学改变表现为静脉压、左心室舒张末期压(LVEDP)和/或动脉脉压(PP)降低。静脉压的降低可以是中心静脉压(CVP)的降低。

[0048] 本文还公开了一种降低受试者的血压的方法,所述方法包括:(i)选择收缩压(SBP)在100mmHg和140mmHg之间或135mmHg和160mmHg之间的受试者;和(ii)向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。

[0049] 如本文所用,短语“血压”可指收缩压、舒张压、平均动脉压(动脉压/时间曲线下面积除以心动周期持续时间)和脉压(收缩压与舒张压之差)中的任一个。测量血压的方法是本领域已知的。血压以毫米汞柱(mm Hg)为单位测量,通常以收缩(血)压用舒张(血)压之比表示。测量方法包括听诊法、示波法、超声波法、手指袖带法。它通常可以例如使用数字血压监视器或血压计来测量。

[0050] 本文还公开了一种影响受试者的血液动力学变化的方法,所述方法包括:(i)选择收缩压(SBP)在100mmHg和140mmHg之间或135mmHg和160mmHg之间的受试者;和(ii)向受试者施用治疗有效量的特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段。

[0051] 如本文所用,短语“血液动力学变化”是指血流的变化。血流的变化可以包括心率、每搏输出量、心输出量、全身血管阻力和血压中的一个或多个的变化。在具体实施方案中,血液动力学变化是静脉压、左心室舒张末期压(LVEDP)和/或动脉脉压(PP)的降低。静脉压的降低可以是中心静脉压(CVP)的降低。

[0052] 如本文所用,术语“受试者”是指需要改善、预防和/或治疗NPR1相关疾病或障碍如高血压的动物,优选哺乳动物,更优选人。该术语包括患有此类疾病或障碍或处于患有此类疾病或障碍的风险中的人类受试者。在一些实施方案中,所述受试者血压正常。在一些实施方案中,受试者患有轻度高血压并且其他方面健康。在一些实施方案中,受试者患有高血压

的并且其他方面健康。在一些实施方案中,受试者患有高血压或轻度高血压。

[0053] 高血压存在于一个范围内,并且在一些实施方案中被定义为收缩压(SBP)  $\geq \pm 100\text{mmHg}$ 和 $\leq \pm 140\text{mmHg}$ 以及舒张压(DBP)  $\geq \pm 60\text{mmHg}$ 和 $\leq \pm 90\text{mmHg}$ ,以及在一些实施方案中被定义为收缩压(SBP)  $\geq \pm 130\text{mmHg}$ 和 $\leq \pm 165\text{mmHg}$ 以及舒张压(DBP)  $\geq \pm 60\text{mmHg}$ 和 $\leq \pm 100\text{mmHg}$ 。本领域技术人员可以识别血压正常、轻度高血压、高血压的受试者。

[0054] 在某些实施方案中,本文的方法包括施用低剂量的抗NPR1抗体或其抗原结合片段。如本文所用,“低剂量”是指抗体的剂量为 $\leq \pm 5\text{mg/kg}$ 受试者体重。在某些实施方案中,该术语是指1mg至200mg的抗体剂量。在某些实施方案中,这种低剂量的施用导致在有此需要的受试者中持续24小时至多达56天的血压降低。

#### [0055] 抗NPR1抗体及其抗原结合片段

[0056] 本文公开的方法包括施用特异性结合NPR1的抗体或其抗原结合片段。术语“特异性结合”等是指抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理条件下相对稳定的复合物。确定抗体是否与抗原特异性结合的方法在本领域中众所周知,并且包括例如平衡透析、表面等离子共振等。例如,在本公开的上下文中使用的“特异性结合”NPR1的抗体包括以小于约500nM、小于约300nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约90nM、小于约80nM、小于约70nM、小于约60nM、小于约50nM、小于约40nM、小于约30nM、小于约20nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或小于约0.5nM的KD结合NPR1或其部分的抗体,如在表面等离子共振测定中所测量的。然而,特异性结合人NPR1的分离的抗体可与其他抗原如来自其他(非人)物种的NPR1分子具有交叉反应性。如本文所公开的,结合人NPR1的抗体也与猴和狗NPR1交叉反应。

[0057] 如本文所述的特异性结合NPR1的抗体或其抗原结合片段是钠尿肽受体1(NPR1)的激动剂(例如,是激动剂抗NPR1抗体)。本文所用的“激活抗体”或“激动剂抗体”(或“增加或加强NPR1活性的抗体”或“稳定激活构象的抗体”)旨在指其与NPR1的结合导致NPR1的至少一种生物学活性的激活的抗体。例如,本文的方法包括施用特异性结合NPR1的激动剂抗体,该激动剂抗体在施用至有需要的受试者后可降低全身血压。

[0058] 本文所用的术语“抗体”是指由通过二硫键相互连接的4条多肽链、2条重(H)链和2条轻(L)链组成的免疫球蛋白分子(即“全抗体分子”),以及其多聚体(例如,IgM)或其抗原结合片段。每条重链由重链可变区(“HCVR”或“VH”)和重链恒定区(由结构域CH1、CH2和CH3组成)组成。每条轻链由轻链可变区(“LCVR”或“VL”)和轻链恒定区(CL)组成。VH和VL区可进一步细分为高变区,称为互补决定区(CDR),中间穿插着更保守的区域,称为框架区(FR)。每个VH和VL由三个CDR和四个FR组成,从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本公开的某些实施方案中,抗体(或其抗原结合片段)的FR可以与人种系序列相同,或者可以是天然或人工修饰的。可以基于两个或多个CDR的并排分析(side-by-side analysis)来定义氨基酸共有序列。

[0059] 一个或多个CDR残基的取代或一个或多个CDR的省略也是可能的。科学文献中已经描述了这样的抗体,其中对于结合,可以省去一个或两个CDR。Padlan等人(1995FASEB J. 9: 133-139)基于已发表的晶体结构分析了抗体与其抗原之间的接触区域,并得出结论:只有约五分之一至三分之一的CDR残基实际上与抗原接触。Padlan还发现了许多抗体,其中一个或两个CDR不具有与抗原接触的氨基酸(也参见Vajdos等人,2002J Mol Biol 320:415-

428)。

[0060] 不接触抗原的CDR残基可以基于先前的研究(例如,CDRH2中的残基H60-H65通常不是必需的),通过分子建模和/或凭经验从位于Chothia CDR外部的Kabat CDR区域来鉴定。如果省略CDR或其(一个或多个)残基,则通常用在另一人抗体序列或这类序列的共有序列中占据相应位置的氨基酸取代。CDR中用于取代的位置和待取代的氨基酸也可以凭经验选择。经验取代可以是保守或非保守取代。

[0061] 与相应的种系序列相比,本文所述的全人抗NPR1单克隆抗体可以在重链和轻链可变结构域的框架区和/或CDR区中包含一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。通过将本文公开的氨基酸序列与可从例如公共抗体序列数据库获得的种系序列进行比较,可以容易地确定这类突变。本公开包括衍生自本文公开的任何氨基酸序列的抗体及其抗原结合片段,其中一个或多个框架区和/或CDR区内的一个或多个氨基酸突变为该抗体所源自的种系序列的相应残基,或突变为另一人种系序列的相应残基,或突变为相应种系残基的保守氨基酸取代(这种序列变化在本文中统称为“种系突变”)。本领域普通技术人员从本文公开的重链和轻链可变区序列开始,可以容易地产生包含一个或多个种系单突变或其组合的大量抗体和抗原结合片段。在某些实施方案中,VH和/或VL结构域内的所有框架残基和/或CDR残基均回复突变为该抗体所源自的原始种系序列中的残基。在其他实施方案中,仅某些残基回复突变为原始种系序列,例如,仅见于FR1的前8个氨基酸内或FR4的后8个氨基酸内的突变残基,或仅见于CDR1、CDR2或CDR3内的突变残基。在其他实施方案中,一个或多个框架残基和/或CDR残基被突变为不同种系序列(即,该种系序列不同于该抗体最初来源的种系序列)的相应残基。此外,本公开中使用的抗体可以在框架区和/或CDR区内含有两个或更多个种系突变的任何组合,例如,其中某些单个残基突变为特定种系序列的相应残基,而与原始种系序列不同的某些其他残基保持不变或突变为不同种系序列的相应残基。一旦获得,就可以容易地测试含有一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种期望的性质,例如,改进的结合特异性、增加的结合亲和力、改进的或增强的拮抗生物学特性、降低的免疫原性等。以这种一般方式获得的抗体和抗原结合片段为本公开所涵盖。

[0062] 本公开还使用全人抗NPR1单克隆抗体,其包含本文公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任一个的、具有一个或多个保守取代的变体。例如,本公开可以使用这样的抗NPR1抗体,该抗NPR1抗体具有相对于本文公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任一个具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等的保守氨基酸取代的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列。

[0063] 本文所用的术语“人抗体”或“全人抗体”旨在包括具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。本文所述的人mAb可以,例如在CDR中且尤其是在CDR3中,包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本文所用的术语“人抗体”或“全人抗体”不旨在包括其中已将来源于另一哺乳动物物种(例如小鼠)种系的CDR序列移植到人FR序列上的mAb。该术语包括在非人哺乳动物或非人哺乳动物细胞中重组产生的抗体。该术语不旨在包括从人类个受试者分离或在人类受试者中产生的抗体。

[0064] 本文所用的术语“重组”是指,通过本领域称为重组DNA技术的技术或方法产生、表达、分离或获得的本文所述的抗体或其抗原结合片段,所述技术或方法包括例如DNA剪接和

转基因表达。该术语是指在非人哺乳动物(包括转基因非人哺乳动物,例如转基因小鼠)或细胞(例如CHO细胞)表达系统中表达的抗体,或从重组组合人抗体文库分离的抗体。

[0065] 本文所用的术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括特异性结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或遗传工程改造的多肽或糖蛋白。本文所用的术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指,保留与NPR1蛋白结合的能力的抗体的一个或多个片段。

[0066] 在具体实施方案中,本文所述的抗体或抗体片段可以与部分(moiety)缀合,该部分可以为例如配体或治疗部分(“免疫缀合物”)、第二抗NPR1抗体或任何其他可用于治疗NPR1相关疾病或障碍的治疗部分。

[0067] 在提到核酸或其片段时,术语“基本同一性”或“基本同一”表示,当与另一个核酸(或其互补链)进行适当的核苷酸插入或缺失的最佳比对时,在至少约90%、更优选至少约95%、96%、97%、98%或99%的核苷酸碱基中存在核苷酸序列同一性,如下所讨论的,如通过任何公知的序列同一性算法,例如FASTA、BLAST或GAP测量的。在某些情况下,与参考核酸分子具有基本同一性的核酸分子可以编码这样的多肽,所述多肽与参考核酸分子编码的多肽具有相同或基本上相似的氨基酸序列。

[0068] 当应用于多肽时,术语“基本相似性”或“基本相似”是指,在通过例如程序GAP或BESTFIT使用默认空位权重进行最佳比对时,两个肽序列具有至少90%序列同一性,甚至更优选至少95%、98%或99%序列同一性。优选地,不相同的残基位置因保守氨基酸取代而不同。“保守氨基酸取代”是指,其中一个氨基酸残基用另一个具有相似化学性质(例如,电荷或疏水性)的侧链(R基团)的氨基酸残基取代。一般而言,保守氨基酸取代不会实质性改变蛋白质的功能特性。在两个或多个氨基酸序列因保守取代而彼此不同的情况下,可以向上调整相似性的百分比或程度以针对取代的保守性质进行校正。用于进行这种调整的手段是本领域技术人员公知的。参见例如Pearson(1994)Methods Mol.Biol.24:307-331,其通过引用并入本文。具有相似化学性质的侧链的氨基酸组的实例包括:1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2)脂肪族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4)芳香族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;6)酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸;以及7)含硫侧链:半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸取代组是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。或者,保守取代是在Gonnet等人,(1992)Science 256:1443-45中公开的PAM250对数似然矩阵(log-likelihood matrix)中具有正值的任何改变,该文献通过引用并入本文。“适度保守”取代是在PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何改变。

[0069] 通常使用序列分析软件来测量多肽的序列相似性。蛋白质分析软件使用分配给多种取代、缺失和其他修饰(包括保守氨基酸取代)的相似性度量来匹配相似序列。例如,GCG软件包含如GAP和BESTFIT等程序,它们可以以默认参数使用,以确定密切相关的多肽之间的序列同源性或序列同一性,如来自不同物种的生物体的同源多肽之间或野生型蛋白与其突变蛋白之间的序列同源性或序列同一性。参见例如GCG版本6.1。多肽序列也可使用FASTA以默认或推荐参数进行比较;GCG 6.1.版中的程序FASTA(例如FASTA2和FASTA3)提供查询和搜索序列之间的最佳重叠区域的比对和百分比序列同一性(Pearson(2000),同上)。在将

本公开的序列与含有来自不同生物体的大量序列的数据库进行比较时,另一种优选的算法是使用默认参数的计算机程序BLAST,尤其是BLASTP或TBLASTN。参见例如Altschul等人,(1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410和(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402,其各自通过引用并入本文。

[0070] 除非另外特别指出,否则本文所用的术语“抗体”应理解为涵盖包含两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链的抗体分子(即“全抗体分子”)及其抗原结合片段。本文所用的术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括特异性结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或遗传工程改造的多肽或糖蛋白。本文所用的术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指,保留与NPR1蛋白特异性结合的能力的抗体的一个或多个片段。抗体片段可包括Fab片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fv片段、dAb片段、含有CDR的片段或分离的CDR。在某些实施方案中,术语“抗原结合片段”是指多特异性抗原结合分子的多肽片段。抗体的抗原结合片段可以使用任何适宜的标准技术,如通过蛋白水解消化从例如全抗体分子获得、或通过涉及操作和表达编码抗体可变结构域和(可选地)恒定结构域的DNA的重组基因工程技术来获得。这样的DNA是已知的和/或可容易地从例如商业来源、DNA文库(包括例如噬菌体-抗体文库)获得,或可以合成。可以对该DNA进行测序,并通过化学方法或通过使用分子生物学技术操作,例如,以将一个或多个可变结构域和/或恒定结构域排列为适宜的构型、或引入密码子、产生半胱氨酸残基、修饰、添加或缺失氨基酸等。

[0071] 抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;和(vii) 由模拟抗体的高变区(例如分离的互补决定区(CDR),如CDR3肽)的氨基酸残基或受约束的FR3-CDR3-FR4肽组成最小识别单位。其他工程化分子,如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双链抗体(diabody)、三链抗体(triabody)、四链抗体(tetrabody)、微型抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小型模块化免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域,也为本文所用的表述“抗原结合片段”所涵盖。

[0072] 抗体的抗原结合片段将典型地包含至少一个可变结构域。可变结构域可具有任何大小或氨基酸组成,并且通常包含至少一个CDR,该CDR与一个或多个框架序列相邻或符合读框。在具有与VL结构域结合的VH结构域的抗原结合片段中,VH和VL结构域可以以任何适宜的排列相对于彼此定位。例如,可变区可以是二聚体并且含有VH-VH、VH-VL或VL-VL二聚体。或者,抗体的抗原结合片段可含有单体VH或VL结构域。

[0073] 在某些实施方案中,抗体的抗原结合片段可以含有与至少一个恒定结构共价连接的至少一个可变结构域。可见于本公开的抗体的抗原结合片段内的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例性构型包括:(i) VH-CH1;(ii) VH-CH2;(iii) VH-CH3;(iv) VH-CH1-CH2;(v) VH-CH1-CH2-CH3;(vi) VH-CH2-CH3;(vii) VH-CL;(viii) VL-CH1;(ix) VL-CH2;(x) VL-CH3;(xi) VL-CH1-CH2;(xii) VL-CH1-CH2-CH3;(xiii) VL-CH2-CH3;和(xiv) VL-CL。在可变结构域和恒定结构域的任何构型中,包括上文所列的任何示例性构型,可变结构域和恒定结构域可彼此直接连接,或者可通过完整或部分铰链或接头区连接。铰链区可以由至少2个(例如,5、10、15、20、40、60或更多)氨基酸组成,这导致单个多肽分子中相邻可变结构域和/或恒定结构域之间的柔性或半柔性连接。此外,本公开的抗体的抗原结合片段可以包含以上所列的任何可变结构域和恒定结构域构型的同型二聚体或杂型二聚体(或其他多聚

体),其彼此非共价结合和/或与一个或多个单体VH或VL结构域(例如,通过二硫键)非共价结合。

[0074] 如同全抗体分子一样,抗原结合片段可以是单特异性的或多特异性的(例如,双特异性的)。抗体的多特异性抗原结合片段将典型地包含至少两个不同的可变结构域,其中每个可变结构域能够特异性地结合单独的抗原或结合相同抗原上的不同表位。使用本领域可用的常规技术,包括本文公开的示例性双特异性抗体形式的任何多特异性抗体形式可适于在本公开的抗体的抗原结合片段的背景下使用。

[0075] 根据某些示例性实施方案,抗NPR1抗体或其抗原结合片段包含重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)和/或互补决定区(CDR),其包含美国专利申请公布US20200123263中所述的任何抗NPR1抗体的氨基酸序列,该专利申请以引用的方式以其全文并入本文。在某些示例性实施方案中,可用于本公开上下文中的抗NPR1抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDR)和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的轻链互补决定区(LCDR)。根据某些实施方案,抗NPR1抗体或其抗原结合片段包含三个HCDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个LCDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;所述LCDR2包含VAS的氨基酸序列;且所述LCDR3包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在其他实施方案中,抗NPR1抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1的HCVR和含有SEQ ID NO:2的LCVR。在某些实施方案中,本公开的方法包括抗NPR1抗体的用途,其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗NPR1抗体包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链。包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区的示例性抗体是称为REGN5381的完全人抗NPR1抗体。

[0076] 根据某些示例性实施方案,本公开的方法包括REGN5381或其生物等效物的用途。如本文所用,术语“生物等效物”是指作为药物等效物或药物替代物的抗NPR1抗体或NPR1结合蛋白或其片段,在相似的实验条件下以相同摩尔剂量(单剂量或多剂量)施用,其吸收的速率和/或程度与参考抗体(例如REGN5381)的吸收的速率和/或程度未显示显著差异。在本公开的上下文中,术语“生物等效物”包括与NPR1结合并且在安全性、纯度和/或效力方面与REGN5381不具有临床上有意义的差异的抗原结合蛋白。

[0077] 根据本公开的某些实施方案,抗人NPR1或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:1具有90%、95%、97%或98%序列同一性的HCVR。

[0078] 根据本公开的某些实施方案,抗人NPR1或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:2具有90%、95%、97%或98%序列同一性的LCVR。

[0079] 根据本公开的某些实施方案,抗人NPR1或其抗原结合片段包含HCVR,该HCVR包含具有不超过5个氨基酸取代的SEQ ID NO:1的氨基酸序列。根据本公开的某些实施方案,抗人NPR1或其抗原结合片段包含LCVR,该LCVR包含具有不超过2个氨基酸取代的SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

[0080] 序列同一性可以通过本领域已知的方法(例如,GAP、BESTFIT和BLAST)测量。

[0081] 本公开还包括抗NPR1抗体或其抗原结合片段在降低血压或影响血液动力学变化

的方法中的用途,其中该抗NPR1抗体或其抗原结合片段包含本文公开的具有一个或多个保守氨基酸取代的HCVR、LCVR和/或CDR的氨基酸序列中的任一个的变体。例如,本公开包括抗NPR1抗体或其抗原结合片段的用途,该抗体或其抗原结合片段具有相对于本文公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任一个具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等保守氨基酸取代的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列。

[0082] 可用于本公开的方法的上下文中的其他抗NPR1抗体或其抗原结合片段包括例如在US2012/0114659A1中阐述的任何抗NPR1抗体。所有上述出版物中鉴定抗NPR1抗体的部分均通过引用并入本文。

[0083] 治疗施用和制剂

[0084] 本文所述的方法包括向有需要的受试者施用抗NPR1抗体或其抗原结合片段。抗NPR1抗体或其抗原结合片段可以包含在药物组合物中。根据本公开的药物(或“治疗性”)组合物将与掺入制剂中以提供改善的转移、递送、耐受性等的适宜的载体、赋形剂和其他试剂一起施用。在所有药物化学家都知道的处方集:Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA中,可以找到许多合适的制剂。这些制剂包括例如粉剂、糊剂、软膏剂、凝胶剂、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子)囊泡(如LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳剂、乳剂碳蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有碳蜡的半固体混合物。还参见Powell等人,“Compendium of excipients for parenteral formulations”PDA(1998)J Pharm Sci Technol 52:238-311。

[0085] 抗体的剂量可以根据待施用的受试者的年龄和大小、目标疾病、病症、施用途径等而变化。根据病症的严重程度,可以调整治疗的频率和持续时间。在某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可以以单剂量进行施用。在其他实施方案中,抗体或其抗原结合片段可以以初始剂量进行施用,随后以第二或多个后续剂量来施用抗体或其抗原结合片段,其量可以近似等于或小于初始剂量的量,其中所述后续剂量之间间隔至少1天至3天;至少一周、至少2周;至少3周;至少4周;至少5周;至少6周;至少7周;至少8周;至少9周;至少10周;至少12周;或至少14周。在某些实施方案中,在初始剂量后至少2周、至少3周或至少4周施用后续剂量。在其他实施方案中,由施用抗NPR1抗体或其抗原结合片段引起的血压下降在施用初始剂量和后续剂量之间持续。

[0086] 各种递送系统是已知的,并且可用于施用本公开的药物组合物,例如包封在脂质体、微粒、微囊、能够表达突变病毒的重组细胞、受体介导的内吞作用中(参见例如Wu等人,(1987)J. Biol. Chem. 262:4429-4432)。引入方法包括但不限于皮内、经皮、肌内、腹腔内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。组合物可以通过任何方便的途径施用,例如通过输注或推注、通过经上皮或粘膜皮肤衬里(例如口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收,并且可以与其他生物活性剂一起施用。施用可以是全身的或局部施用。药物组合物还可以在囊泡,尤其是脂质体中递送(参见,例如Langer(1990)Science 249:1527-1533)。

[0087] 本文还考虑使用纳米颗粒递送本文所述的抗体。抗体缀合的纳米颗粒可用于治疗和诊断应用。抗体缀合的纳米颗粒以及制备和使用的方法由Arruebo, M. 等人, 2009 (“Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications” in J. Nanomat. Volume 2009, Article ID 439389, 24 pages, doi:10.1155/2009/439389) 详细描述,其通过引用并入本文。可以开发纳米颗粒并将其与包含在药物组合物中的抗体缀合

以靶向细胞。用于药物递送的纳米颗粒也在例如US 8257740或US 8246995中进行了描述，其各自以其全文并入本文。

[0088] 在某些情况下，药物组合物可以在控释系统中递送。在一个实施方案中，可以使用泵。在另一个实施方案中，可以使用聚合物材料。在另一个实施方案中，可以将控释系统放置在组合物的靶标附近，因此只需要全身剂量的一部分。

[0089] 可注射制剂可以包括用于静脉内、皮下、颅内、腹腔内和肌肉注射、滴注等的剂型。这些可注射制剂可以通过公知的方法制备。

[0090] 本公开的药物组合物可以用标准针头和注射器皮下或静脉内递送。此外，关于皮下递送，笔式递送装置容易应用于递送本公开的药物组合物。这种笔式递送装置可以是可重复使用的或一次性的。可重复使用的笔式递送装置通常使用含有药物组合物的可更换的药筒。一旦药筒内的所有药物组合物已被施用并且药筒变空，即可以很容易地丢弃空药筒并更换包含药物组合物的新药筒。然后可以重复使用该笔式递送装置。在一次性笔式递送装置中，没有可更换的药筒。相反，一次性笔式递送装置预先填充有保持在装置内的储存器中的药物组合物。一旦储存器中的药物组合物清空，即丢弃整个装置。

[0091] 有利地，将上述用于口服或肠胃外使用的药物组合物制备成适于配合活性成分剂量的单位剂量剂型。这种单位剂量剂型包括如片剂、丸剂、胶囊、注射剂（安瓿）、栓剂等。每个单位剂量剂型尤其是注射剂形式中所包含的抗体的量通常为约5mg至约500mg或约1mg至约200mg。

[0092] 组合疗法

[0093] 本公开的方法包括与另外的治疗剂或疗法组合施用抗NPR1抗体或其抗原结合片段。组合疗法可包括本文所述的抗体或抗体的生物活性片段和可有利地与其组合的任何另外的治疗剂。

[0094] 根据疾病、障碍或病症，本文所述的抗体可以与一种或多种另外的治疗剂组合使用，所述另外的治疗剂包括但不限于醛固酮拮抗剂（例如，依普利酮、螺内酯）、 $\alpha$ -肾上腺素能阻滞剂（例如，多沙唑嗪、酚苄明、酚妥拉明、哌唑嗪、特拉唑嗪）、血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂（例如，贝那普利、卡托普利、依那普利、福辛普利、赖诺普利、莫昔普利、培哌普利、喹那普利、雷米普利、群多普利）、小动脉血管舒张剂（例如，胍苯哒嗪、米诺地尔）、自主神经节血管舒张剂（例如，美卡拉明）、 $\beta$ -肾上腺素阻滞剂（醋丁洛尔、阿替洛尔、倍他洛尔、比索洛尔、卡维地洛、卡替洛尔、艾司洛尔、拉贝洛尔、美多洛尔、纳多洛尔、喷布特罗、吲哚洛尔、普萘洛尔、噻吗洛尔）、消耗儿茶酚胺的交感神经阻滞剂（例如，地舍平、利血平）、中枢 $\alpha$ -2肾上腺素激动剂（例如，可乐定、胍那苄、胍法辛、甲基多巴）、钙通道阻滞剂（地尔硫卓、维拉帕米、氨氯地平、非洛地平、伊拉地平、尼卡地平、硝苯地平、尼索地平）、利尿剂（例如，布美他尼、依他尼酸、呋塞米、托拉塞米、氯噻嗪、氢氯噻嗪、氢氟噻嗪、甲氯噻嗪、泊利噻嗪、氯噻酮、吲达帕胺、美托拉宗）、肾素抑制剂（例如，阿利吉仑）、抗凝剂（例如，华法林、达比加群、阿哌沙班）、抗血小板剂（例如，阿司匹林、氯吡格雷）、降胆固醇剂（例如，他汀类、PCSK9抑制剂如阿莫罗布单抗）、血管扩张剂（例如，米诺地尔、胍苯哒嗪、硝酸盐）、洋地黄、外科手术（例如，血管成形术、冠状动脉搭桥术、心脏移植）、植入式装置（例如，瓣膜置换术、除颤器装置、左心室辅助装置、起搏器）、抗肿瘤治疗（例如，化疗剂、外科手术、放射疗法、PD-1抑制剂）、胰岛素、GLP1激动剂（例如，艾塞那肽、利拉鲁肽、利西拉肽、阿必鲁肽、度拉糖肽、司美

格鲁肽)、二甲双胍、血压升高剂、透析、骨髓刺激剂、血液滤过、生活方式的改变和膳食补充剂。

[0095] 如本文所用,术语“与…组合”意指,可以在施用抗NPR1抗体或其抗原结合片段之前、并行或之后施用(一种或多种)其他治疗活性组分。术语“与…组合”还包括,相继或并行施用抗NPR1抗体和第二治疗剂。

[0096] 可以在施用抗NPR1抗体或其抗原结合片段之前,对受试者施用(一种或多种)其他治疗活性组分。例如,如果第一组分在第二组分施用前1周、72小时、60小时、48小时、36小时、24小时、12小时、6小时、5小时、4小时、3小时、2小时、1小时、30分钟或不到30分钟施用,则可认为第一组分在第二组分“之前”施用。在其他实施方案中,该(一种或多种)其他治疗活性组分可以在施用本公开的抗NPR1抗体之后对受试者施用。例如,如果第一组分在第二组分施用后30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时或更长时间施用,则可认为第一组分在第二组分“之后”施用。在其他实施方案中,该(一种或多种)其他治疗活性组分可以与抗NPR1抗体或其抗原结合片段并行对受试者施用。为了本公开的目的,“并行”施用包括例如以单剂型对受试者施用抗NPR1抗体和其他治疗活性组分,或彼此在约30分钟或更短时间内以分开的剂型对受试者施用。如果以分开的剂型施用,则每种剂型可以通过相同的途径施用(例如,抗NPR1抗体和其他治疗活性组分可以静脉内施用等);或者,每种剂型可以通过不同途径施用(例如,抗NPR1抗体可以静脉内施用,并且其他治疗活性组分可以口服施用)。在任何情况下,为了本公开的目的,以单个剂型、通过相同的途径以分开的剂型或通过不同途径以分开的剂型施用所述成分,都认为是“并行施用(concurrent administration)”。为了本公开的目的,在施用其他治疗活性组分“之前”、“并行”或“之后”(如上文所定义的那些术语)施用抗NPR1抗体,将视为抗NPR1抗体与其他治疗活性组分“组合”施用。

#### [0097] 剂量

[0098] 根据本文公开的方法施用于受试者的抗NPR1抗体或其抗原结合片段的量通常是治疗有效量。如本文所用,短语“治疗有效量”是指产生在施用特异性结合钠尿肽受体1(NPR1)的抗体或其抗原结合片段时所期望得到的效果的量。在某些实施方案中,期望的效果是降低受试者的血压。在另外的实施方案中,期望的效果是降低受试者的血压而不导致与低血压相关的副作用(包括但不限于恶心、头晕、呕吐、氧气不足、心脏问题、肾损伤、晕厥(和相关损伤)、运动改变和甚至死亡)。

[0099] 在某些实施方案中,剂量可以表示为固定剂量(flat dose)或基于体重的剂量。

[0100] 在某些实施方案中,抗NPR1抗体或其抗原结合片段(例如REGN5381或其生物等效物)的治疗有效量可以是约0.01mg至约500mg、约0.1mg至约400mg、约1mg至约300mg、约5mg至约250mg、约10mg至约200mg或约5mg至约150mg抗体。例如,在各种实施方案中,抗体的量为约0.01mg、约0.05mg、约0.1mg、约0.2mg、约0.3mg、约0.4mg、约0.5mg、约1mg、约2mg、约3mg、约4mg、约5mg、约6mg、约7mg、约8mg、约9mg、约10mg、约11mg、约12mg、约13mg、约14mg、约15mg、约16mg、约17mg、约18mg、约19mg、约20mg、约21mg、约22mg、约23mg、约24mg、约25mg、约26mg、约27mg、约28mg、约29mg、约30mg、约31mg、约32mg、约33mg、约34mg、约35mg、约36mg、约37mg、约38mg、约39mg、约40mg、约41mg、约42mg、约43mg、约44mg、约45mg、约46mg、约47mg、约48mg、约49mg、约50mg、约55mg、约60mg、约65mg、约70mg、约75mg、约80mg、约85mg、约90mg、约

95mg、约100mg、约105mg、约110mg、约115mg、约120mg、约125mg、约130mg、约135mg、约140mg、约145mg、约150mg、约155mg、约160mg、约165mg、约170mg、约175mg、约180mg、约185mg、约190mg、约195mg、约200mg、约210mg、约220mg、约230mg、约240mg、约250mg、约260mg、约270mg、约280mg、约290mg、约300mg、约350mg、约400mg、约450mg或约500mg。在具体实施方案中,以约1mg至约200mg的低剂量来施用抗体或其抗原结合片段。

[0101] 个体剂量中所含的抗体的量可以以每千克受试者体重的抗体毫克数(即,mg/kg)来表示。在某些实施方案中,本文公开的方法中使用的抗体可以以约0.0001mg/kg至约50mg/kg受试者体重的剂量来施用于受试者。在某些实施方案中,可以以约0.1mg/kg至约25mg/kg受试者体重的剂量来施用抗NPR1抗体。在某些实施方案中,本公开的方法包括以约0.1mg/kg至5mg/kg、1mg/kg至3mg/kg、1mg/kg至5mg/kg、1mg/kg至10mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg或10mg/kg受试者体重的剂量来施用抗体。在具体实施方案中,抗体或其抗原结合片段以约0.031mg/kg至约5mg/kg、或约5mg/kg至约25mg/kg受试者体重的剂量进行施用。在其他实施方案中,将低剂量的抗体或抗原结合片段施用于受试者。在一个实施方案中,低剂量为 $\leq$ 约5mg/kg。

#### [0102] 实施例

[0103] 提出以下实施例以便向本领域普通技术人员提供如何制备和使用本公开的方法和组合物的完整公开和描述,而不旨在限制本发明人视为其公开内容的范围。已努力确保所用数字(例如,量、温度等)的准确性,但应考虑一些实验误差和偏差。除非另有说明,否则份为重量份,分子量为平均分子量,温度以摄氏度计,室温为约25°C,压力为大气压或接近大气压。

[0104] 以下实施例中使用的示例性抗体是REGN5381,一种全人激动剂抗体,其特异性结合NPR1并包含SEQ ID NO:1/2的HCVR/LCVR,SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:4-SEQ ID NO:5-SEQ ID NO:6-VAS-SEQ ID NO:8的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3。还参见US20200123263。

[0105] 实施例1:单剂量NPR1激动剂mAb (R5381)对血压正常的NPR1<sup>hu/hu</sup>小鼠全身血压的影响

#### [0106] 实验方法

[0107] 为了评估使用低剂量的NPR1激动剂抗体REGN5381对遥测的血压正常的NPR1hu/hu小鼠全身血压的剂量反应,向约11周龄的雄性NPR1hu/hu小鼠(n=30)植入PA-C10遥测仪(DSI, St. Paul, MN),并允许其恢复至少7天,然后分配入组(组1-5)(表1)。动物在标准条件(温度为64°F-84°F(18°C-29°C;相对湿度30%至70%)下单独笼养;维持12小时光照/12小时黑暗周期。随意提供食物(Research Diets标准颗粒食物)和水。

[0108] 表1. 剂量和剂量组总结

组号	供试品或对照品	剂量水平 (mg/kg/ 剂)	剂量体积 (mL/kg)	动物数量
				雄性
[0109] 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

[0110] 在第0天,通过皮下注射对适当的动物施用测试蛋白一次。每只动物的剂量体积基于最近的体重测量结果。在研究第7天和结束时收集血液样品用于血清生物标志物评估,并且在第22天收集尿液用于尿液生物标志物分析。

[0111] 在测试期间,每10分钟收集10秒的收缩压、舒张压、平均动脉压、脉压和心率。在研究的生活部分(in-life portion)期间,从具有存活信号的动物获得图形显示的遥测数据。

[0112] 结果

[0113] 在接受单剂量REGN5381的所有血压正常的NPR1hu/hu小鼠中,血压(图1A-1C和1E)显著且持续地降低。血压降低的幅度很大程度上是剂量依赖性的,最高剂量(25mg/kg)在研究期间导致大约10-15mmHg的血压降低。图1显示了施用单剂量的NPR1激动剂mAb、REGN5381或PBS后(1A)收缩压、(1B)舒张压、(1C)脉压、(1D)心率和(1E)平均动脉压的变化。REGN5381使收缩压、舒张压、脉压和平均动脉压显著降低(图1,表2)。药效学效应的持续时间与剂量相当,REGN5381的最高剂量(25mg/kg)持续长达26天。与PBS对照给药动物相比,在0.5mg/kg或更大的剂量下观察到心率的代偿性增加。在低至0.125mg/kg的单剂量REGN5381下检测到显著和持久的血压效应。血压降低的持续时间也是剂量依赖性的,并且与第7天REGN5381血清浓度一致(图2),因为最高暴露与最长的供试品对血液动力学终点的相关效应相关。峰值急性血压降低似乎是剂量依赖性的,在0.125mg/kg时血压效应的持续时间约为10天,在25mg/kg时长于26天。在第22天未发现对尿量的影响,并且在第22天评估的尿cGMP浓度(表3)与任何REGN5381组中的对照值没有显著差异。

[0114] 表2. 26天平均血压和心率

剂量组:	收缩压 (mm Hg)	舒张压 (mm Hg)	平均动脉压 (mm Hg)	脉压 (mm Hg)	心率 (BPM)
PBS	130±0.2	92±0.5	112±0.2	38±0.1	483±2
REGN5381 (0.125 mg/kg)	125±0.5****	90±0.5**	108±0.5****	35±0.3****	484±1
REGN5381 (0.25 mg/kg)	123±0.6****	90±0.3*	108±0.4****	33±0.4****	488±2
REGN5381 (0.5 mg/kg)	121±0.6****	89±0.3****	106±0.4****	32±0.3****	494±3**
REGN5381 (25 mg/kg)	116±0.6****	87±0.4****	102.8±0.4****	28±0.3****	498±3****

[0116] 将遥测的血压正常NPR1<sup>hu/hu</sup>小鼠随机分成5组,每组体重相等,并按表1所列剂量单次皮下注射REGN5381。磷酸盐缓冲盐水(PBS)用作对照。所有数值均为平均值±SEM,n=3-6/组。统计学-单因素ANOVA和Dunnett;\*p<.05vs.PBS,\*\*p<.01vs.PBS;\*\*\*\*P<.0001vs.PBS

[0117] 表3.第22天尿量和尿cGMP水平

剂量组:	尿量 (mL/天)	尿 cGMP (pmol/mL)	尿 cGMP (pmol/天)
PBS	1.3±0.1	4560±563	5905±952
REGN5381 (0.125 mg/kg)	1.4±0.2	3897±598	5480±1093
REGN5381 (0.25 mg/kg)	1.4±0.2	3756±196	5150±907
REGN5381 (0.5 mg/kg)	1.1±0.2	3554±482	4135±1026
REGN5381 (25 mg/kg)	1.3±0.1	6366±983	8278±1941

[0119] 将遥测的血压正常NPR1<sup>hu/hu</sup>小鼠随机分成5组,每组体重相等,并按表1所列剂量单次皮下注射REGN5381。磷酸盐缓冲盐水(PBS)用作对照。从研究第21天开始到研究第22天结束过夜收集尿液。所有数值均为平均值±SEM,n=4-6/组。统计学-单因素ANOVA和Dunnett

[0120] 实施例2.单次静脉注射低剂量REGN5381对遥测血压正常的食蟹猴全身血压的影响

[0121] 实验方法

[0122] 为了鉴定低静脉剂量的NPR1激动剂抗体REGN5381在遥测血压正常的食蟹猴中诱导短暂但可检测到的全身血压降低,向体重3-5kg的雄性食蟹猴(n=22)预先植入PhysioTel Digital L11型遥测仪(DSI,St.Paul,MN)。在随机分配到剂量组(组1-4)之前,使动物适应实验室饲养至少5周(表4)。动物在标准条件(温度为64°F-84°F(18°C-29°C;相对湿度30%至70%)下笼养;维持12小时光照/12小时黑暗周期。随意提供食物(PMI营养国际认证的灵长类食物编号5048)和水。

[0123] 表4.剂量和剂量组总结

组号	供试品或对照品	剂量水平 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	剂量体积 ( $\text{mL}/\text{kg}$ )	动物数量
				雄性
[0124] 1	生理盐水	0	1	3
2	REGN5381	8		7
3		31		7
4		125		5

[0125] 在第1天,通过静脉注射对适当的动物施用测试蛋白或生理盐水对照一次。每只动物的剂量体积基于最近的体重测量结果。在基线、给药后72小时以及研究第7天和第14天收集用于药物水平评估的血样。

[0126] 在实验持续期间连续收集收缩压、舒张压、平均动脉压和心率,在测试期持续期间以60分钟平均值将数据分箱。在研究的生活部分期间,从具有存活信号的动物获得遥测数据。

#### [0127] 结果

[0128] 血压(表5和6;图3A、3B和3D)在前24小时内以剂量依赖性方式降低。在给药后24小时内,观察到 $31\mu\text{g}/\text{kg}$ 组和 $125\mu\text{g}/\text{kg}$ 组的收缩压的统计学上显著降低。收缩压分别降低约3.0和5.1mm Hg。这些效应是短暂的,在给药后24-48小时期间压力恢复到生理盐水对照水平。在给药后24小时内,观察到31和 $125\mu\text{g}/\text{kg}$ 组的舒张压的统计学上显著降低。舒张压分别降低约2.6和4.2mm Hg。这些效应是短暂的,在给药后24-48小时期间压力恢复到生理盐水对照水平。与收缩压和舒张压效应一致,在给药后24小时内,观察到 $31\mu\text{g}/\text{kg}$ 组和 $125\mu\text{g}/\text{kg}$ 组的平均动脉压(MAP)的统计学上显著降低。MAP分别降低约2.7和4.8mm Hg。这些效应是短暂的,在给药后24-48小时期间压力恢复到生理盐水对照水平。低剂量 $8\mu\text{g}/\text{kg}$ 诱导了前24小时内收缩压、舒张压和MAP的趋势性但非统计学上显著降低,此后未观察到差异。给药后所有动物的心率降低。在所评估的任何时间点均未观察到与REGN5381相关的对心率的统计学上显著影响,尽管与生理盐水对照相比,发现 $125\mu\text{g}/\text{kg}$ 组出现趋势性但非统计学上显著增加。

[0129] 表5. 平均收缩压和舒张压

剂量组:	收缩压(相对于基线的变化)		舒张压(相对于基线的变化)	
	0-24 小时平均值	24-48 小时平均值	0-24 小时平均值	24-48 小时平均值
[0130] 生理盐水	1.64 $\pm$ 0.55	-0.06 $\pm$ 0.55	1.0 $\pm$ 0.15	-0.90 $\pm$ 0.45
REGN5381 (8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	-0.16 $\pm$ 0.66	-0.85 $\pm$ 0.89	-0.60 $\pm$ 0.54	-1.29 $\pm$ 0.76
REGN5381 (31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	-3.07 $\pm$ 1.01**	-1.57 $\pm$ 0.60	-2.63 $\pm$ 0.87*	-1.85 $\pm$ 0.52
REGN5381 (125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	-	-1.78 $\pm$ 0.76	-4.17 $\pm$ 0.76**	-1.63 $\pm$ 1.06

[0131] 将遥测的血压正常食蟹猴随机分成4组,每组体重相等,并按表4所列剂量单次静脉注射REGN5381。所有数值均为平均值 $\pm$ SEM,  $n=3-7$ /组。统计学-单因素ANOVA和

Dunnett; \* $p < .05$ , \*\* $p < .01$ , \*\*\* $p < .001$  vs. 生理盐水对照。

[0132] 表6. 平均心率和平均动脉压

剂量组:	心率 (相对于基线的变化)		平均动脉压 (相对于基线的变化)	
	0-24 小时 平均值	24-48 小时 平均值	0-24 小时平均 值	24-48 小时 平均值
生理盐水	-9.40±1.86	-9.72±2.59	1.5±0.34	-0.38±0.48
REGN5381 (8 µg/kg)	-	-	-0.29±0.54	-0.98±0.79
REGN5381 (31 µg/kg)	12.02±1.45	17.31±2.07	-2.73±0.99*	-1.57±0.59
REGN5381 (125 µg/kg)	-4.95±2.22	-7.47±2.28	-4.75±0.72***	-1.61±0.85

[0134] 将遥测的血压正常食蟹猴随机分成4组, 每组体重相等, 并按表4所列剂量单次静脉注射REGN5381。所有数值均为平均值±SEM,  $n = 3-7$ /组。统计学-单因素ANOVA和Dunnett; \* $p < .05$ , \*\* $p < .01$ , \*\*\* $p < .001$  vs. 生理盐水对照。

[0135] 使用酶联免疫吸附试验测量总REGN5381血清浓度。在给药前、给药后72小时、7天和14天获得血清样品。除了给药后72小时的125µg/kg组之外, 所有样品中的REGN5381浓度均低于0.078µg/mL的定量限度(limit of quantification)。

[0136] 表7. REGN5381血清水平

时间点:	第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组
	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL
给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
给药后 72 小时	BLQ	BLQ	BLQ	0.31±0.11
第 7 天	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
第 14 天	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

[0138] 将遥测的血压正常食蟹猴随机分成4组, 每组体重相等, 并按表4所列剂量单次静脉注射REGN5381。所有数值均为平均值±SD,  $n = 3-7$ /组。BLQ = 低于定量限度(纯血清中 $< 0.078\mu\text{g/mL}$ )

[0139] 图3A显示了施用单剂量NPR1激动剂mAb、REGN5381 NPR1激动剂mAb或生理盐水后收缩压的变化。图3B显示了施用单剂量NPR1激动剂mAb、REGN5381 NPR1激动剂mAb或生理盐水后舒张压的变化。图3C显示了施用单剂量NPR1激动剂mAb、REGN5381或生理盐水后心率的变化。图3D显示了施用单剂量NPR1激动剂mAb、REGN5381 NPR1激动剂mAb或生理盐水后平均动脉压的变化。关键发现是NPR1激动剂mAb、REGN5381在低至31µg/kg的单次静脉内剂量后对血压产生统计学上显著但瞬时的作用。这些效应是剂量依赖性的, 并且持续少于48小时, 如通过在给药后24-48小时期间, 任何REGN5381给药的动物与对照相比缺乏统计学显著差异所证明的。这些压力效应的发生与对心率的显著影响无关。

[0140] 进一步的数据显示REGN5381对血浆容量的影响(相对于5%血液抽取或对照)。在

第0天,在分配到三组之一的24只雄性食蟹猴中测量血浆容量随时间的变化,并在第6天通过头静脉或隐静脉给予生理盐水(对照,n=8)、生理盐水+5%血液稀释(n=8)或25mg/kg的REGN5381(n=8)。在第0天(基线)、第6天(给药)和第20天(恢复),从所有动物收集3-5ml血样用于测量血容量。分析样品的总放射性。数据表示为分组均值±均值的标准误。使用双因素重复测量ANOVA,随后使用Tukey事后多重比较检验( $\alpha=0.05$ )确定统计学显著性。

[0141] 表8:REGN5381对平均血浆容量的影响

平均血浆容量 (mL)			
	基线	给药后 4 小时	恢复
[0142] 对照	206±13	202±4	201±7
5%血液抽取	184±15	189±14	182±8
REGN5381	188±8	169±5***	171±7*

[0143] ±SEM;\*p<.05,\*\*\*p<.001vs.对照。

[0144] REGN5381显著降低了平均血浆容量,并能有效降低血浆容量相当于5%血液抽取。

[0145] 实施例3. REGN5381在麻醉的比格犬中的急性血液动力学评估

[0146] 实验方法

[0147] 本研究的目的是评估REGN5381通过单次静脉推注施用于麻醉的雄性比格犬时的急性血液动力学特征。为了评估REGN5381通过单次静脉推注施用于麻醉的雄性比格犬时的急性血液动力学特征,在剂量施用之前,对每只动物进行麻醉并配备仪器以获取心血管血液动力学数据和收集尿液。每只动物接受单次静脉推注剂量的生理盐水(n=6),10mg/kg缬沙坦(n=4)或25mg/kg REGN5381(n=6)。在剂量施用之后,监测动物4小时以评估血液动力学变化。给药前和给药后4小时监测期内收集每只动物的左心室和全身压力波形;给药前测量值作为每只动物的基线。给药前和给药后每小时一次经胸超声心动图评估收缩末期容量和舒张末期容量。从膀胱收集尿液,并在给药前和给药后每小时测量一次其容量。对于接受REGN5381(n=4)和生理盐水(n=4)的一些动物,在给药前和给药后2和4小时测定使用中子激活的微球测量的肾皮质和髓质的灌注。给药前测量值作为每只动物的基线。

[0148] 结果

[0149] 给药后第一小时期间,REGN5381导致相对于基线中心静脉压(CVP)的急性短暂平均降低,并伴有相对于基线HR的急性短暂平均升高。观察到的平均CVP和HR的变化归因于接受REGN5381的6只动物中的3只的读数,其中CVP的变化程度与HR的变化程度相关(图4A和4B)。此外,观察到在给药后第一小时内相对于基线左心室舒张末期压(LVEDP)的平均降低,并且归因于相同的3只动物,与REGN5381诱导的负荷前降低一致,这与在这些动物中观察到的对CVP的作用一致(图5)。

[0150] 在接受REGN5381的其他3只动物中,在给药后第一小时内,给药后CVP和心率与基线水平相似。暴露评估表明所有动物具有相当的REGN5381血清浓度(数据未显示)。与动脉收缩压数据一致,未观察到MAP或全身血管阻力(SVR)的变化。观察到动脉脉压(PP)相对于基线的瞬时平均降低(图6A和6B)。动脉压没有变化和任何血流动力学效应的短暂性与在有意识的遥测犬(数据未报告)、非人灵长类(数据未显示)和小鼠(数据未报告)中观察到的不一致,这可能是由于与该外科手术相关的实验条件,包括但不限于麻醉(诱导和维持)、数据

采集期间的侧卧式体位和机械通气。

[0151] 在给药后第一小时内接受缬沙坦的动物中未观察到CVP或HR的平均变化；在给药后第一小时内接受缬沙坦的动物中观察到相对于基线LVEDP的早期、暂时的平均降低；然而，这归因于来自1只动物的读数（可能是由于导管放置不良）。在接受缬沙坦的动物中观察到在给药后第一小时内相对于基线MAP和PP的平均降低，以及在整个4小时监测期内SVR的平均降低，这与缬沙坦作为血管紧张素II受体阻滞剂的作用机制一致。

[0152] 在接受生理盐水的动物中未观察到CVP、HR、LVEDP、PP或SVR的平均变化。在接受生理盐水的动物中观察到MAP的轻微增加；然而，这种影响可能是由于手术准备（即，麻醉平面的温度和/或深度）。

[0153] 总之，在对REGN5381有反应的犬中，这些结果表明，当施用于麻醉的、侧卧式体位、仪表化血压正常的雄性比格犬时，REGN5381诱导对静脉压的强烈的瞬时作用，并伴随相关的反射性心动过速反应。观察到的血液动力学变化与尿排出量或全身器官灌注的任何变化无关。观察到的REGN5381诱导的血液动力学效应与标准治疗缬沙坦诱导的不同，表明REGN5381诱导的血液动力学效应的作用机制不同。

[0154] 最后，REGN5381不影响肾灌注或诱导利尿。在接受REGN5381的动物中，在给药后2和4小时未观察到肾皮质或肾髓质相对于基线灌注的变化。此外，在所评估的时间点接受REGN5381的动物中未观察到相对于基线尿排出量的变化。当与时间匹配的对照动物比较时，在接受缬沙坦的动物中，在给药后1和2小时观察到尿排出量的显著增加。在接受生理盐水的动物中未观察到尿排出量或肾灌注的平均变化。

[0155] 因此，在一项评估麻醉犬静脉内施用单剂量25mg/kg REGN5381的急性血液动力学的研究中，REGN5381在给药后第一小时内急性降低了6只动物中的3只的静脉压，而对动脉压没有影响。与基线和时间匹配对照动物值相比，REGN5381诱导了中心静脉压（CVP）的急性平均降低。与观察到的CVP的急性降低一致，与基线和时间匹配的对照动物相比，给与REGN5381的动物在给药后第一小时内经历了急性、短暂的心率（HR）增加。对个体动物数据的评估表明，血液动力学和相关HR变化仅限于接受REGN5381的6只动物中的3只，其中CVP降低的幅度与HR变化程度相关。在该麻醉模型中，动脉压不受REGN5381的影响，因为相对于基线的变化和与时间匹配的对照平均动脉压（MAP）的比较没有差异。REGN5381诱导的血液动力学变化不影响器官灌注，因为在给药后2和4小时未观察到肾皮质或肾髓质灌注相对于基线或与时间匹配的对照的变化。此外，在给药后每小时进行评估时，未观察到REGN5381对尿排出量的相关影响。观察到的对REGN5381的反应变化可能与NPR1表达和/或功能的个体间差异有关，归因于每只动物的麻醉准备和麻醉平面，以及犬的机械通气和侧卧式体位。观察到的静脉压降低的幅度与给药后第一小时内心率增加的相关程度相关。这种效应可能是一种代偿性反射心动过速反应，以维持REGN5381反应动物的心输出量。

[0156] 实施例4. 在遥测雄性食蟹猴中评估REGN5381的单次皮下和静脉注射药代动力学和药效学研究

[0157] 本研究的目的是确定单次静脉（IV）推注或皮下（SC）注射REGN5381对遥测雄性食蟹猴的全身血压的影响幅度和持续时间。此外，评估了REGN5381的药代动力学（PK）。

[0158] 将30只雄性食蟹猴分配到6组之一（5只动物/组）（表9）。动物接受对照品或1、5或25mg/kg REGN5381的单次SC注射，或5或25mg/kg REGN5381的单次IV推注。

[0159] 表9.通过皮下或静脉注射施用于雄性食蟹猴的REGN5381的单剂量药物代谢动力学和药效学研究的研究设计

组别	测试物质	给药途径	剂量水平 (mg/kg/天)	浓度 (mg/mL)	动物数量(雄性)
1	对照(生理盐水)	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

[0161] IV,静脉;SC,皮下

[0162] 注:通过皮下注射或静脉内缓慢推注以1mL/kg的量施用REGN5381。

[0163] 注:计算SC组的CL/F,计算IV组的CL。

[0164] 使用来自SC组的AUC<sub>last</sub>计算生物利用度,并将其与相同剂量水平的IV剂量组比较。

[0165] 在给药前至第56天,从所有动物采集血液样品,用于测定血清中REGN5381总浓度。

[0166] 在给药前和选定的时间点从所有动物收集处理成血浆或血清的血液样品,用于分析包括环鸟苷酸(cGMP)和/或N末端前心房钠尿肽(NTproANP)在内的生物标志物。也在这些时间点进行cGMP的尿分析。

[0167] 在预处理期间(第-1周)记录一次心电图(ECG)和血压,持续24小时,给药后4周(给药前3小时至第28天),然后从第29天至第56天每周记录一次,持续24小时。

[0168] 结果

[0169] 以1至25mg/kg的剂量水平施用REGN5381后,总REGN5381的浓度-时间曲线的特征是初始短暂的分布期(IV)或吸收期(SC),然后是高浓度的线性 $\beta$ 消除期(与靶介导清除(TMC)途径的饱和一致),以及反映TMC的低浓度下的非线性消除期。主要在5和25mg/kg剂量水平观察到线性 $\beta$ 期。

[0170] 在IV给药5和25mg/kg的REGN5381后,C<sub>max</sub>以与剂量成比例的方式增加,如几乎相等的剂量标准化C<sub>max</sub>值所示。

[0171] IV施用后,在两个剂量水平上观察到与剂量成比例的暴露增加(AUC<sub>last</sub>)的偏差,表明倾向于非线性动力学。总体清除率(CL)随着剂量增加和相关浓度增加而略微降低,从5mg/kg组的4.80mL/天/kg降低至25mg/kg组的3.95mL/天/kg。

[0172] 在1、5和25mg/kg SC剂量的REGN5381后,观察到C<sub>max</sub>的剂量成比例增加。在1.41至1.81天的范围内观察到平均t<sub>max</sub>。在三个SC给药组中,观察到大于剂量比例的暴露增加(AUC<sub>last</sub>)。5和25mg/kg SC后计算的生物利用度基本上是完整的。

[0173] 在浓度-时间曲线的末期评估消除半衰期(t<sub>1/2</sub>)。在相同剂量水平下,IV和SC剂量之间的评估通常是相当的。在25mg/kg组中,在整个研究期间观察到线性 $\beta$ 期,估计半衰期为约9-11天。

[0174]

表 10. 在雄性食蟹猴中单次皮下或静脉注射 REGN5381 后血清中总 REGN5381 的平均药代动力学参数

参数	单位	REGN5381 1 mg/kg SC			REGN5381 5 mg/kg SC			REGN5381 25 mg/kg SC			REGN5381 5 mg/kg IV			REGN5381 25 mg/kg IV		
		N	平均值	SD	N	平均值	SD	N	平均值	SD	N	平均值	SD	N	平均值	SD
C <sub>max</sub>	µg/mL	5	13.6	1.84	5	70.1	13.0	5	358	56.0	5	83.9	7.69	5	425	30.0
C <sub>max</sub> /剂量	(µg/mL)/(mg/kg)	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 <sub>max</sub>	天	5	1.81	0.842	5	1.61	0.548	5	1.41	0.547	5	1.00	0.0138	5	1.00	0.0130
AUC <sub>last</sub>	天(µg/mL)	4	108	16.0	5	1090	90.9	5	6110	1290	3	1050	72.1	3	6220	410
AUC <sub>last</sub> /剂量	天(µg/mL)/(mg/kg)	4	108	16.0	5	219	18.2	5	244	51.6	3	210	14.4	3	249	16.4
CL/F (CL)	mL/天/kg	4	7.44	1.57	5	4.57	0.408	5	4.15	1.25	3	4.80	0.330	3	3.95	0.350
终末 t <sub>1/2</sub>	天	4	5.66	0.959	5	6.34	1.46	5	11.2	2.87	3	4.12	0.107	3	9.20	3.05
V <sub>ss</sub>	mL/kg	0	NC	NC	0	NC	NC	0	NC	NC	3	49.7	3.84	3	56.0	7.62
生物利用度			--		104	98.2						--			--	

\*AUC, 浓度-时间曲线下面积; AUC<sub>last</sub>, 从时间零至最后检测浓度的时间计算的AUC; C<sub>max</sub>, 峰值浓度; CL, 总体清除率; CL/F, 表现总体清除率; IV, 静脉; N, 动物数量; NC, 未计算; SC, 皮下; SD, 标准差; t<sub>max</sub>, 到达C<sub>max</sub>的时间; 终末 t<sub>1/2</sub>, 终末消除半衰期; V<sub>ss</sub>, 稳态下的分布容积; --, 不适用

[0175] 所有给药组均存在与REGN5381相关的血压降低。三个剂量水平的总体变化幅度相似;然而,在25mg/kg SC和IV给药组的整个记录期(56天)观察到持续的低血压作用,而在1

和5mg/kg给药组的记录期(56天)结束时平均血压趋向于与对照组相当的值。

[0176] 值得注意的是,REGN5381诱导了全身血压的显著和持续降低,没有证据表明在遥测雄性食蟹猴中出现不良低血压(即晕厥、运动改变、死亡)。

[0177] 实施例5. 一项随机、双盲、安慰剂对照、两部分单剂量递增研究,旨在评估REGN5381在人体中的安全性、耐受性和药代动力学

#### [0178] 研究目的

[0179] 本研究的主要目的是评估单次静脉(IV)给药REGN5381在健康血压正常和其他健康高血压成人中的安全性和耐受性。

[0180] 本研究的次要目的是评估单次IV给药REGN5381对健康血压正常和健康高血压成人血压(BP)和心率(HR)的影响;评估单次IV给药REGN5381对心脏每搏输出量(SV)的影响;评估单次IV给药REGN5381的药代动力学(PK);以及评估单次静脉注射REGN5381的免疫原性。

[0181] 本研究的探索性目的是评估单次IV给药REGN5381对指示靶点参与的钠尿肽受体1(NPR1)激动作用的血清和尿药效学(PD)生物标志物的作用;评估单次IV给药REGN5381对与心肌和肾功能相关的其他探索性生物标志物的影响;评估单次IV给药REGN5381对心脏收缩性、心脏性能呼吸变化和全身血管阻力(SVR)的影响;评估单次IV给药REGN5381对利尿和尿钠排泄的影响;评估单次IV给药REGN5381对BP变异性的影响;评估接受单次IV给药REGN5381的受试者的晶体液推注的血液动力学效应;并开展与REGN5381、NPR1和BP的安全性和有效性相关的探索性研究。

#### [0182] 研究终点

[0183] 本研究的主要终点是随着时间的推移单次IV剂量施用REGN5381或安慰剂后治疗紧急不良事件(TEAE)的类型、发生率和严重程度。

[0184] 本研究的次要终点为:收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、平均动脉压(MAP)、脉压(PP)、心率(HR)和每搏输出量(SV)随时间相对于基线的变化;给药后前24小时内SBP、DBP、MAP、PP、HR和SV相对于基线的最大变化;在给药后0-24小时、24-48小时和48-72小时测量的24小时平均SBP、DBP、MAP、PP和HR相对于基线的变化;REGN5381的浓度随时间的变化;以及随时间产生抗药物抗体(ADA)和滴度的受试者的数量和百分比。

[0185] 本研究的探索性终点为:尿液cGMP和血浆cGMP随时间推移相对于基线的变化;在剂量施用之后,肾素、醛固酮、N末端(NT)-proBNP和心肌肌钙蛋白T随时间推移相对于基线的变化;血压导数(dP/dt)随时间推移相对于基线的变化;排出量和钠清除率随时间推移尿相对于基线的变化;BP变异性随时间推移相对于基线的变化;以及在晶体液推注后,SV、每搏输出量变化量(SVV)、SBP、DBP和MAP随时间推移的变化。

#### [0186] 研究变量

[0187] 研究变量包括:i)人口统计学和基线特征(基线特征将包括每名受试者的标准人口统计学(例如,年龄、种族、体重、身高等)、病史和用药史);ii)安全性变量(安全性变量包括示波BP和HR(半卧位和直立)、遥测、其他生命体征(例如,温度和呼吸频率)、身体检查、心电图(ECG)、实验室评估(血液学、化学和尿分析)和不良事件(AE));iii)药代动力学变量(PK变量是总REGN5381的浓度和时间);iv)免疫原性变量(免疫原性变量为ADA状态和滴度、标称采样时间/访视);以及v)药效学和其他生物标志物变量(药效学变量来源于连续脉搏

波形分析(PWA),包括SBP、DBP、MAP、心输出量、SV、SVV、SVR和dP/dT;待评估的其他生物标志物变量包括24小时尿cGMP、血浆cGMP、血浆肾素、血浆醛固酮,血浆N末端-(NT)-proBNP和血浆高灵敏度心肌肌钙蛋白T(hs-cTnT);生物标志物变量是在收集样品的每个时间点尿液(24小时尿cGMP)或血浆(cGMP、肾素、醛固酮、NT-proBNP和血浆hs-cTnT)中每种生物标志物的浓度。

[0188] 研究设计:

[0189] 本研究是REGN5381的一项两部分、1期、随机、双盲、安慰剂对照的首次人(FIH)研究。本研究的目的是测试单次递增IV剂量的REGN5381(一种针对NPR1的激动剂mAb)在18至55岁的健康血压正常和其他健康高血压成人中的安全性、耐受性、PK和PD。本研究将在2个连续部分(A部分和B部分)中进行。A部分构成了一项在健康血压正常和健康高血压成人中REGN5381的单次递增剂量(SAD)研究,以评估一系列剂量的安全性和耐受性。B部分包括评估在选定剂量的REGN5381后IV液体推注的血液动力学反应。

[0190] 研究的A部分和B部分均包括筛选期(第-32天至第-3天)、有条件的抗高血压清洗重筛选期(第-25天至第-3天,如下所述)、住院治疗/观察期(第-2天至第4天)、有条件的长期安全住院监测期(第5天至第21天)和门诊随访期(第8天/第2周至第78天/第12周)。在研究第1天,受试者将以6:2比例随机接受的REGN5381(在2°C至8°C的温度下储存)或安慰剂。研究药物将作为IV输注施用(图7)。

[0191] 初次筛选时采用由单一抗高血压药物组成的稳定抗高血压方案的受试者可能有资格参与研究,但必须经历至少1周或5个半衰期(以较长者为准)的清洗期,但不得超过最多8周。如果受试者在筛选访视期间服用超过1种抗高血压药物或SBP超过140mm Hg,则不符合清洗条件。接受抗高血压清洗的受试者将会被要求报告任何新的症状,包括家庭BP评估(如果可用)。受试者可能被要求重新开始抗高血压治疗,并且将会被视为无资格参与研究。在这些受试者已经适当地清洗掉抗高血压药物之后,他们必须返回进行清洗重筛选访视,以在随机分组之前确认参与研究的资格。受试者将保持其抗高血压药物直至住院治疗/观察期结束。受试者可以在住院出院后的任何时间恢复其家庭抗高血压药物。

[0192] 在筛选时使用BP和HR测量值确定研究资格:

[0193] • A部分:早期队列的收缩压(SBP)  $\geq 100$ mm Hg和 $\leq 140$ mm Hg以及舒张压(DBP)  $\geq 60$ mm Hg和 $\leq 90$ mm Hg,可选择采用SBP  $\geq 130$ mm Hg和 $\leq 165$ mm Hg以及DBP  $\geq 60$ mm Hg和 $\leq 100$ mm Hg的受试者入组(如下所述);以及

[0194] • B部分:SBP  $\geq 130$ mm Hg和 $\leq 165$ mm Hg以及DBP  $\geq 60$ mm Hg和 $\leq 100$ mm Hg。关于调整入组,可能会调整A部分的血压纳入标准(将基于对汇总安全性数据(包括早期队列的血压和心率)的审查,根据以下标准做出决定:

[0195] • 三名或更多名受试者从第1天(给药前)起SBP或DBP降低至基线以下超过15mmHg,且持续超过2小时;

[0196] • 三名或更多名受试者的HR均 $> 110$ bpm,并且从第1天(给药前)起HR增加至基线以上至少20bpm,且持续超过2小时;或者

[0197] • 两名或更多名受试者需要救援疗法。

[0198] 如果满足调整入组的标准,则将降低剂量水平,或者如果已经处于最低剂量,则重复。

[0199] 本研究的显著排除标准包括心血管疾病史(包括卒中/短暂性脑缺血发作[TIA])、心血管疾病的风险因素(包括糖尿病、高脂血症)、严重高血压史(SBP>180或DBP>110mmHg)和不明原因晕厥史、自主神经功能障碍或神经病史。

[0200] 签署知情同意书的合格受试者将在研究第-2天入住住院治疗/观察单位。住院期间,将使用自动振荡BP记录,连续PWA和心脏遥测相结合的方式监测受试者。治疗与预期或非预期药理学相关的任何体征或症状的现场准备将包括以下内容:训练有素的工作人员、2根IV导管(其中一根≤18规格)在药物输注前放置并放置至少4小时,以及随时可用的救援疗法。

[0201] 详细的血液动力学评估将在住院治疗/观察期间进行。在住院治疗/观察期间,向受试者提供固定钠饮食(每天约3,000mg),并记录液体摄入总量和尿排出量。在第-1天收集体位BP,以确保在接受REGN5381之前的最佳液体状态。所有受试者第-1天和第1天的总口腔液体摄入量将保持在固定范围内。

[0202] 研究药物给药后的住院治疗/观察期至少为72小时。提供严格的出院和研究停止标准,以确保出院前血液动力学效应得到充分恢复。出院后,受试者将参加一系列每周门诊随访评估,以监测安全性和PK,最长持续11周。如果需要额外的监测,可在长期住院患者安全监测期间完成这些评估。长期住院安全监测或门诊期间没有饮食限制。

[0203] 仅对于B部分,将对健康高血压成人进行液体推注。下面提供了队列和剂量递增的进一步描述。B部分的剂量选择将根据A部分最高剂量队列截至第8天的可用PD和安全性结果进行选择。

[0204] 队列10和11中的受试者将在施用研究药物后2至24小时接受500至1,000cc晶体液推注,以评估血液动力学反应。将确定整个队列中相同的晶体液推注(crystalloid fluid bolus)的确切容量和时间。

[0205] 本FIH研究的预期总持续时间约为65周,包括A部分和B部分。

#### [0206] 研究药物

[0207] REGN5381药物产品作为12.5mg冻干粉末提供于无菌一次性小瓶中。A部分和B部分受试者将接受单剂量REGN5381 IV或匹配的安慰剂IV,使用注射泵以20mL/hr的速率通过IV输注施用。A部分的预期剂量水平将包括0.3mg IV至计划最大剂量100mg IV。B部分中的剂量水平不会超过A部分中测试的剂量,并且将基于A部分数据的评审。匹配REGN5381的安慰剂以冻干粉末形式提供,装在无菌一次性小瓶中。

#### [0208] 研究队列,A部分

[0209] 将入组最多72名血压正常或健康高血压受试者,并将其随机分入最多9个连续递增剂量队列,包括0.3mg至100mg的剂量。队列8和9是不超过100mg剂量的任选组。基于队列1至7的累积PD和安全性数据,这些其他队列可用于更好地理解REGN5381的安全性、耐受性、药代动力学(PK)和药效学(PD)。

[0210] 每个剂量队列将由8名受试者组成:6名随机接受单次IV给药的REGN5381,2名随机接受安慰剂。为了优化安全性,每个队列中的前2名受试者(1名接受活性成分:1名接受安慰剂)将作为前哨组入组,并将在其余受试者之前至少48小时给药。剩余受试者只有在前哨队列中的两名受试者已安全完成至少48小时的安全性评估、已审查安全性数据并记录继续研究药物给药的决定后才会给药。如果重复或降低剂量水平,则不需要前哨受试者。

[0211] 根据以下剂量递增标准,计划各队列之间剂量递增3至3.3倍。可以基于在每个队列中观察到的PD反应调整剂量递增;可以保证小于3至3.3倍增量的剂量水平间递增。最大剂量不超过100mg。

[0212] 在整个研究期间,将对可用的PD和安全性数据进行持续审查,以告知剩余队列的评估持续时间和剂量递增。队列5将在轻度高血压受试者中重复 $\leq 10$ mg剂量。队列8的剂量选择将在队列1至7的完整PD和第8天的安全性数据审核完成后进行。队列8截至第8天的数据将告知队列9的剂量选择。

[0213] 剂量递增队列将按如下方式入组:

[0214] • 队列1:REGN5381 0.3mg IV (或安慰剂),单剂量

[0215] • 队列2:REGN5381 $\leq 1$ mg IV (或安慰剂),单剂量

[0216] • 队列3:REGN5381 $\leq 3$ mg IV (或安慰剂),单剂量

[0217] • 队列4:REGN5381 $\leq 10$ mg IV (或安慰剂),单剂量

[0218] • 队列5:REGN5381 $\leq 10$ mg IV (或安慰剂),单剂量

[0219] • 队列6:REGN5381 $\leq 30$ mg IV (或安慰剂),单剂量

[0220] • 队列7:REGN5381 $\leq 100$ mg IV (或安慰剂),单剂量

[0221] • 队列8 (可选的):REGN5381 $\leq 100$ mg IV (或安慰剂),单剂量

[0222] • 队列9 (可选的):REGN5381 $\leq 100$ mg IV (或安慰剂),单剂量

[0223] 研究队列,B部分

[0224] 多达40名高血压但其他方面健康的受试者将入组多达11个队列(队列11是可选的)。在每个队列中,10名受试者随机接受单次IV给药的REGN5381,以及10名受试者随机接受安慰剂。B部分中的这两个队列不需要前哨组。

[0225] B部分中的剂量水平将不会超过A部分中测试的剂量,并且将基于最高剂量队列中截至第8天的可用安全性和PD数据的审查。可选队列可用于评估来自先前在A部分和B部分中评估的范围的另外的剂量水平。B部分中包含的最终可选队列将基于A部分和B部分的可用数据,包括可用安全性和PD数据。剂量队列将按如下方式入组:

[0226] • 队列10:REGN5381 $\leq 100$ mg IV,单剂量 (或安慰剂)+IV液体推注

[0227] • 队列11 (可选的):REGN5381 $\leq 100$ mg IV,单剂量 (或安慰剂)+IV液体推注

[0228] B部分的目的是表征选定REGN5381的剂量后对IV液体的血液动力学反应。

[0229] 研究的A部分和B部分均包括筛选期、有条件的抗高血压清洗重筛选期、住院治疗/观察期、有条件的长期安全住院监测期和门诊随访期。

[0230] 剂量递增,A部分

[0231] 入组将开始进入剂量队列1。在第8天审查安全性数据后,决定升级到下一个更高剂量队列。将对汇总的安全性数据进行审查,以确定下一个队列中待测试的剂量水平,包括可能的剂量递增、剂量水平降低、重复剂量水平、使入组适应更高的BP范围或完全停止研究药物给药并进入B部分。

[0232] 作为总体安全性数据审查的一部分,根据下述个体受试者出院标准,如果3名或更多名接受REGN5381的受试者需要延长血液动力学效应监测超过72小时,则不会发生剂量递增。

[0233] 个体受试者出院标准,A部分和B部分

[0234] 在给药后72小时,受试者将接受示波BP和HR评估,并且必须满足以下所有标准以符合门诊监测的出院条件:

[0235] • 平均SBP $\geq$ 90mm Hg;以及

[0236] • 第1天(给药前)的平均HR $\leq$ 100bpm或HR小于或等于基线1.2x( $\leq$ 120%),以较高者为准;

[0237] • 没有需要持续住院监测的未解决的不良事件(注:如果受试者在给药后72小时内出现未解决的不良事件,并且满足前2个标准并且可以在门诊环境中适当处理不良事件,则受试者可以出院)。

[0238] 如果3名或更多名接受REGN5381的受试者需要长期监测,则可选择重复剂量队列、降低剂量水平和/或调整A部分剩余部分的入组。或者,可以结束部分A的剂量递增,并且研究可以进行到B部分。计划队列之间的剂量递增间隔为3至3.3倍,但是该间隔可以缩短。如果决定调整轻度高血压受试者的入组,则剂量水平将降低,或者如果已经处于最低剂量,则使用调整后的入组标准重复。

[0239] 在给药后72小时不符合个体受试者出院标准的受试者将被留院进行长期安全住院监测。每隔一天对受试者进行一次评估,直至其能够满足出院标准。可能需要对当前概述的剂量、给药方案和/或临床或实验室程序(包括PK和生物标志物采样的时间)进行修改,以实现研究目的的科学目标和/或确保对研究参与者进行适当的安全监测。因此,根据新获得的数据,可以允许对当前概述的剂量和/或给药方案进行一些改变,但最大剂量不得超过方案中当前概述的剂量。方案参数内允许的变化包括可能的剂量递增、剂量水平降低、重复剂量水平、将调整入组至更高的BP范围(如上所述),或完全停止研究药物给药并进入B部分。也可省略整个队列(如有必要),可能要求队列之间暂停,以审查可用的PK、PD和安全性数据。

[0240] 由于住院治疗/观察期间不活动或低钠饮食继发BP降低,一些受试者在72小时可能不符合出院标准;因此,将根据接受REGN5381并完成第8天安全性评估的受试者做出有关剂量递增的决定。重复剂量水平或降低至较低剂量的灵活性允许对血液动力学效应的程度和持续时间以及其他安全参数进行额外表征。

[0241] 研究结束(EOS)定义为最后一位受试者完成最后一次研究访视、退出研究或失访(即,不再联系研究受试者)的日期。

[0242] 研究受试者

[0243] 最多112名成人(A部分最多72名,B部分最多40名)将在本研究中入组,随机分组和给药。鉴于A部分中的剂量递增停止标准基于对REGN5381的反应(安全性数据包括但不限于BP和HR)以及A部分和B部分中的可选队列,可能需要更少的受试者来满足研究目的。本研究的合格受试者包括18至55岁(含)的健康男性和女性,BP正常或轻度升高。

[0244] 受试者入选标准:

[0245] • 初始筛选时年龄在18至55岁(含)的男性或女性受试者;

[0246] • 在初始筛选访视时,受试者双臂之间测量值的SBP和DBP必须在20mmHg以内;

[0247] • 对于A部分,在初始筛选时SBP为100-140mm Hg(含),DBP为60-90mm Hg(含),筛选期可重复一次(注:A部分的BP纳入标准可根据对初始筛选时SBP为130-165mmHg(含)和DBP为60-100mmHg(含)的汇总安全数据的审查进行调整,在筛选期间可重复一次);

- [0248] • 对于B部分,在初始筛选时SBP为130-165mmHg(含),DBP为60-100mmHg(含),在筛选期可重复一次;
- [0249] • 在研究药物施用之前,在研究第1天SBP至少为100mmHg;
- [0250] • 初始筛选时静息HR为45-100bpm(含),筛选期可重复一次;
- [0251] • 初始筛选时体重指数为18-33kg/m<sup>2</sup>(含);
- [0252] • 根据病史、身体检查、生命体征测量和在筛选时和/或在研究药物施用之前进行的ECG,受试者被判定为健康良好;
- [0253] • 根据筛选期间获得的实验室安全性测试,受试者健康状况良好(注:任何临床上不显著的异常实验室结果(例如,肌酸磷酸激酶在正常上限的3倍以内;怀疑是由于剧烈的体力活动引起的),筛选期间可重复一次;如果重复测试在正常范围内或在正常范围外无临床意义,受试者可入组);
- [0254] • 研究药物施用之前,妊娠测试必须为阴性;
- [0255] • 愿意并能够遵守临床访视和研究相关程序;以及
- [0256] • 提供研究受试者签署的知情同意书。
- [0257] 受试者排除标准:
- [0258] • 需要用2种或更多种抗高血压药物治疗的活动性高血压;重度高血压病史(SBP>180,或DBP>110mm Hg);a)高血压单药治疗受试者可在至少1周(或至少5个半衰期,以较长者为准)的清洗期后入组;如果受试者正在接受超过1种抗高血压药物高剂量β受体阻滞剂治疗,或在筛选访视期间SBP超过140mm Hg,则受试者不符合清洗条件;b)受试者可以清洗出以下定义的单药剂低剂量β受体阻滞剂治疗:定义为≤100mg美托洛尔总日剂量,≤25mg卡维地洛总日剂量,≤50mg阿替洛尔总日剂量,≤80mg普萘洛尔总日剂量,≤5mg比索洛尔总日剂量或等效剂量的其他β受体阻滞剂;c)在剂量施用之前,清洗期不能超过8周;受试者出院时可恢复降压治疗;
- [0259] • 雷诺病(Raynaud's)病史、可能妨碍佩戴无创PWA设备的任何既往手指损伤或PWA信号确定的双侧手指动脉脉搏不足;
- [0260] • 无法解释的晕厥或自主功能障碍病史;
- [0261] • 可能混淆研究结果或因参与研究而对受试者造成额外风险的具有临床意义的心血管(包括卒中/TIA)、呼吸系统、肝脏、肾脏、胃肠道、内分泌、血液、精神或神经系统疾病病史;
- [0262] • 任何体检结果和/或可能混淆研究结果或因参与研究而对受试者造成额外风险的任何疾病史;
- [0263] • 筛选访视后30天内因任何原因住院(>24小时);
- [0264] • 在筛选前3个月内停止吸烟的当前或以前的尼古丁使用(可燃香烟或电子尼古丁递送系统,包括电子烟),或尼古丁替代疗法的当前使用者;在筛选时和研究药物施用前,可替宁(cotinine)试验必须为阴性;
- [0265] • 筛选访视前一年内的药物或酒精滥用史;在筛选时和研究药物施用前,药物和酒精测试必须为阴性;
- [0266] • 在筛选时或在研究药物施用前3个月内存在人免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV)血清阳性,除了如通过聚合酶链式反应或Western印迹所证

明的假阳性筛选测试;记录12个月持续病毒学反应的HCV血清阳性受试者仍可入组;

[0267] • 过去5年内的任何恶性肿瘤,已经被切除的皮肤基底细胞癌或鳞状上皮细胞癌或子宫颈或肛门的原位癌除外,且3年内无转移性疾病的证据;

[0268] • 筛选时的估算肾小球滤过率(使用肾脏病饮食改良研究公式(Modification of Diet in Renal Disease study equation)或慢性肾脏病流行病学协作公式(Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation)) $<60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ ,在筛选期间可重复一次;

[0269] • 可能对受试者构成重大风险的对蛋白质治疗剂、制剂成分或过敏史有急性超敏反应和/或过敏反应史;

[0270] • 在当前试验的筛选访视前90天内或至少5个半衰期(以较长者为准)内(对于试验用生物药物)或至少30天内(对于其他试验用产品)或6个月内(对于免疫疗法),参与评价另一种试验用药物或疗法的任何临床研究;

[0271] • 在EOS访视的研究药物治疗期间不愿意使用以下形式的医学上可接受的节育的性活跃男性:输精管切除术并经医学评估证明手术成功或坚持使用避孕套;在EOS访视期间禁止精子捐献;

[0272] • 妊娠或哺乳期女性;

[0273] • 在初始剂量/首次治疗开始之前、在研究期间以及EOS访视期间不愿意实施高效避孕的具有生育能力的女性(WOCBP,月经初潮后直至绝经后具有生育能力的女性(无其他医疗原因连续12个月没有月经),除非永久绝育,采用永久绝育方法,包括子宫切除术、双侧输卵管切除术和双侧卵巢切除术);高效的避孕措施包括:i)在筛选前开始2个或更多个月经周期,稳定使用与排卵抑制相关的组合的(含有雌激素和孕激素)激素避孕药(口服、阴道内、经皮)或仅含孕激素的激素避孕药(口服、注射、植入),ii)宫内节育器;宫内激素释放系统,iii)双侧输卵管结扎术,iv)接受输精管切除的伴侣(前提是接受输精管切除的男性伴侣是WOCBP研究参与者的唯一性伴侣,并且接受输精管切除的伴侣已获得手术成功的医学评估),和/或v)禁欲(仅当定义为在与研究药物相关的整个风险期期间避免异性性交时才被视为是高度有效的方法;需要根据临床试验的持续时间和受试者偏好和惯常生活方式来评估禁欲的可靠性;定期禁欲(日历法、症状体温法、排卵后法)、戒断法(性交中断法)、仅杀精子剂和哺乳期闭经法不是避孕可接受的方法;以及女性避孕套和男性避孕套不得配合使用)。

[0274] 研究治疗

[0275] REGN5381或安慰剂将以如下所示的单次固定递增IV剂量给药:

[0276] • REGN5381药物产品以12.5mg冻干粉末形式提供,装在无菌一次性小瓶中。

[0277] • 匹配REGN5381的安慰剂以冻干粉末形式提供,装在无菌一次性小瓶中。

[0278] A部分受试者将接受单剂量REGN5381 IV或匹配的安慰剂IV,使用注射泵以20mL/hr的速率通过IV输注施用。A部分的预期剂量水平将包括0.3mg IV直至10mg IV的最大剂量。

[0279] B部分受试者将接受单剂量REGN5381 IV或匹配的安慰剂IV,其剂量水平是使用注射泵以20mL/hr的速率通过IV输注施用。B部分中的剂量水平不会超过A部分中测试的剂量,并且将基于A部分数据的审查。将在B部分中使用500至1,000cc的市售晶体液推注。

[0280] 在研究进行期间,将审查初始队列的安全性和耐受性数据以及PK/PD数据。后续队列的剂量可基于来自先前队列的新数据进行调整。受试者将不接受高于方案中指定的剂量,但可接受较低剂量或先前施用于另一队列的剂量,以确认安全性和耐受性和/或进一步评价PD效应。

#### [0281] 研究方法

[0282] 将在整个住院监测期和门诊随访期测量血压。使用两种不同的方法评估血压:自动示波上臂袖带和无创手指袖带。自动示波BP测量用于评估BP的纳入/排除,并作为每次访视时整个研究的安全措施。手指袖带系统采用光电容积描记法和容积钳法相结合的方式采集BP数据,以在住院治疗/观察期间连续捕获脉搏波数据,用于非侵入性血液动力学监测。连续BP测量将允许在剂量施用之后的最初72小时进行精确的PD评估。本研究中提及的所有示波BP和HR测量均应按4次连续测量进行,间隔不超过约1分钟。最后3次测量的中值BP和HR测量值应用作该时间点的值。应记录每次评估使用的受试者手臂(左臂与右臂)。

[0283] 将在住院治疗/观察期间和长期住院安全监测期间评估双导联HR遥测。

[0284] 饮食和水摄取:受试者将在住院监测期内维持固定钠饮食。受试者每天在所有正餐和零食中摄入约3000mg钠。受试者将在第-1天和第1天维持固定的水摄入。每隔6小时记录一次口腔液体摄入量和排尿量(urine voids)。在第-1天开始尿液收集之前,将要求受试者排空其膀胱。尿液收集和液体容量限制的开始时间应与第1天给药的开始时间相匹配(±2小时)。对于每个间隔,记录开始/停止时间,记录进液量和出液量。在第-1天和第1天,液体摄入量固定为约2.5L。

[0285] B部分液体推注挑战:根据A部分的PK/PD的确定,在研究药物施用后2-48小时,施用500-1,000cc的单次晶体液推注(通过IV输注约15分钟)。

[0286] 实验室测试:采集的样品将测试血液化学(钠,钾,氯化物、碳酸氢盐、钙、葡萄糖、白蛋白、总蛋白(血清)、肌酸酐、血尿素氮(BUN)/尿素、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶(LDH)、总胆红素、甘油三酯、尿酸、肌酸磷酸激酶(CPK)、镁);血液学(血红蛋白、血细胞比容、红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、红细胞指数、血小板计数,分类(嗜中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞))和尿液分析(试纸(胆红素、pH、比重、酮,蛋白质)、urinobilogen、亚硝酸盐、RBC血红素、葡萄糖、显微镜(RBC计数、WBC计数、尿液形成元素))。其他实验室测试包括酒精/药物、妊娠、HIV、HBV、HCV、TSH、脂质组、HbA1c、FSH、PD评估、药物浓度、免疫原性和探索性生物标志物。

[0287] 药效学和解释性生物标志物程序:将进行研究评估,以探索REGN5381如何改变健康和高血压但其他健康成人中的NPR1信号传导。具体而言,将探讨NPR1激动剂的作用以及REGN5381对cGMP、尿钠排泄/利尿和心脏功能的影响。

[0288] 另外的生理测量包括24小时尿液收集以评估利尿和尿钠排泄。钠尿肽和NPR1激动剂(例如奈西立肽)对钠和血容量稳态具有重要作用。非临床研究未证实REGN5381对钠或水平衡的影响;然而,测试对人体的影响非常重要。由于这些原因,受试者将在住院监测期间接受固定钠饮食,在研究第-1天和第1天摄入固定的液体,并将记录在每24小时的总摄入和输出情况。这些数据将提供关于REGN5381在健康志愿者中的作用机制的附加数据。在住院监测和门诊随访期间的指定时间点收集生物标志物样品(给药前和给药后)。

[0289] 将进行药效学标志物/生物标志物测量,以确定对NPR1活性、心脏和肾功能或相关

生理和致病过程的生物标志物的影响。研究的生物标志物被认为与指征的病理生理学、靶点参与的证据、REGN5381的作用机制和/或可能的早期毒性迹象相关。生物标志物测量将提供关于REGN5381安全性和有效性的附加信息。这些将包括但不限于心脏损伤的生物标志物(心肌肌钙蛋白)。

[0290] • 心肌肌钙蛋白血浆(高敏心肌肌钙蛋白T(hs-cTnT)是响应心脏活动的的心脏缺血的高敏生物标志物)；

[0291] • cGMP(血浆和尿cGMP是响应于NPR1激动剂的参与的NPR1活性的高度接近的度量)；

[0292] • 钠(尿钠测量肾脏对钠的排泄；已经观察到NPR1的参与增加自然状态(或尿液中钠的排泄)；REGN5381对尿钠随时间的调节是本研究的探索性措施；这些分析的结果将在CSR中报告)；

[0293] • 肾素(血浆肾素测量能够研究REGN5381对其他内源性钠尿激素的影响)；

[0294] • 醛固酮(基线时醛固酮的测量和醛固酮随时间的调节是本研究中的探索性措施；这些分析的结果将在CSR中报告)；

[0295] • NT-proBNP(血浆NT-proBNP是一种生物标志物,可用于研究NPR1的REGN5381激动作用对其可测量的内源性激动剂之一的影响)；

[0296] • 脉搏波形分析(脉搏波形分析允许通过手指袖带获得高级血液动力学参数和连续无创BP；连续高级血液动力学参数包括：SBP、DBP、MAP、心输出量、SV、SVV、dP/dt和SVR；在某些临床情况下,SVV升高伴随静脉压降低；脉搏波形中BP随时间的导数在某些情况下可用于近似心脏收缩性；基于SBP和SV计算全身血管阻力；这些数据将提供健康志愿者以及高血压患者对REGN5381的血液动力学反应的信息)；以及

[0297] • 药物基因组分析(可以收集全血样品用于DNA提取,以鉴定与对REGN5381、其他心力衰竭、高血压和/或慢性肾病相关的临床结果测量和可能的AE的临床或生物标志物反应的基因组关联)。

#### [0298] 统计计划

[0299] 统计分析集包括：i) 功效分析集；ii) 安全性分析集(SAF,包括接受任何研究药物的所有随机受试者；基于接受的治疗(治疗时)；将使用SAF分析治疗依从性/给药和所有临床安全性变量)；iii) 药代动力学分析集(PK分析群体包括接受任何研究药物并且在第一剂研究药物后具有至少1个非缺失结果的所有受试者)；和iv) 免疫原性分析集(ADA分析集,包括接受研究药物并且在第一研究剂量后具有至少1个非缺失ADA结果的所有受试者)。

[0300] 统计方法：本研究中没有正式的主要有效性分析。对于连续变量,描述性统计将包括以下信息：计算中反映的受试者数量(n)、平均值、SD、Q1、中位数、Q3、最小值和最大值。将提供值随时间变化的曲线图以及随时间的变化或百分比变化。对于分类或有序数据,将显示每个类别的频率和百分比。除非另有说明,安慰剂组的受试者将在A部分和B部分的各个队列中进行汇总。

#### [0301] 药代动力学

[0302] 药物浓度数据分析：将测量总REGN5381随时间的浓度。药代动力学参数可包括但不限于以下(以及它们的剂量标准化版本,如果适用的话)：AUC<sub>last</sub>(从时间零至最后阳性浓度的时间计算的曲线下面积(AUC)),AUC<sub>inf</sub>(从时间零外推至无穷大的AUC),C<sub>max</sub>(峰浓

度),  $T_{max}$  (峰浓度的时间),  $T_{last}$  (最后阳性(可定量)浓度的时间) 和CL(清除率)。为了评估这些组中的暴露, 将通过描述性统计总结每个队列随时间推移的总REGN5381浓度和所选的PK参数。这些描述性统计评估将包括几何平均数, 并可包括选定的PK参数的几何平均数的比率, 视情况而定。

[0303] 免疫原性数据分析: 免疫原性将通过观察到的ADA反应来表征: i) 既存免疫反应性(定义为基线时ADA测定反应呈阳性, 且所有给药后ADA结果均为阴性, 或基线时测定反应呈阳性, 且所有给药后ADA测定反应均低于基线滴度水平的9倍); ii) 治疗后出现的ADA反应(定义为当基线结果为阴性时任何剂量后ADA测定反应呈阳性); iii) 治疗增强的ADA反应(定义为当ADA测定中基线呈阳性时, 任何剂量后ADA测定反应呈阳性, 其滴度水平是基线滴度水平的9倍); iv) 最大ADA滴度值(低(滴度 $<1,000$ )/中等( $1,000 \leq \text{滴度} \leq 10,000$ )/高(滴度 $>10,000$ ))。将提供既存、治疗加强和治疗后出现的ADA反应、受试者呈现的ADA滴度、时间点和剂量队列/组的列表。将按照绝对发生率(N)和受试者百分比(%) (按研究队列和ADA滴度水平分组) 评估治疗后出现ADA的发生率。检查药物浓度图, 并评估ADA对受试者PK曲线的影响。可评估ADA对安全性和有效性的影响。

[0304] 药效学和探索性生物标志物数据的分析: PD生物标志物群体将由PK分析集中的所有受试者组成, 其中在基线和至少1个基线后时间点具有至少1个可评估的生物标志物测量。对于包括血浆和尿液cGMP、血浆肾素水平、血浆醛固酮水平、血浆NT-proBNP和hs-cTnT的生物标志物, 将生成以下描述性数据: 基线、按治疗组及总体原始数据。治疗后测量的生物标志物将随着时间的推移进行总结, 相对于基线至每个预定评估时间的变化和/或百分比变化将通过治疗用描述性统计来总结。此外, 对于每次访视, 将生成相对于基线的平均浓度和平均百分比变化。

[0305] 至于评估单次IV给药REGN5381对血压正常和其他健康高血压成人的BP和HR的影响, 以及REGN5381对心脏SV的影响, 每个预定的评估以及SBP、DBP、MAP、PP和HR随时间相对于基线的变化将通过描述性统计数据以及双边90%置信区间(按剂量队列和治疗组) 进行总结。给药后前24小时内SBP、DBP、MAP、PP和心脏SV相对于基线的最大时间匹配变化将按剂量队列、治疗组以局部回归或移动平均值进行报告。SBP、DBP和MAP相对于基线的平均和/或百分比变化将按剂量队列、按治疗组对时间作图。用适当的统计模型定量评估SBP、DBP、SV和PP相对于基线降低的剂量反应。

[0306] 还将对其他探索性终点进行分析。

[0307] 状态和初步结果

[0308] 在A部分的队列1至4中, 32名受试者(25名男性, 7名女性, 年龄20至51岁) 按计划随机分组(REGN5381与安慰剂的比例为6:2), 并且没有受试者中止研究。作为剂量递增的一部分, 当所有受试者在单剂量研究药物(REGN5381或安慰剂) 后完成21天的随访时, 在队列4的EOS访视后进行安全性数据的盲检。当通过IV途径以高达10mg的单剂量施用, 使用研究药物的治疗通常是良好耐受的。没有治疗中断或中止。未报告严重治疗-紧急不良事件(TEAE)、严重TEAE或死亡。13名受试者报告了轻度TEAE(41%), 1名受试者报告了中度TEAE(3%)。在常规尿分析中最常见的TEAE是血尿和脓尿。这些TEAE发生在5名无症状受试者中, 每名受试者具有单一的异常测试结果, 在剂量队列之间没有明显的相关性。1名中度TEAE的受试者, 在第1天输注时出现恶心和呕吐。未观察到症状性低血压和心动过速。在所有4个队

列中,血液学和化学参数无临床显著或剂量依赖性治疗紧急变化。生命体征和任何ECG参数(即,心室率、PR、QRS、QT和RR间期)相对于基线无临床显著异常或剂量依赖性变化。所有4个队列的所有受试者在72小时时满足住院出院标准。

[0309] 开始入组轻度高血压患者,并且迄今为止的结果与健康志愿者中观察到的结果一致。

[0310] 实施例6. REGN5381在健康患者中诱导持续且耐受性良好的全身血液动力学调节

[0311] 背景技术

[0312] 钠尿肽受体1 (NPR1) 是膜结合的鸟苷酸环化酶;NPR1激动作用通过cGMP介导的对血管内容积、血管舒张、尿钠排泄和利尿的作用改变血压 (BP)。NPR1被钠尿肽 (NP) 激活; NPR1和NP由于在流体稳态和钠平衡中的作用而成为心力衰竭 (HF) 患者的治疗靶点。即时研究报告了REGN5381(一种NPR1激动剂抗体)的生成、临床前表征和首次人体 (FIH) 评估。

[0313] 方法

[0314] 使用VelocImmune®技术平台分离REGN5381。在小鼠和食蟹猴中进行体内临床前药理学实验。在一项正在进行的1期、双盲、安慰剂对照、两部分单剂量递增研究中,该研究设计用于评估REGN5381的安全性、耐受性和药代动力学/药效学(实施例5;NCT04506645), 32名健康成人按6:2进行随机分配接受单剂量IV REGN5381 (0.3、1、3或10mg) 或IV安慰剂。

[0315] 结果

[0316] 在REGN5381给药后,在血压正常的NPR1人源化小鼠中观察到持续的剂量依赖性的收缩压 (SBP) 降低 (~ 12mm Hg), 当与SOC口服治疗剂组合时,具有加合效应。在高血压NPR1人源化小鼠中,REGN5381 25mg/kg诱导持续的SBP降低 (~ 30mm Hg)。在血压正常的食蟹猴中,REGN5381降低了SBP (10-15mm Hg), 高剂量 (25mg/kg SC和IV) 具有中等效果,在研究期间 (56天) 持续。在正在进行的FIH研究中,REGN5381在给药后12-24小时使SBP降低6-9mm Hg,所有剂量队列的尿排出量没有变化。SBP的降低与血浆cGMP的增加有关。没有报告严重不良事件,并且最常见的研究药物相关的治疗紧急不良事件 (TEAE) 是体位性头晕,在3个不同剂量队列的3名受试者中报告。其他研究药物相关的TEAE包括心悸和头痛,各报告2名受试者。

[0317] 结论

[0318] 临床前和首次人体研究结果表明,NPR1激动剂REGN5381可提供持续的血液动力学效应,且没有证据表明血压正常的健康志愿者会出现不良低血压。

[0319] 实施例7. REGN5381人体评估

[0320] 设计一项1期、双盲、安慰剂对照、两部分单剂量递增研究以评估REGN5381在健康成人 (18-55岁) 中的安全性、耐受性和药效学/药代动力学。

[0321] 参与者以6:2随机分配接受单剂量静脉内REGN5381 (0.3、1、3、10、30或100mg) 或静脉内安慰剂。在第1天施用研究药物后,参与者在第4天一直留在诊所中,以便仔细监测血液动力学。第4天,参与者在出院前接受安全评估。研究的持续时间基于所有剂量队列的血清中REGN5381浓度的预测血液水平;研究访视的结束不早于施用研究药物后21天进行。本研究的主要终点是随着时间的推移单次静脉内剂量施用REGN5381或安慰剂后TEAE的类型、发生率和严重性。

[0322] 下表11呈现了根据静脉治疗组 (合并的安慰剂、REGN5381 10mg、REGN5381 30mg或

REGN5381 100mg) 经由脉搏波形分析评估的脉压相对于基线的平均变化的数据。脉压相对于基线的平均变化以24小时内的平均值表示。

[0323] 表11. 脉压 (PP) 平均变化

治疗组	研究天数	受试者数量	PP 相对于基线的变化	PP 的标准误
血压正常的合并安慰剂 (N=12)	第 1 天	12	1	1.2
血压正常的合并安慰剂 (N=12)	第 2 天	12	-1.4	1.99
血压正常的合并安慰剂 (N=12)	第 3 天	12	0.4	1.56
[0324] 10 mg IV (N = 6)	第 1 天	6	-0.54	2.65
10 mg IV (N = 6)	第 2 天	6	-1.95	3.5
10 mg IV (N = 6)	第 3 天	6	-2.68	2.92
30 mg IV (N = 6)	第 1 天	6	-1.67	1.33
30 mg IV (N = 6)	第 2 天	6	0.69	2.62
30 mg IV (N = 6)	第 3 天	6	2.39	3.39
100 mg IV (N = 6)	第 1 天	6	-4.05	1.88
100 mg IV (N = 6)	第 2 天	6	-9.6	2.26
100 mg IV (N = 6)	第 3 天	6	-6.72	2.1

[0325] 在3天的监测过程中, 单次施用后, 与安慰剂相比, REGN 100mg IV 显示出脉压的大量和显著的降低。

[0326] 本公开的范围不限于本文所述的具体实施例。实际上, 除了本文描述的那些之外, 根据前述描述和附图, 本公开的各种修改对于本领域技术人员而言将变得显而易见。这些修改旨在落入所附权利要求的范围内。

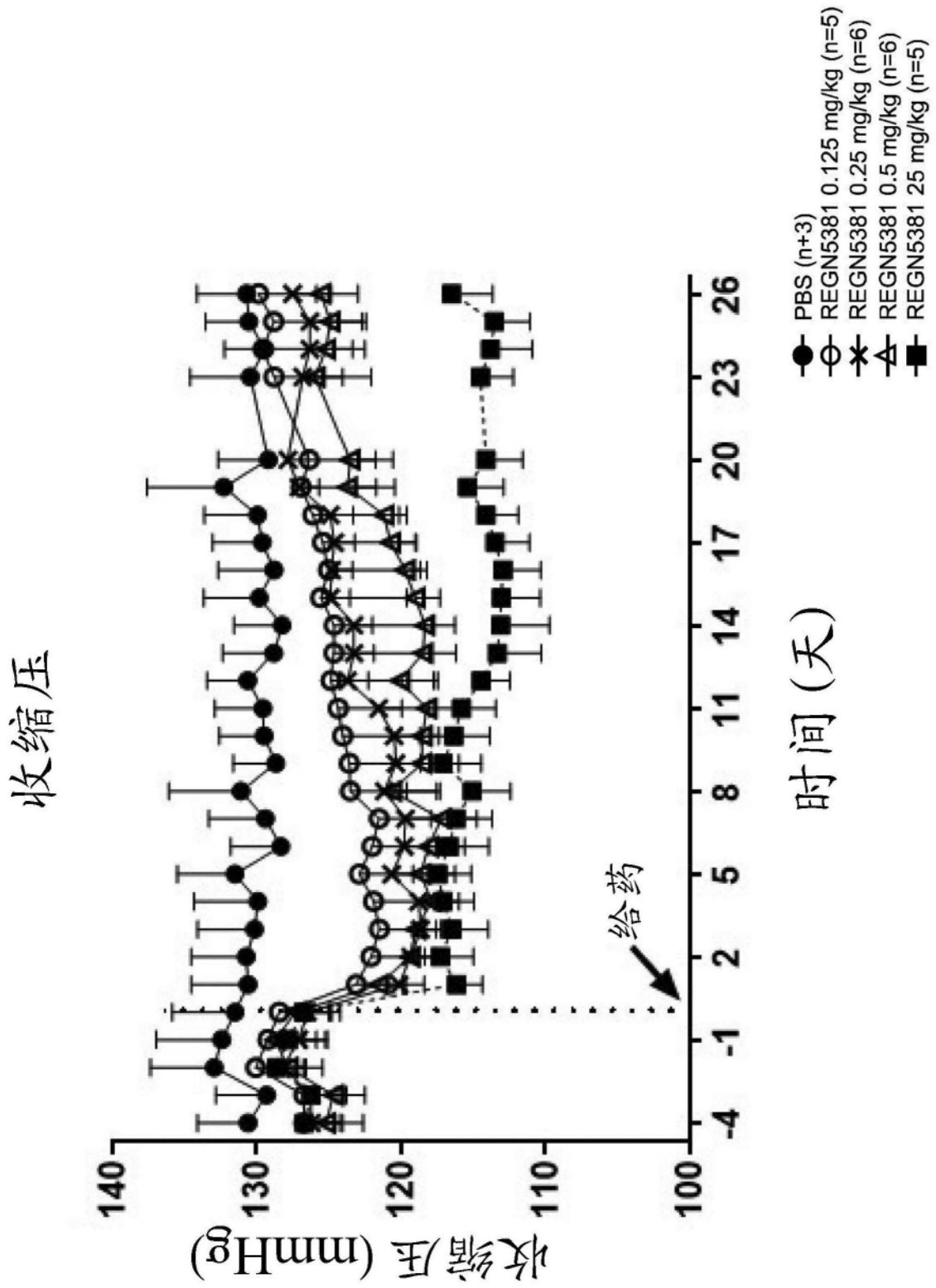


图1A

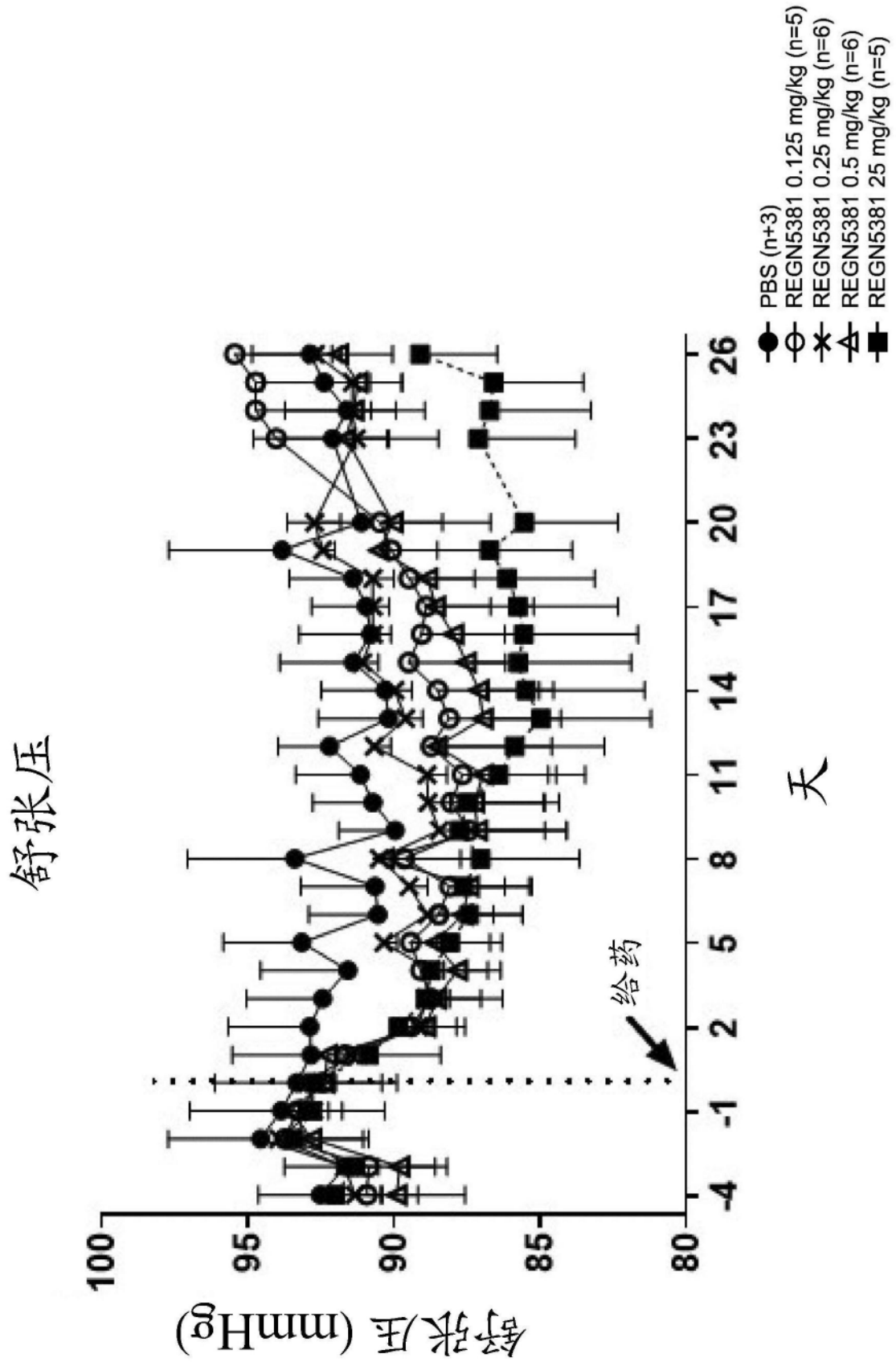


图1B

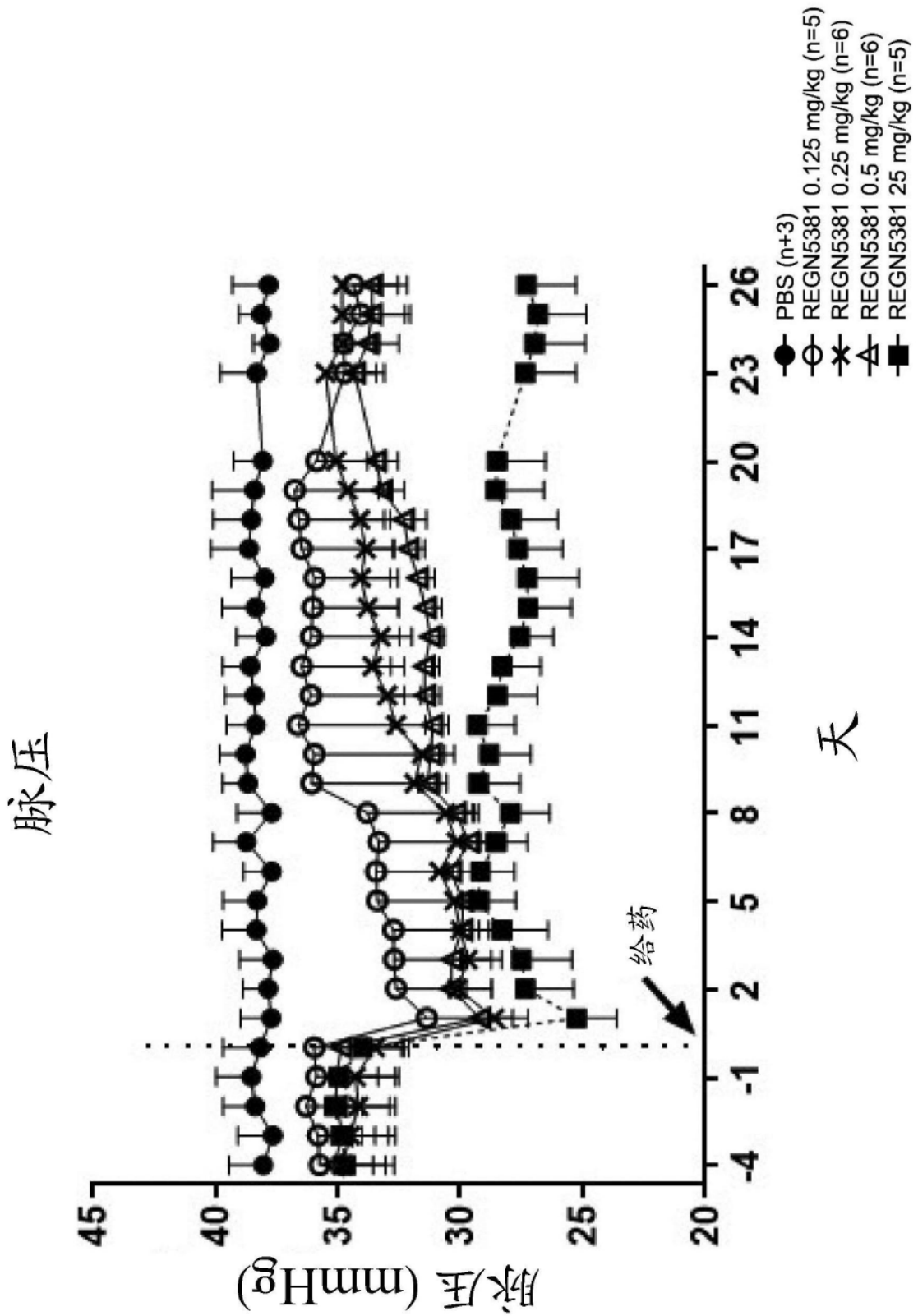


图1C

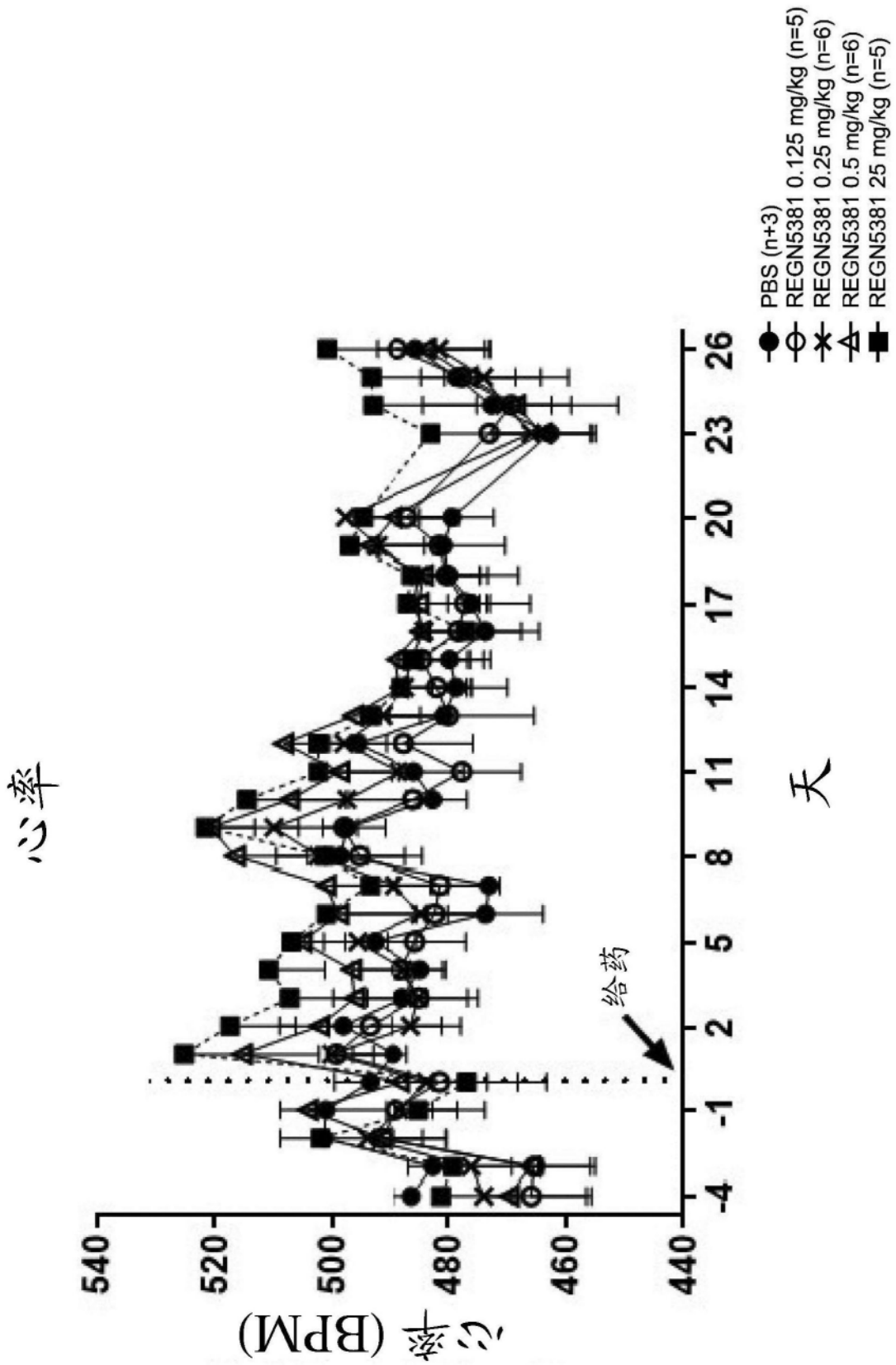


图1D

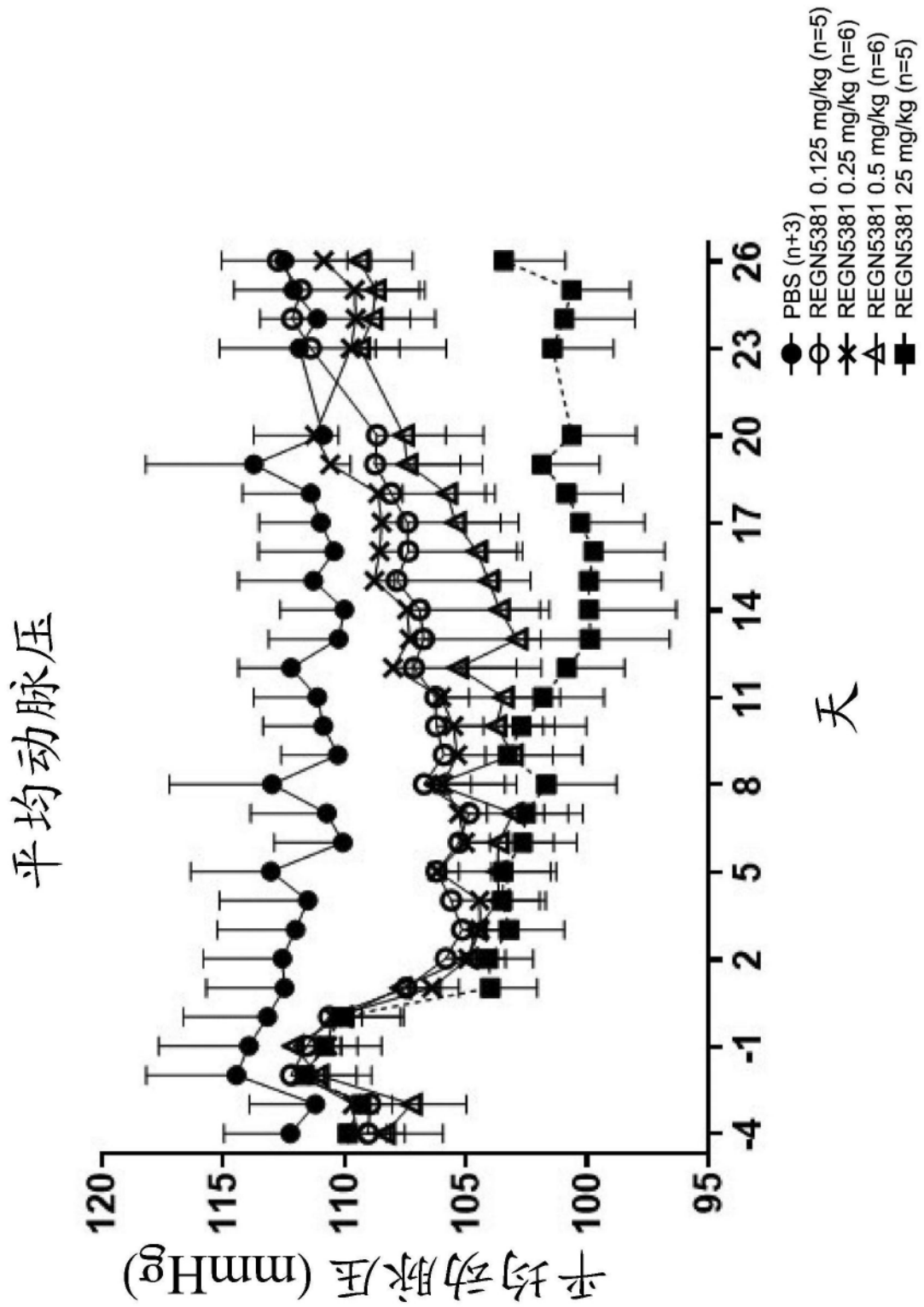


图1E

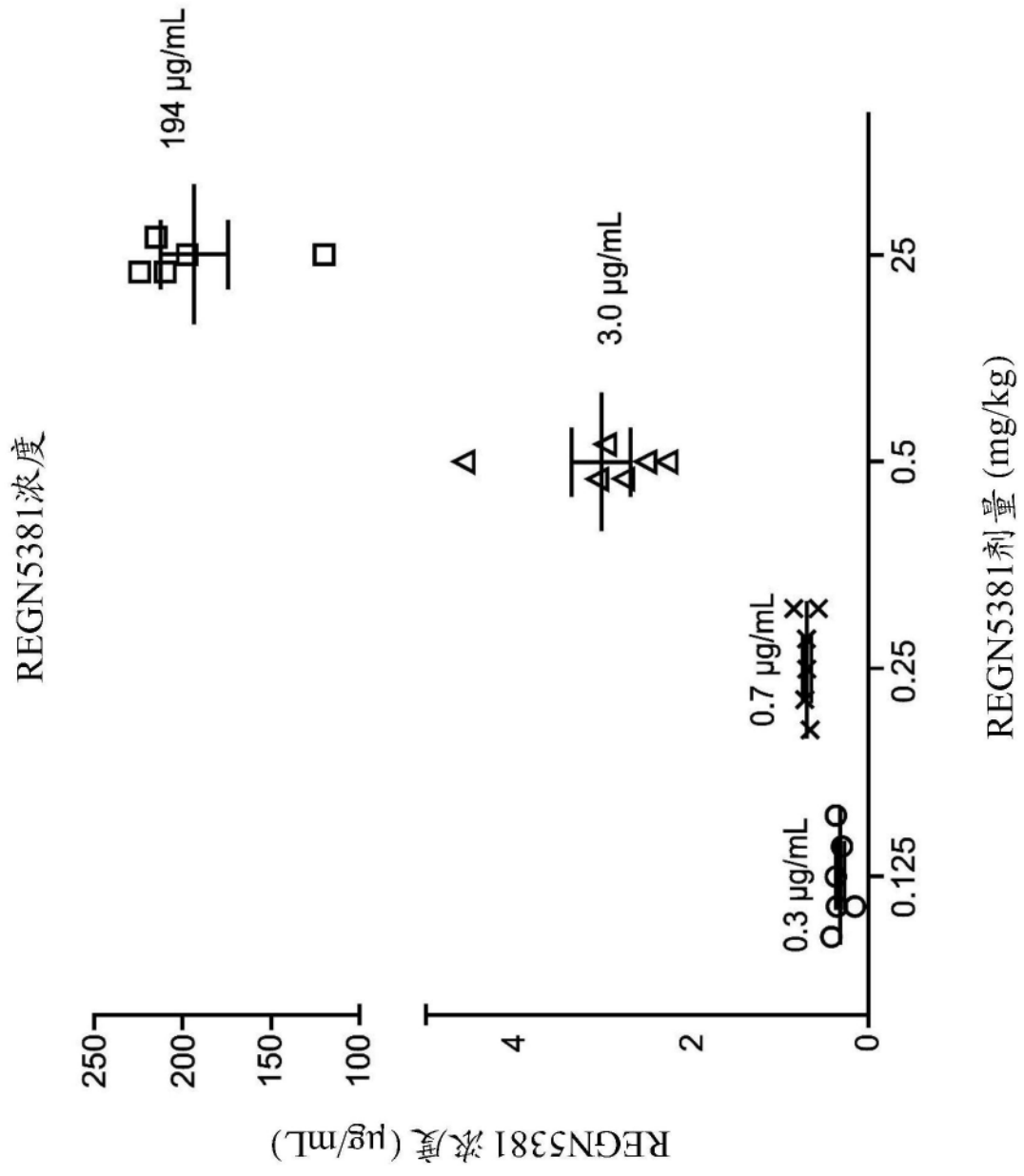


图2

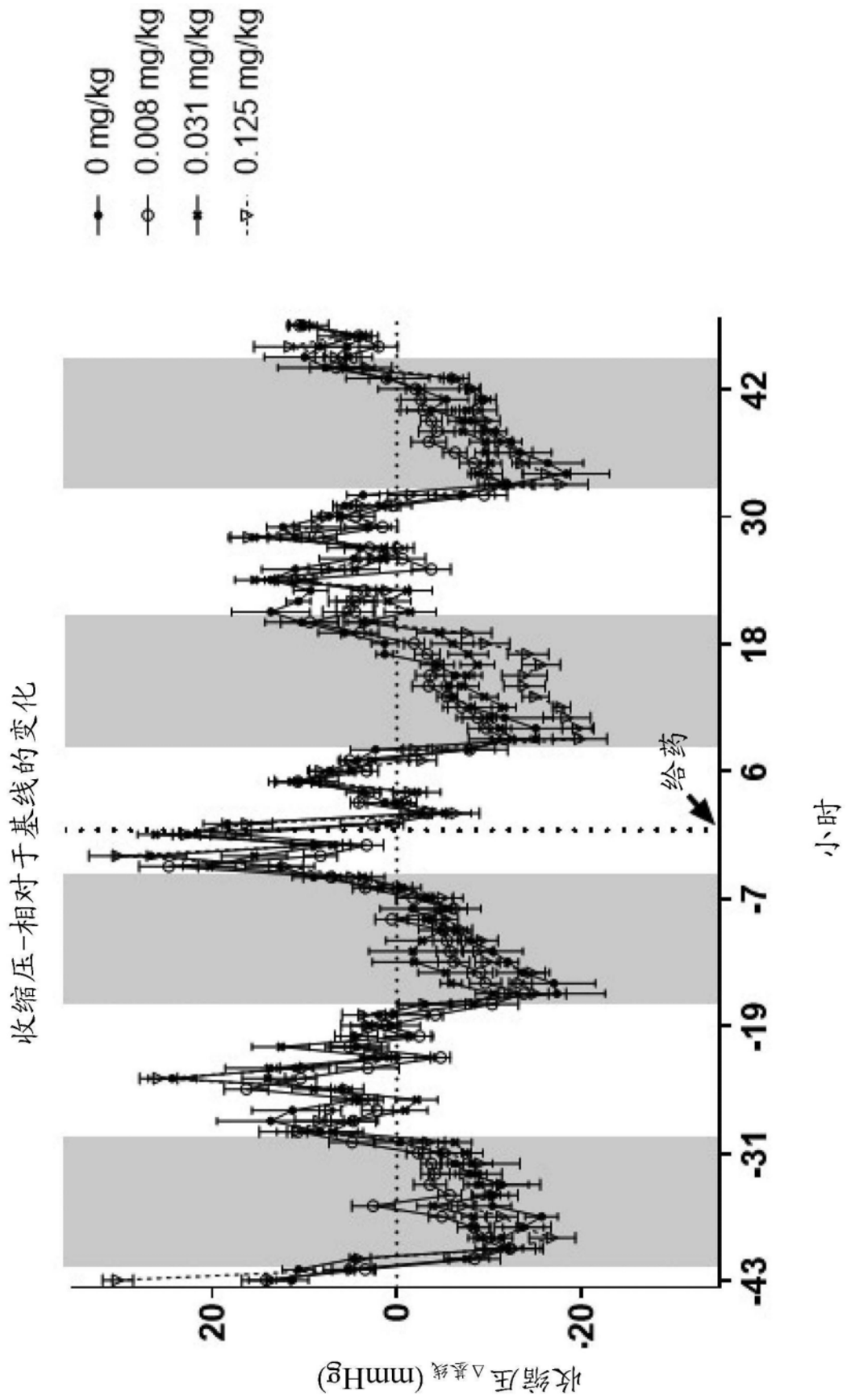


图3A

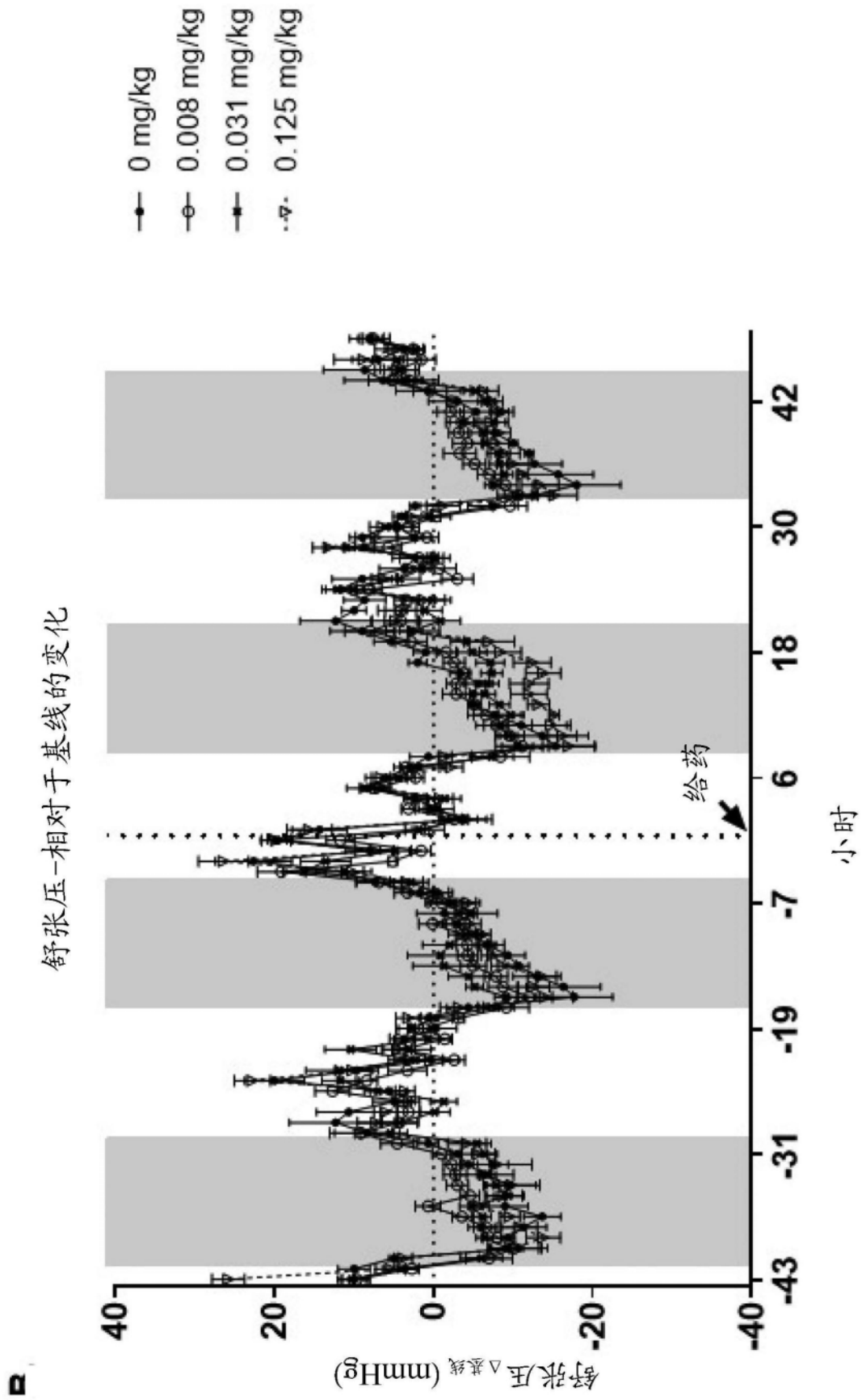


图3B

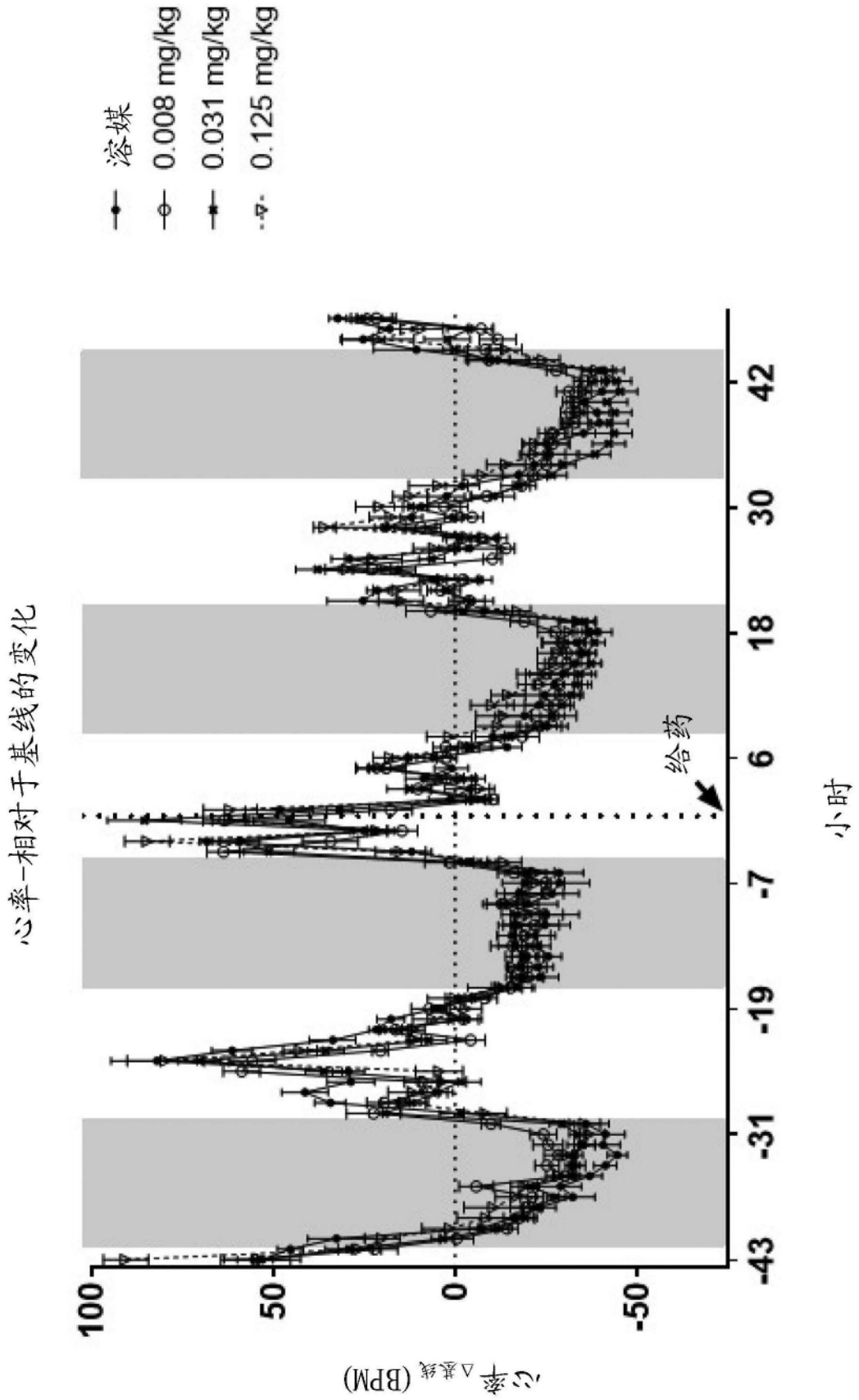


图3C

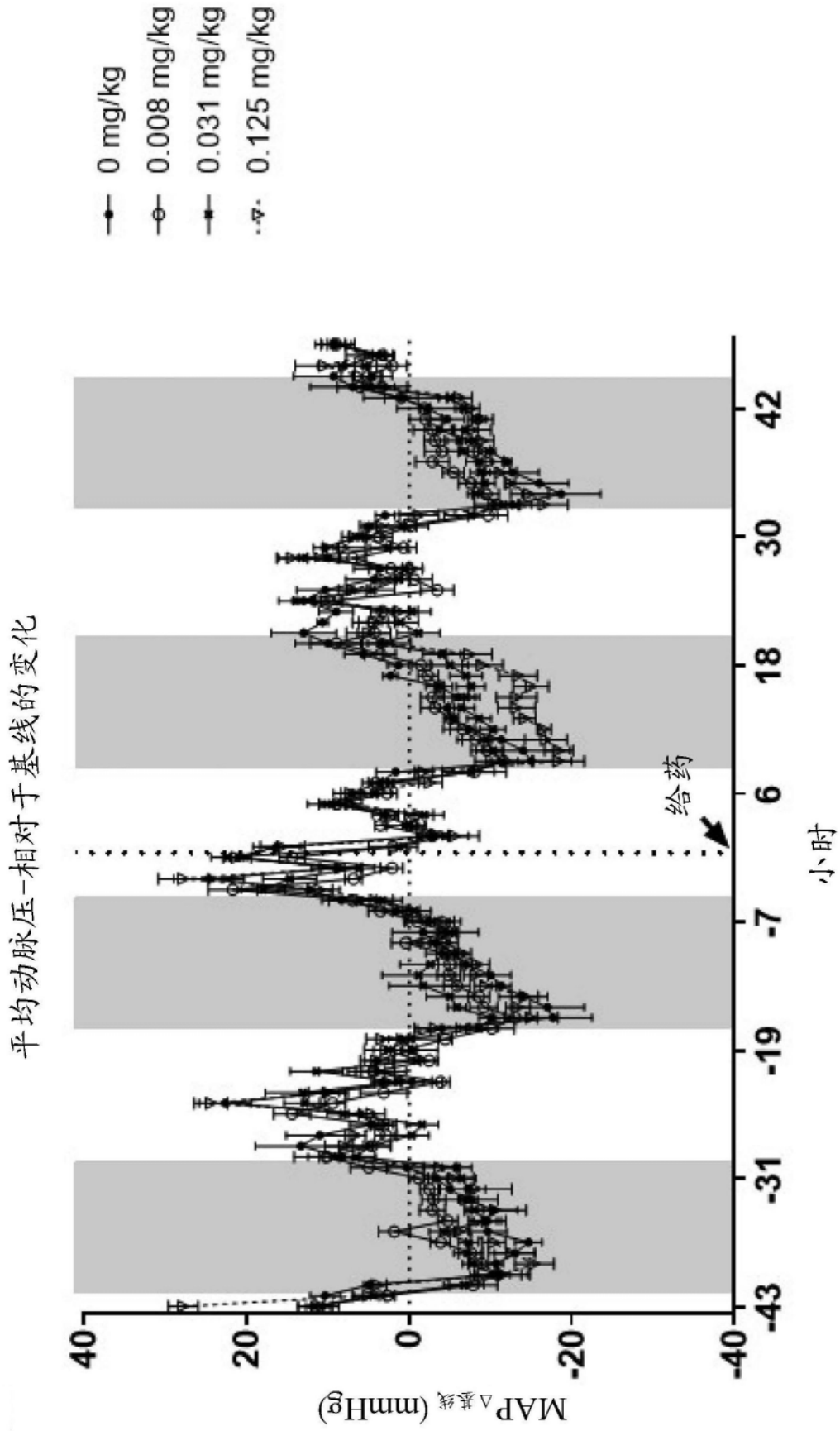


图3D

相对于基线中心静脉压的个体变化

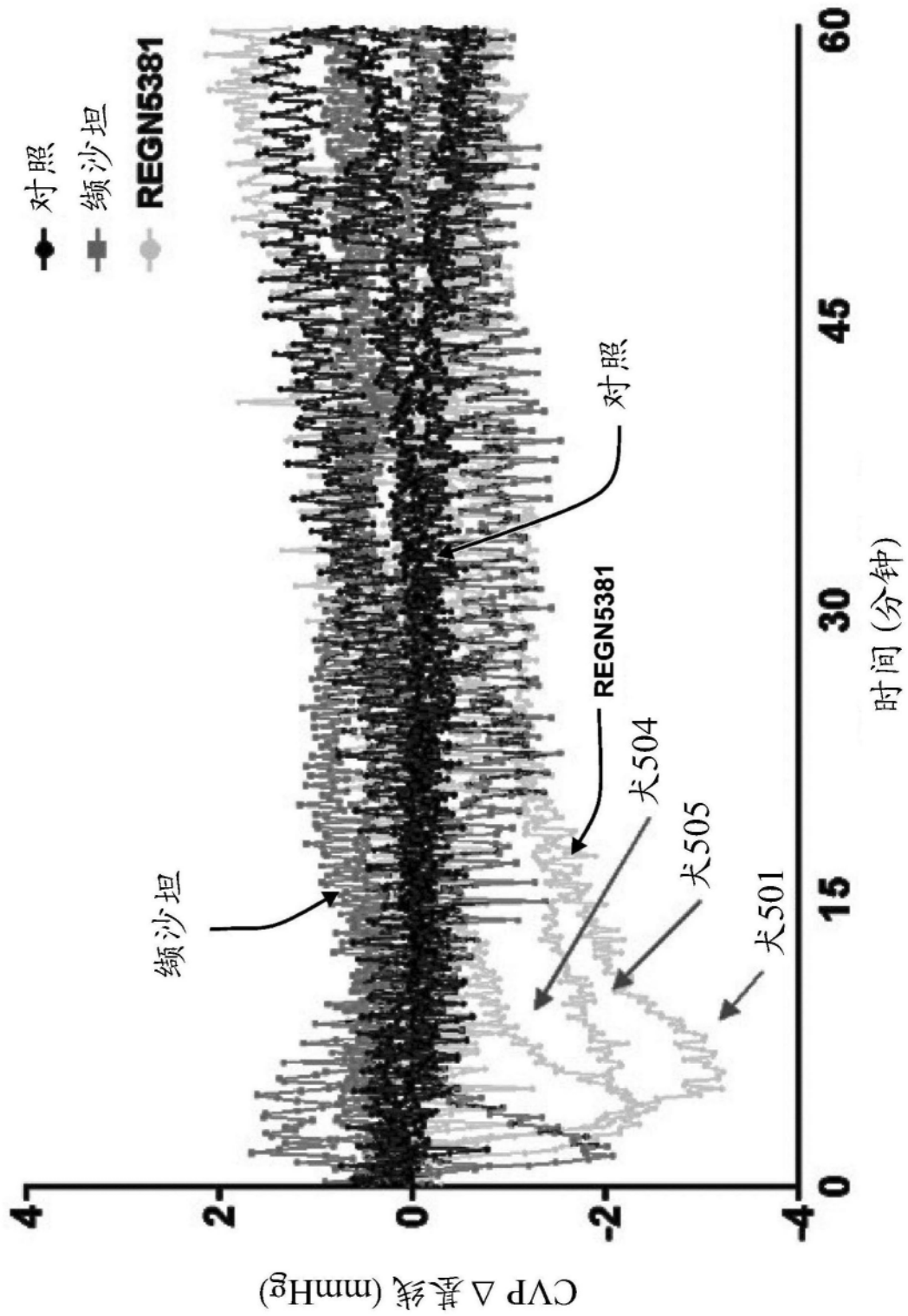


图4A

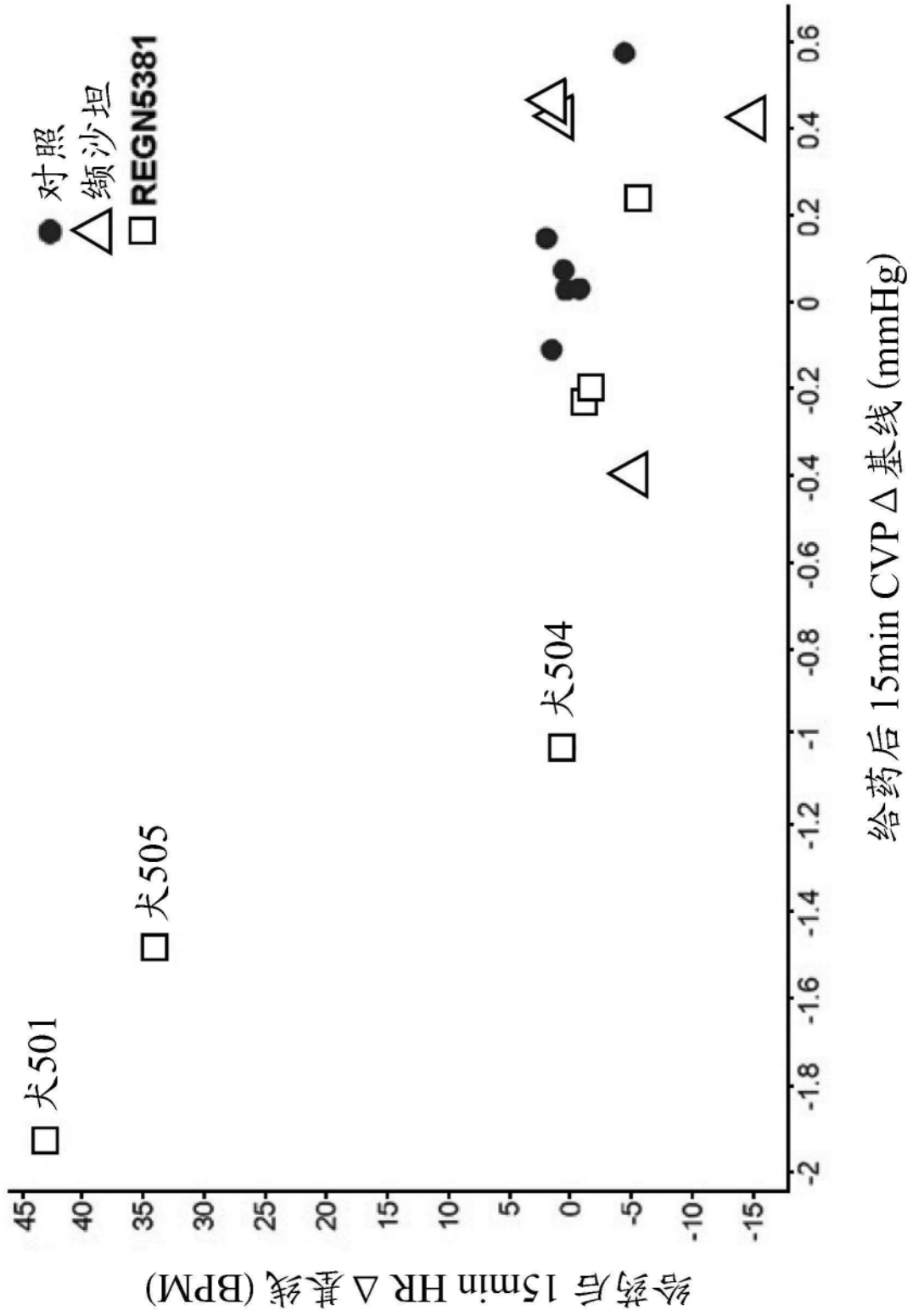


图4B

相对于基线左室舒张末期压的平均变化

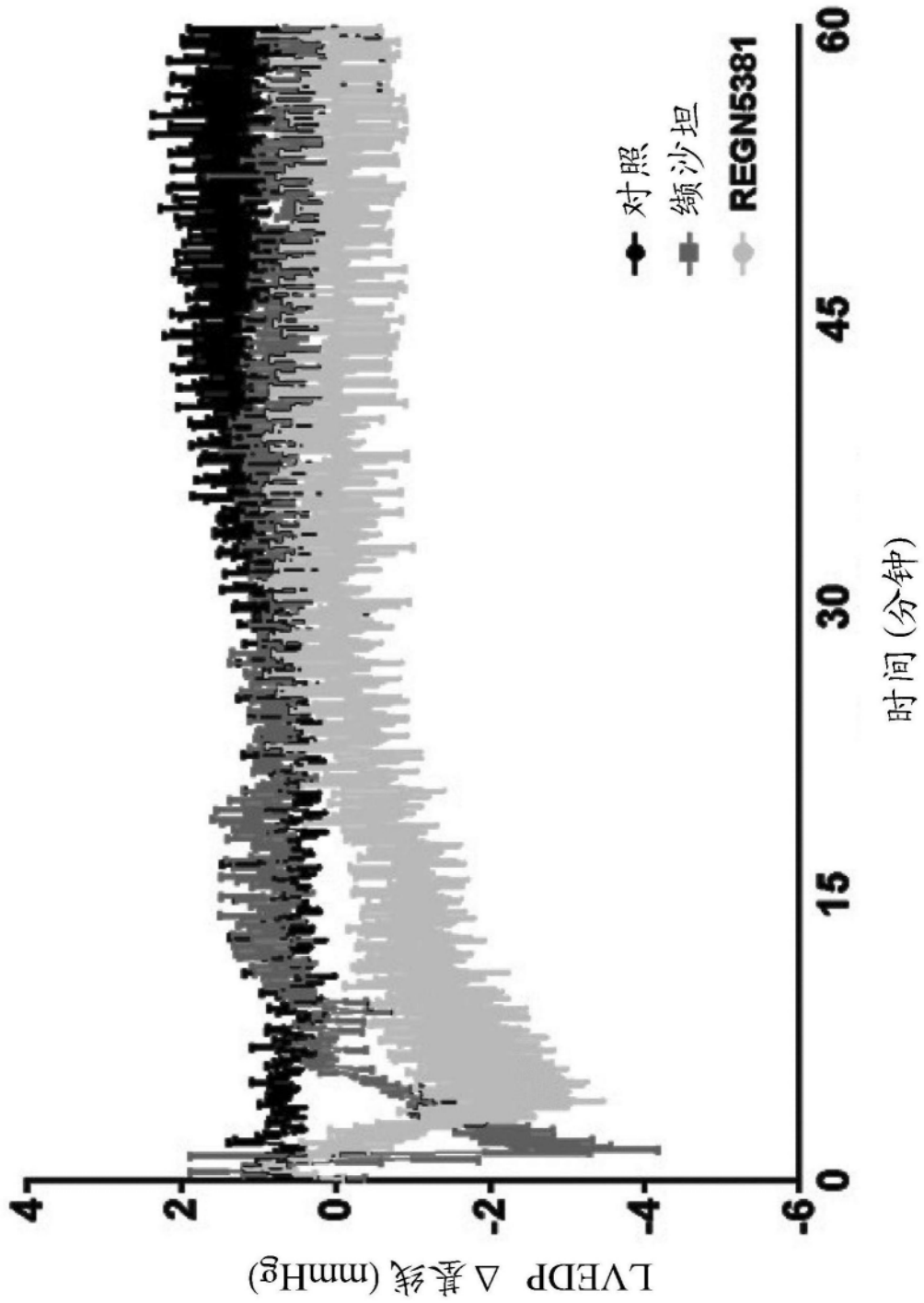


图5

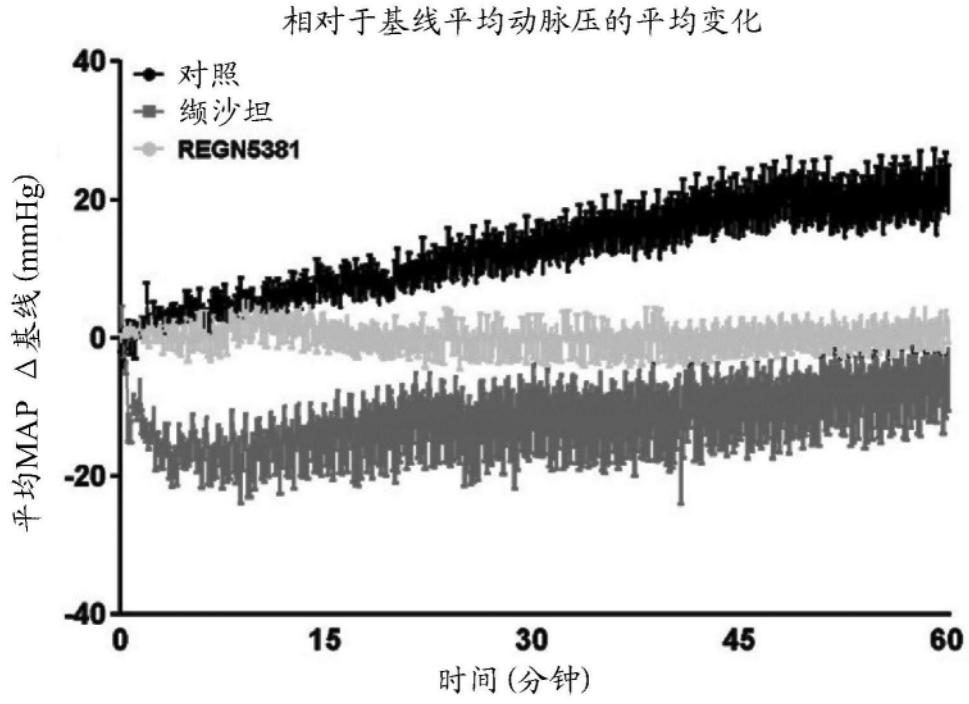


图6A

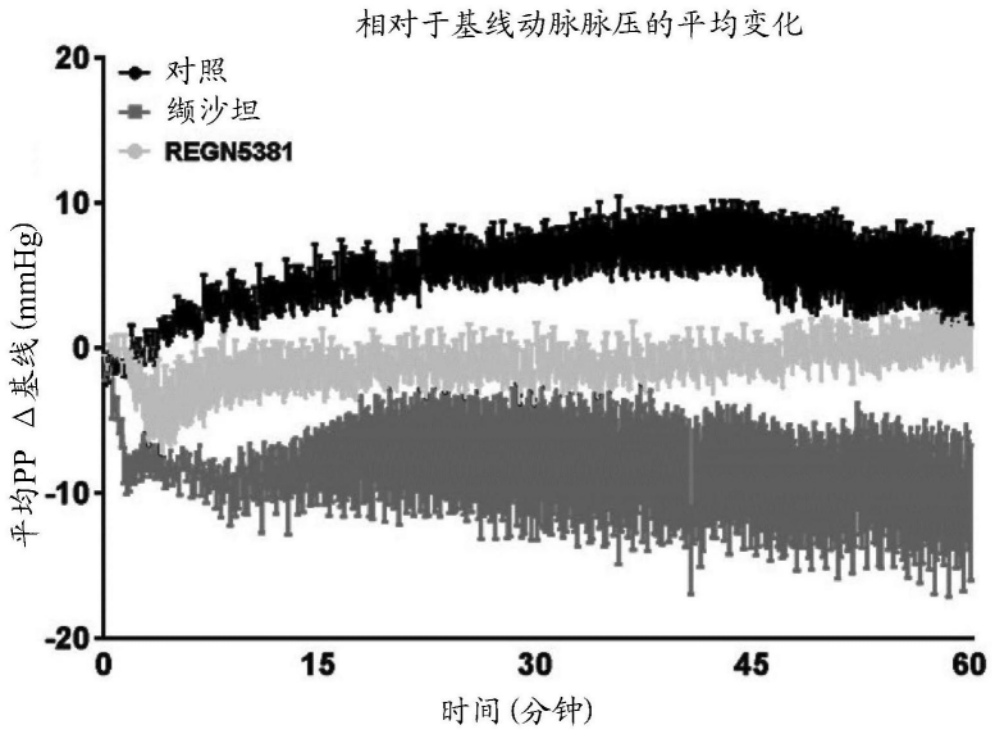


图6B

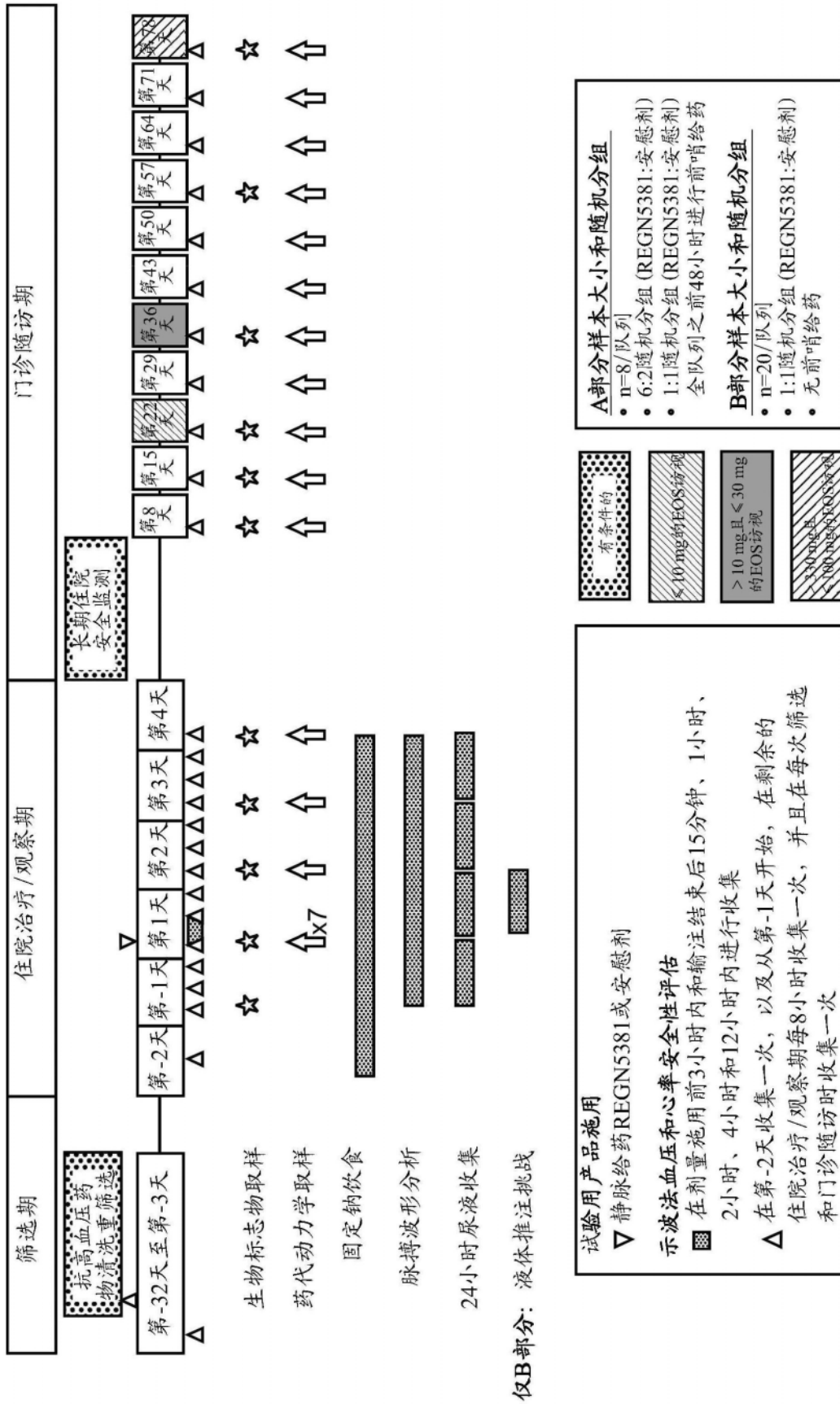


图7