

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **037526**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2021.04.08**

(21) Номер заявки  
**201690754**

(22) Дата подачи заявки  
**2014.10.10**

(51) Int. Cl. **C07K 16/40** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 3/06** (2006.01)

**(54) ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРА PCSK9 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ**

(31) **61/890,154; 61/923,103; 61/955,514;  
62/004,620; 62/025,104; 14306221.4;  
62/054,571; 14306584.5**

(32) **2013.10.11; 2014.01.02; 2014.03.19;  
2014.05.29; 2014.07.16; 2014.07.31;  
2014.09.24; 2014.10.09**

(33) **US; US; US; US; US; EP; US; EP**

(43) **2016.10.31**

(86) **PCT/US2014/060109**

(87) **WO 2015/054619 2015.04.16**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**САНОФИ БАЙОТЕКНОЛОДЖИ  
(FR); РИДЖЕНЕРОН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:  
**Баккара-Дине Мари, Бессак Лоранс  
(FR), Чаудхари Умеш (US), Анотэн  
Коринн (FR), Порди Роберт К.,  
Сасьела Уилльям Дж., Швеммер Гайп  
Дэниел А. (US)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

(56) DAVID SULLIVAN ET AL.: "Effect of a Monoclonal Antibody to PCSK9 on Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Statin-Intolerant Patients", JAMA, vol. 308, no. 23, 19 December 2012 (2012-12-19), page 2497, XP55136453, ISSN: 0098-7484, DOI: 10.1001/jama.2012.25790 page E1, paragraphs Context, Conclusion page E1, paragraph Intervention page E2, left-hand column, last paragraph - middle column, paragraph 2nd page E7, middle column

COSTET P.: "PCSK9 inhibitors as LDL cholesterol-lowering agents: Rationale, concerns and preliminary outcomes", DRUGS OF THE FUTURE, PROUS SCIENCE, ES, vol. 37, no. 5, 1 May 2012 (2012-05-01), pages 331-341, XP009163740, ISSN: 0377-8282, DOI: 10.1358/DOF.2012.37.5.1790302 page 333, right-hand column, paragraph first full page 337, left-hand column, paragraph 3rd full - last paragraph

WO-A1-2010077854

WO-A1-2014194111

(57) Изобретение относится к способам лечения гиперлипидемии у пациентов, которые не получают терапию статинами. Способы по настоящему изобретению включают введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. В определенных вариантах осуществления ингибитор PCSK9 представляет собой антитело против PCSK9, такое как иллюстративное антитело, обозначаемое в настоящем описании как mAb316P.

**B1****037526****037526 B1**

### **Область изобретения**

Настоящее изобретение относится к области видов терапевтического лечения заболеваний и нарушений, которые связаны с повышенными уровнями липидов и липопротеинов. Более конкретно изобретение относится к использованию ингибиторов PCSK9 для лечения пациентов с гиперлипидемией, которые не получают терапию статинами, включая пациентов, которые не реагируют на статины, с заболеванием, плохо контролируемым терапией статинами, плохо переносящих статины, или у которых в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами.

#### **Предшествующий уровень техники**

Гиперхолестеринемия, в частности повышение уровней холестерина (LDL-C) липопротеинов низкой плотности (LDL), является основным риском развития атеросклероза и ишемической болезни сердца (CHD) (Sharrett et al., 2001, Circulation 104:1108-1113). Холестерин липопротеинов низкой плотности определяют как основную мишень для снижающей уровень холестерина терапии и принимают за валидную суррогатную терапевтическую конечную точку. Во многих исследованиях было продемонстрировано, что снижение уровней LDL-C снижает риск CHD с сильной прямой зависимостью между уровнями LDL-C и событиями CHD; для каждого снижения LDL-C на 1 ммоль/л (~40 мг/дл) смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (CVD) и заболеваемость снижаются на 22%. Большее снижение LDL-C приводит к большему снижению событий, и сравнительные данные интенсивного в сравнении со стандартным лечением статинами позволяют предположить, что чем ниже уровень LDL-C, тем выше польза для пациентов, подвергающихся очень высокому сердечно-сосудистому (CV) риску.

Существующие в настоящее время снижающие уровень LDL-C лекарственные средства включают статины, ингибиторы всасывания холестерина (например, эзетимиб [EZE]), фибраты, ниацин и секвестранты желчных кислот. Несмотря на то, что изменение образа жизни и лечение общепринятыми лекарственными средствами, как правило, являются эффективными для снижения уровней холестерина, не у всех пациентов удается достигать рекомендуемых целевых уровней холестерина с использованием таких подходов. Различные состояния, такие как семейная гиперхолестеринемия (FH), по-видимому, являются устойчивыми к снижению уровней LDL-C, несмотря на интенсивное использование общепринятой терапии. В частности, лечение статинами, которое снижает уровень LDL-C в результате ингибирования синтеза холестерина и активации LDL рецептора печени, может оказывать незначительное влияние у пациентов, у которых не представлены или являются дефектными рецепторы LDL. Кроме того, многие пациенты не реагируют на статины, страдают заболеванием, плохо контролируемым терапией статинами, плохо переносят статины и/или не соблюдают предписываемой им терапевтической схемы лечения статинами вследствие связанных со статинами побочных эффектов. Вследствие того, что гиперхолестеринемия в основном является бессимптомной, любые неприятные эффекты фармакологических средств, используемых для ведения этого нарушения, могут негативно сказываться на соблюдении пациентом схемы лечения. В нескольких когортных исследованиях опубликованный показатель соблюдения терапии статинами в течение 1 года находится в диапазоне от 26 до 85% с быстрым снижением показателей соблюдения, как правило, наблюдаемым в течение первых нескольких месяцев.

Таким образом, существует необходимость в данной области в альтернативных вариантах снижения LDL-C у пациентов.

#### **Краткое описание сущности изобретения**

Настоящее изобретение относится к способам лечения гиперлипидемии, включая, например, первичную гиперлипидемию. В частности, способы по настоящему изобретению являются пригодными для лечения пациентов с гиперлипидемией, которые не получают терапию статинами, включая пациентов, которые не реагируют на статины, с заболеванием, плохо контролируемым терапией статинами, плохо переносят статины, или у которых в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами.

По одному из аспектов способы по настоящему изобретению включают введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, который не получает терапию статинами. Пациенты с гиперлипидемией могут не получать терапию статинами, т.к. они не реагируют на статины, страдают заболеванием, плохо контролируемым терапией статинами, плохо переносят статины, у них в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами или вследствие любой другой причины.

По другому аспекту настоящее изобретение относится к способам лечения гиперлипидемии у пациента, включающим введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, базисную терапию статинами которого прекращали до введения первой дозы ингибитора PCSK9 или приводят совместно с введением первой дозы ингибитора PCSK9.

По одному из аспектов пациенты с гиперлипидемией включают пациентов с несемейной гиперхолестеринемией, гетерозиготной или гомозиготной семейной гиперхолестеринемией или смешанной дислипидемией. В определенных аспектах пациент с гиперлипидемией также страдает сахарным диабетом 2 типа.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PCSK9 вводят пациенту в качестве монотерапии в отсутствие любой другой модифицирующей уровень липидов терапии. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PCSK9 вводят пациенту в комбинации с другой модифицирующей уровень липидов

терапией не на основе статинов.

По одному из аспектов способы по настоящему изобретению включают введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, который плохо переносит статины, или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами. Примеры нежелательных реакций на терапию статинами включают, например, боль в скелетных мышцах, дискомфорт, слабость и/или спазм. Таким образом, по определенным вариантам осуществления настоящее изобретение относится к способам снижения уровней LDL-C в сыворотке у пациента без индукции боли в скелетных мышцах, дискомфорта, слабости или спазма, например, посредством прекращения схемы лечения статинами пациента и введения ингибитора PCSK9 пациенту.

Настоящее изобретение также относится к способам снижения уровней LDL-C в сыворотке у плохо переносящего статины пациента путем отбора пациента со средним, высоким или очень высоким сердечно-сосудистым риском, который плохо переносит статины или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами, и введения одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту.

Настоящее изобретение также относится к способам лечения гиперлипидемия у пациента, который плохо переносит статины или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами, путем отбора пациента со средним, высоким или очень высоким сердечно-сосудистым риском, который ранее испытывал связанные со скелетными мышцами симптомы, которые начинались или увеличивались при ежедневной терапевтической схеме лечения статинами, и введения одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту. По определенным вариантам осуществления пациент выбран на основании того, что ранее испытывал связанные со скелетными мышцами симптомы, которые начинались или увеличивались по меньшей мере при двух отдельных ежедневных терапевтических схемах лечения статинами (например, где по меньшей мере одна из ежедневных терапевтических схем лечения статинами представляет собой минимальную одобренную суточную дозу статина).

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим ингибитор PCSK9 для применения для лечения пациентов с гиперлипидемией, которые не получают терапию статинами.

Один из вариантов осуществления относится к способу лечения гиперхолестеринемии у нуждающегося в этом пациента, включающему (а) отбор пациента, который плохо переносит статины или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами, и (b) введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту.

Другой вариант осуществления относится к способу снижения уровней LDL-C в сыворотке у пациента без индукции боли в скелетных мышцах, дискомфорта, слабости или спазма, включающему (а) отбор пациента, который испытывал связанный со скелетными мышцами симптом, которые проявлялся или увеличивался при приеме минимальной одобренной суточной дозы одного или более статинов, и (b) введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту; таким образом, снижая уровни LDL-C в сыворотке у пациента, не вызывая боль в скелетных мышцах, дискомфорт, слабость или спазм.

Другой вариант осуществления относится к способу снижения уровней LDL-C в сыворотке у пациента с гиперхолестеринемией, плохой переносимостью статинов, включающему (а) отбор пациента со средним, высоким или очень высоким сердечно-сосудистым риском, который плохо переносит статины или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами, и (b) введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту.

Другой вариант осуществления относится к способу лечения гиперхолестеринемии у пациента, который плохо переносит статины или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами, включающему (а) отбор пациента со средним, высоким или очень высоким сердечно-сосудистым риском, который ранее испытывал связанные со скелетными мышцами симптомы, которые начинались или увеличивались при ежедневной терапевтической схеме лечения статинами, и (b) введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту.

В некоторых вариантах осуществления пациент ранее испытывал связанные со скелетными мышцами симптомы, которые начинались или увеличивались по меньшей мере при двух отдельных ежедневных терапевтических схемах лечения статинами. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из ежедневных терапевтических схем лечения статинами представляет собой минимальную одобренную суточную дозу статина. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из ежедневных терапевтических схем лечения статинами выбрана из группы, состоящей из 5 мг розувастатина ежедневно, 10 мг аторвастатина ежедневно, 10 мг симвастатина ежедневно, 20 мг ловастатина ежедневно, 40 мг правастатина ежедневно, 40 мг флувастатина ежедневно и 2 мг питавастатина ежедневно. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PCSK9 вводят пациенту при отсутствии терапии статинами.

Один из вариантов осуществления относится к способу устранения использования статинов у пациента с гиперхолестеринемией, который плохо переносит статины, при этом снижающему уровни LDL-C в сыворотке пациента, где способ включает (а) отбор пациента, который получает или получал ежедневную терапевтическую схему лечения статинами и который плохо переносит статины, или у которого

в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами; (b) прекращение ежедневной терапевтической схемы лечения статинами пациента и (c) введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту.

В некоторых вариантах осуществления пациент до введения ингибитора PCSK9 или после введения страдает гиперхолестеринемией, определяемой как уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке более 70 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления пациент до введения ингибитора PCSK9 или после введения страдает гиперхолестеринемией, определяемой как уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке более 100 мг/дл.

В некоторых вариантах осуществления пациент страдает гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией (heFH). В некоторых вариантах осуществления пациент страдает формой гиперхолестеринемии, которая не является семейной гиперхолестеринемией (не-FH). В некоторых вариантах осуществления пациент до введения ингибитора PCSK9 или после введения подвергается среднему сердечно-сосудистому риску, определяемому как рассчитываемая оценка риска сердечно-сосудистого заболевания со смертельным исходом в течение 10 лет более или равный 1% и менее 5%. В некоторых вариантах осуществления пациент до введения ингибитора PCSK9 или после введения подвергается высокому сердечно-сосудистому риску, определяемому как рассчитываемая оценка риска сердечно-сосудистого заболевания со смертельным исходом в течение 10 лет более или равный 5% наряду с одним или более из (i) хронической болезни почек средней степени тяжести, (ii) сахарного диабета 1 типа без поражения органа-мишени, (iii) сахарного диабета 2 типа без поражения органа-мишени и/или (iv) heFH. В некоторых вариантах осуществления пациент до введения ингибитора PCSK9 или после введения подвергается очень высокому сердечно-сосудистому риску, определяемому как один или более из (i) подтвержденной ишемической болезни сердца; (ii) ишемического инсульта; (iii) периферического инсульта; (iv) поражения периферических артерий (PAD); (v) транзиторной ишемической атаки (ТИА); (vi) аневризмы брюшной аорты; (vii) окклюзии сонной артерии >50% без симптомов; (viii) каротидной эндартерэктомии; (ix) процедуры стентирования сонной артерии; (x) стеноза почечной артерии; (xi) процедуры стентирования почечной артерии; (xii) сахарного диабета 1 типа с поражением органа-мишени; и/или (xiii) сахарного диабета 2 типа с поражением органа-мишени.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PCSK9 представляет собой антитело или антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с PCSK9. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR тяжелой и легкой цепей пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, содержащей SEQ ID NO: 1/6. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с тем же эпитопом на PCSK9, что и антитело, содержащее аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конкурирует за связывание с PCSK9 с антителом, содержащим аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с PCSK9, вводят пациенту в дозе приблизительно 75 мг с частотой один раз каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления приблизительно дозу 75 мг сохраняют, если измеряемый уровень LDL-C пациента после пяти или более доз составляет <70 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления приблизительно дозу 75 мг отменяют, если измеряемый уровень LDL-C пациента после пяти или более доз остается  $\geq 70$  мг/дл, а затем пациенту вводят антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с PCSK9, в дозе приблизительно 150 мг с частотой один раз каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с PCSK9, вводят пациенту в дозе приблизительно 150 мг с частотой один раз каждые две недели.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PCSK9 вводят пациенту в комбинации с модифицирующей уровень липидов терапией не на основе статинов. В некоторых вариантах осуществления модифицирующая уровень липидов терапия не на основе статинов предусматривает введение терапевтического средства, выбранного из группы, состоящей из эзетимиба, фибрата, ниацина, омега-3-жирной кислоты и секвестранта желчных кислот.

В некоторых вариантах осуществления способ улучшает уровни одного или более липидных компонентов в сыворотке, выбранных из группы, состоящей из (a) снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) у пациента по меньшей мере на 35%; (b) снижения уровня аполипопротеина В (ApoB) пациента по меньшей мере на 25%; (c) снижения уровня холестерина липопротеинов невысокой плотности (не-HDL-C) пациента по меньшей мере на 30%; (d) снижения уровня общего холестерина пациента по меньшей мере на 20% и (e) снижения уровня липопротеина а (Lp(a)) пациента по

меньшей мере на 15%.

Один из вариантов осуществления относится к способу улучшения уровня одного или более липидных компонентов в сыворотке у пациента с гиперхолестеринемией, плохой переносимостью статинов, где способ включает (a) отбор пациента со средним, высоким или очень высоким сердечно-сосудистым риском, который плохо переносит статины или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами, и (b) введение пациенту многократных доз антитела против PCSK9 в дозируемом количестве приблизительно от 75 до 150 мг в дозе и частотой дозирования приблизительно один раз каждые две недели, где приблизительно через 24 недели лечения антителом против PCSK9 снижение уровня одного или более липидных компонентов в сыворотке выбирают из группы, состоящей из (a) снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) у пациента по меньшей мере на 35%; (b) снижения уровня аполипопротеина В (ApoB) у пациента по меньшей мере на 25%; (c) снижения уровня холестерина липопротеинов невысокой плотности (не-HDL-C) у пациента по меньшей мере на 30%; (d) снижения уровня общего холестерина у пациента по меньшей мере на 20% и (e) снижения уровня липопротеина а (Lp(a)) у пациента по меньшей мере на 15%.

Другой вариант осуществления изобретения относится к способу лечения гиперхолестеринемия у нуждающегося в этом пациента, включающему введение пациенту в качестве монотерапии фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9, где композицию вводят каждые две недели, и пациент не получает одновременно другой модифицирующей уровень липидов терапии, таким образом осуществляя лечение гиперхолестеринемии у пациента.

Другой вариант осуществления изобретения относится к способу снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) у нуждающегося в этом пациента, включающему введение пациенту в качестве монотерапии фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9, где композицию вводят каждые две недели, и пациент не получает одновременно другой модифицирующей уровень липидов терапии, таким образом, снижающему уровень LDL-C у пациента.

Другой вариант осуществления изобретения относится к способу поддержания постоянных уровней холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) у пациента, включающему введение пациенту в качестве монотерапии фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9 в начальной дозе приблизительно 75 мг, где композицию вводят каждые две недели, и где пациент не получает одновременно другой снижающей уровень липидов терапии, таким образом, поддерживая постоянные уровни LDL-C у пациента. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PCSK9 вводят пациенту в течение по меньшей мере 24 недель, и уровни LDL-C у пациент сохраняются постоянными в течение 20 недель.

В некоторых вариантах осуществления, относящихся к введению ингибитора PCSK9 в качестве монотерапии, пациент плохо переносит статины или имеет в анамнезе нежелательные реакции при терапии статинами. В некоторых вариантах осуществления пациент ранее испытывал связанные со скелетными мышцами симптомы, которые начинались или увеличивались по меньшей мере при двух отдельных ежедневных терапевтических схемах лечения статинами. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из ежедневных терапевтических схем лечения статинами представляет собой минимальную одобренную суточную дозу статина. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из ежедневных терапевтических схем лечения статинами выбрана из группы, состоящей из 5 мг розувастатина ежедневно, 10 мг аторвастатина ежедневно, 10 мг симвастатина ежедневно, 20 мг ловастатина ежедневно, 40 мг правастатина ежедневно, 40 мг флувастатина ежедневно и 2 мг питавастатина ежедневно.

В некоторых вариантах осуществления, относящихся к введению ингибитора PCSK9 в качестве монотерапии, у пациента до введения ингибитора PCSK9 или после введения выявляют гиперхолестеринемия, определяемую как уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке более 70 мг/дл.

В некоторых вариантах осуществления, относящихся к введению ингибитора PCSK9 в качестве монотерапии, у пациента до введения ингибитора PCSK9 или после введения выявляют гиперхолестеринемия, определяемую как уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке более 100 мг/дл.

В некоторых вариантах осуществления, относящихся к введению ингибитора PCSK9 в качестве монотерапии, пациент страдает гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией (heFH). В некоторых вариантах осуществления, относящихся к введению ингибитора PCSK9 в качестве монотерапии, пациент страдает формой гиперхолестеринемии, которая не является семейной гиперхолестеринемией (non-FH). В некоторых вариантах осуществления пациент до введения ингибитора PCSK9 или после введения подвергается среднему сердечно-сосудистому риску, определяемому как рассчитываемая оценка риска сердечно-сосудистого заболевания со смертельным исходом в течение 10 лет более или равная 1% и менее 5%. В некоторых вариантах осуществления пациент до введения ингибитора PCSK9 или после введения подвергается высокому сердечно-сосудистому риску, определяемому как рассчитываемая оценка риска сердечно-сосудистого заболевания со смертельным исходом в течение 10 лет более или равная 5% наряду с одним или более из (i) хронической болезни почек средней степени тяжести, (ii) сахарного диабета 1 типа без поражения органа-мишени, (iii) сахарного диабета 2 типа без поражения органа-мишени и/или

(iv) heFH. В некоторых вариантах осуществления пациент до введения ингибитора PCSK9 или после введения подвергается очень высокому сердечно-сосудистому риску, определяемому как один или более из (i) подтвержденной ишемической болезни сердца; (ii) ишемического инсульта; (iii) периферического инсульта; (iv) поражения периферических артерий (PAD); (v) транзиторной ишемической атаки (ТИА); (vi) аневризмы брюшной аорты; (vii) окклюзии сонной артерии >50% без симптомов; (viii) каротидной эндартерэктомии; (ix) процедуры стентирования сонной артерии; (x) стеноза почечной артерии; (xi) процедуры стентирования почечной артерии; (xii) сахарного диабета 1 типа с поражением органа-мишени и/или (xiii) сахарного диабета 2 типа с поражением органа-мишени.

В некоторых вариантах осуществления, относящихся к введению ингибитора PCSK9 в качестве монотерапии, ингибитор PCSK9 представляет собой антитело или антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с PCSK9. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR тяжелой и легкой цепей пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, содержащей SEQ ID NO: 1/6. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с таким же эпитопом на PCSK9, как и антитело, содержащее аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конкурирует за связывание с PCSK9 с антителом, содержащим аминокислотные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 2, 3, 4, 7, 8 и 10.

В некоторых вариантах осуществления, относящихся к введению ингибитора PCSK9 в качестве монотерапии, пациенту вводят антитело или антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с PCSK9, в дозе приблизительно 75 мг с частотой один раз каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления дозу приблизительно 75 мг сохраняют, если уровень LDL-C у пациента, измеряемый после пяти или более доз, составляет <70 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления дозу приблизительно 75 мг отменяют, если уровень LDL-C у пациента, измеряемый после пяти или более доз, остается  $\geq 70$  мг/дл, а пациенту затем вводят антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с PCSK9, в дозе приблизительно 150 мг с частотой один раз каждые две недели. В некоторых вариантах осуществления пациенту вводят антитело или антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с PCSK9, в дозе приблизительно 150 мг с частотой один раз каждые две недели.

В некоторых вариантах осуществления, относящихся к введению ингибитора PCSK9 в качестве монотерапии, уровни одного или более липидных компонентов в сыворотке выбраны из группы, состоящей из (a) снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) пациента по меньшей мере на 35%; (b) снижения уровня аполипопротеина В (ApoB) пациента по меньшей мере на 25%; (c) снижения уровня холестерина липопротеинов невысокой плотности (не-HDL-C) у пациента по меньшей мере на 30%; (d) снижения уровня общего холестерина пациента по меньшей мере на 20% и (e) снижения уровня липопротеина а (Lp(a)) у пациента по меньшей мере на 15%.

Один из вариантов осуществления относится к способу снижения уровней свободного PCSK9 у пациента, включающему введение пациенту в качестве монотерапии фармацевтической композиции, содержащей антитело против PCSK9 или антигенсвязывающий белок в дозе приблизительно 75 мг, где композицию вводят каждые две недели и где пациент не получает одновременно другой снижающей уровень липидов терапии, таким образом снижая уровни свободного PCSK9 у пациента.

Один из вариантов осуществления относится к способу снижения уровня одного или более липидных компонентов в сыворотке у нуждающегося в этом пациента, включающему введение многократных доз антитела против PCSK9 в качестве монотерапии пациенту в дозируемом количестве приблизительно от 75 до 150 мг в дозе с частотой дозирования приблизительно один раз каждые две недели, где пациент не получает одновременно другой модифицирующий уровень липидов терапии, и где приблизительно после 24 недели лечения антителом против PCSK9 снижение уровня одного или более липидных компонентов в сыворотке выбирают из группы, состоящей из (a) снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) у пациента по меньшей мере на 35%; (b) снижения уровня аполипопротеина В (ApoB) у пациента по меньшей мере на 25%; (c) снижения уровня холестерина липопротеинов невысокой плотности (не-HDL-C) у пациента по меньшей мере на 30%; (d) снижения уровня общего холестерина у пациента по меньшей мере на 20% и (e) снижения уровня липопротеина а (Lp(a)) у пациента по меньшей мере на 15%.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения станут понятны из обзора следующего ниже подробного описания.

#### **Краткое описание чертежей**

На фиг. 1 представлен план исследования клинического испытания, описанный в примере 2. Не-

смотря на то, что протокол называли пороговая величина LDL-C  $\geq 100$  мг/дл для повышения дозы, в этом исследовании применяли пороговую величину  $\geq 70$  мг/дл слепым методом. Стрелки под фигурой указывают на моменты времени проведения оценки. EOT - конец лечения; EZE - эзетимиб; LDL-C - холестерин липопротеинов низкой плотности; NCEP АТPIII TCP, Национальная образовательная программа по холестерину - лечение взрослых панель III; Q2W - каждые 2 недели; W - неделя.

На фиг. 2 представлено распределение пациентов клинического испытания, описанного в примере 2. \* - события в жизни очень затрудняют продолжение исследования. ITT - назначенное лечение.

Фиг. 3 представляет собой график, демонстрирующий уровни LDL-C (мг/дл) в зависимости от момента времени исследования (анализ во время лечения) для клинического испытания, описанного в примере 2. Значения выше результатов наблюдений неделя 12 и неделя 24 означают среднее изменение LS (SE)% от исходного уровня. LDL-C - холестерин липопротеинов низкой плотности; LS - наименьшие квадраты; SE - стандартная ошибка.

Фиг. 4 представляет собой группу из четырех графиков, демонстрирующих распределение изменения в процентах LDL-C от исходного уровня к неделе 12 (фиг. 4A) и неделе 24 (фиг. 4B) у пациентов, получавших лечение mAb316P (Alirocumab), и неделе 12 (фиг. 4C) и неделе 24 (фиг. 4D) у пациентов, получавших лечение эзетимибом (популяция во время лечения) в клиническом испытании, описанном в примере 2.

Фиг. 5 представляет собой график двух диаграмм, демонстрирующих подгрупповые анализы процента изменения от исходного уровня LDL-C на 24 неделе в соответствии с демографическими данными (фиг. 5A) и другими исходными характеристиками (фиг. 5B) (популяция ITT) для клинического испытания, описанного в примере 2.

На фиг. 6 представлена серия графиков, которая иллюстрирует средние уровни LDL-C (фиг. 6A), концентрации  $C_{\text{остаточная}}$  и  $C_{\text{послед. набл.}}$  mAb316P (Alirocumab) (фиг. 6B) и уровни свободного PCSK9 (фиг. 6C) у пациентов, получавших лечение mAb316P, в соответствии со статусом повышения дозы в клиническом испытании, описанном в примере 2. Значения  $C_{\text{остаточной}}$  определяли через  $14 \pm 6$  суток после предшествующей инъекции; значения  $C_{\text{послед. набл.}}$  получали через  $>21$  суток после последней инъекции. Треугольники представляют собой группу с повышением дозы на 12 неделе. Квадраты представляют собой группу без повышения дозы на неделе 12.

Фиг. 7 представляет собой графическое представление исследования, иллюстрирующее клиническое испытание, описанное в примере 3 в настоящем описании. "REGN727" представляет собой обозначение для антитела, обозначаемое в настоящем описании как алирокумаб или mAb316P.

#### Подробное описание

Перед тем как описывать настоящее изобретение, следует понимать, что это изобретение не ограничено конкретными описываемыми способами и экспериментальными условиями, т.к. такие способы и условия могут изменяться. Также следует понимать, что используемая в настоящем описании терминология предназначена описывать только конкретные варианты осуществления и не предназначена являться ограничивающей, т.к. объем настоящего изобретения ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Определения.

Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют такое же значение, как общепринято понимает специалист в данной области.

Здесь следует отметить, что, как используют в этом описании и прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа также включают формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное.

Термин "приблизительно" или "примерно", когда используется по отношению к конкретному перечисляемому численному значению, означает, что значение может изменяться от указанного значения не более чем на 1%. Например, как используют в настоящем описании, выражение "приблизительно 100" включает 99 и 101 и все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т.д.).

Термины "вводить" или "введение" относятся к действию инъекции или иным образом физической доставки вещества, как оно существует вне организма (например, состава по изобретению) пациенту, такой как путем мукозальной, чрескожной, внутривенной, подкожной, внутримышечной доставки и/или любым другим способом физической доставки, описываемым в настоящем описании или известным в данной области. Когда необходимо лечить заболевание или его симптом, введение вещества, как правило, проводят после начала проявления заболевания или его симптомов. Когда необходимо лечить заболевание или его симптомы, введение вещества, как правило, проводят до начала проявления заболевания или его симптомов.

Термины "композиция" и "состав" предназначены включать продукт, содержащий определенные ингредиенты (например, антитело против PCSK9) необязательно в определенных количествах, а также любой продукт, который образуется прямо или опосредованно из комбинации определенных ингредиентов необязательно в определенных количествах.

Термин "эксципиенты" относится к инертным веществам, которые являются общепринятыми в ка-

честве разбавителя, носителя, консерванта, связывающего средства, стабилизатора и т.д. для лекарственных средств и включают, но не ограничиваются ими, белки (например, сывороточный альбумин и т.д.), аминокислоты (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лизин, аргинин, глицин, гистидин и т.д.), жирные кислоты и фосфолипиды (например, алкилсульфонаты, каприлат и т.д.), поверхностно-активные вещества (например, SDS, полисорбат, неионное поверхностно-активное вещество и т.д.), сахараиды (например, сахарозу, мальтозу, трегалозу и т.д.) и полиолы (например, маннит, сорбит и т.д.). Также см. Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, Pa., таким образом, полностью включенную посредством ссылки.

В отношении пептида или полипептида термин "фрагмент" относится к пептиду или полипептиду, который содержит меньшую последовательность, чем полноразмерная аминокислотная последовательность. Такой фрагмент может возникать, например, в результате усечения по аминоконцу, усечения по С-концу и/или внутренней делеции остатка(ов) в аминокислотной последовательности. Фрагменты могут, например, являться результатом альтернативного сплайсинга РНК или протеазной активности *in vivo*. В определенных вариантах осуществления фрагменты PCSK9 включают полипептиды, содержащие аминокислотную последовательность по меньшей мере 50, 100 аминокислотных остатков, по меньшей мере 125 смежных аминокислотных остатка, по меньшей мере 150 смежных аминокислотных остатка, по меньшей мере 175 смежных аминокислотных остатка, по меньшей мере 200 смежных аминокислотных остатка или по меньшей мере 250 смежных аминокислотных остатка аминокислотной последовательности полипептида PCSK9. В конкретном варианте осуществления фрагмент полипептида PCSK9 или антитело, которое специфически связывается с антигеном PCSK9, сохраняет по меньшей мере 1, по меньшей мере 2 или по меньшей мере 3 функции полноразмерного полипептида или антитела.

Термин "фармацевтически приемлемый" означает одобренный агентством по регулированию на федеральном уровне или уровне правительства штата или указанный в фармакопее США, европейской фармакопее или другой общепризнанной фармакопее для применения у животных и более конкретно у людей.

Термины "проводить профилактику", "профилактический" и "профилактика" относятся к полному или частичному ингибированию развития, частоты возникновения, начала или распространение опосредованного PCSK9 заболевания и/или симптома, связанного с ним, являющегося результатом проведения терапии или комбинации видов терапии, предоставленных в настоящем описании (например, комбинации профилактических или терапевтических средств).

Термин "антиген PCSK9" относится к такому участку полипептида PCSK9, с которым специфически связывается антитело. Антиген PCSK9 также относится к аналогу или производному полипептида PCSK9 или его фрагменту, с которым специфически связывается антитело. В некоторых вариантах осуществления антиген PCSK9 представляет собой мономерный антиген PCSK9 или тримерный антиген PCSK9. Область полипептида PCSK9, которая вносит вклад в эпитоп, может представлять собой смежные аминокислоты полипептида, или эпитоп может быть образован двумя или более несмежными областями полипептида. Эпитоп может представлять собой или может не представлять собой признак трехмерной поверхности антигена. Локализованная область на поверхности антигена PCSK9, которая может вызывать иммунный ответ, представляет собой эпитоп PCSK9. Эпитоп может представлять собой признак трехмерной поверхности антигена или может не представлять.

Термин "PCSK9 человека", "hPCSK9" или "полипептид hPCSK9" и аналогичные термины относятся к полипептидам ("полипептиды", "пептиды" и "белки" используют взаимозаменяемо в настоящем описании), содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 198, и родственными полипептидам, включая их варианты SNP. Родственные полипептиды включают аллельные варианты (например, варианты SNP); варианты сплайсинга; фрагменты; производные; варианты замены, делеции и вставки; слитые полипептиды и межвидовые гомологи, предпочтительно, которые сохраняют активность PCSK9 и/или являются достаточными для индукции иммунного ответа против PCSK9. Также предусматривают растворимые формы PCSK9, которые являются достаточными для индукции иммунного ответа против PCSK9. Как будет понятно специалистам в данной области, антитело против PCSK9 может связываться с полипептидом PCSK9, фрагментом полипептида, антигеном и/или эпитопом, т.к. эпитоп является частью более крупного антигена, который является частью более крупного фрагмент полипептида, который, в свою очередь, является частью более крупного полипептида. hPCSK9 может существовать в тримерной (нативной) или мономерной (денатурированной) форме.

Термины "обусловленное PCSK9 заболевание", "обусловленное PCSK9 состояние" и "обусловленное PCSK9 нарушение" используются взаимозаменяемо и относятся к любому заболеванию, которое полностью или частично вызвано или является результатом PCSK9, например hPCSK9. В определенных вариантах осуществления PCSK9 экспрессируется aberrантно (например, на повышенном уровне). В некоторых вариантах осуществления PCSK9 может aberrантно экспрессироваться на пониженном уровне. В других вариантах осуществления PCSK9 может aberrантно экспрессироваться на повышенном уровне. В определенных вариантах осуществления PCSK9 может связываться с лигандом PCSK9. В определенных вариантах осуществления лиганд PCSK9 представляет собой рецептор PCSK9. В определенных вариантах осуществления обусловленное PCSK9 заболевание или состояние выбрано из группы, состоящей из повышенных уровней общего холе-

стерина; повышенных уровней холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C); гиперлипидемии; дислипидемии; гиперхолестеринемии, в частности гиперхолестеринемии, неконтролируемой статинами, гиперхолестеринемии, такой как семейная гиперхолестеринемия или несемейная гиперхолестеринемия, и гиперхолестеринемии, неконтролируемой статинами; атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний.

Термины "индивидуум" и "пациент" используют взаимозаменяемо. Как используют в настоящем описании, индивидуум предпочтительно представляет собой млекопитающее, такое как не являющееся приматом (например, коровы, свиньи, лошади, кошки, собаки, крысы и т.д.) или примат (например, обезьяна и человек), наиболее предпочтительно человека. В одном из вариантов осуществления индивидуум представляет собой млекопитающее, предпочтительно человека, страдающего опосредованным PCSK9 заболеванием. В другом варианте осуществления индивидуум представляет собой млекопитающее, предпочтительно человека, подвергающегося риску развития опосредованного PCSK9 заболевания.

Термин "терапевтическое средство" относится к любому средству, которое можно использовать в лечении, ведении или улучшении состояния опосредованного PCSK9 заболевания и/или связанного с ним симптома. В определенных вариантах осуществления термин "терапевтическое средство" относится к антителу против PCSK9 по изобретению. В других определенных вариантах осуществления термин "терапевтическое средство" относится к средству, отличному от антитела против PCSK9 по изобретению. Предпочтительно терапевтическое средство представляет собой средство, которое, как известно, является пригодным для или использовалось, или используется в настоящее время для лечения, ведения или улучшения состояния опосредованного PCSK9 заболевания или одного или более симптомов, связанных с ним.

Термин "терапия" относится к любому протоколу, способу и/или средству, которое можно использовать для профилактики, ведения, лечения и/или улучшения состояния опосредованного PCSK9 заболевания (например, атеросклероза или гиперхолестеринемии). В определенных вариантах осуществления термины "виды терапии" и "терапия" относятся к биологической терапии, поддерживающей терапии и/или другим видам терапии, пригодным для профилактики, ведения, лечения и/или улучшения состояния опосредованного PCSK9 заболевания, известным специалисту в данной области, такому как медицинский персонал.

Термины "лечить", "лечение" и "лечащий" относятся к снижению или улучшению состояния прогрессирования, тяжести и/или продолжительности опосредованного PCSK9 заболевания (например, атеросклероза), возникающему в результате проведения одной или более видов терапии (включая в качестве неограничивающих примеров, введение одного или более профилактических или терапевтических средств). В конкретных вариантах осуществления такие термины относятся к снижению или ингибированию связывания PCSK9 с лигандом PCSK9.

Хотя любые способы и вещества, аналогичные или эквивалентные тем, которые описывают в настоящем описании, можно использовать в практическом осуществлении настоящего изобретения, предпочтительные способы и вещества описаны ниже. Все публикации, указанные в настоящем описании полностью включены в настоящее описание посредством ссылки с целью описания.

Отбор пациентов.

Настоящее изобретение относится к способам и композиции, пригодным в числе прочего для лечения пациентов, которые страдают гиперлипидемией, которые не получают терапию статинами, включая пациентов, которые не реагируют на статины, страдают заболеванием, плохо контролируемым терапией статинами, плохо переносят статины или у которых в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами.

Способы по настоящему изобретению включают отбор пациентов, которые страдают или подвергаются риску развития обусловленного PCSK9 заболевания или состояния, такого как гиперлипидемия или родственное нарушение (например, атеросклероз), и введение таким пациентам фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. Например, можно отбирать пациента для лечения способами по настоящему изобретению, если у пациента диагностируют или идентифицируют, что он подвергается риску развития состояния гиперлипидемии, такой как, например, гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (heFH), гомозиготная семейная гиперхолестеринемия (hoFH), аутомная доминантная гиперхолестеринемия (ADH, например, ADH, ассоциированная с одной или более мутаций приобретения функций в гене PCSK9), несемейная гиперхолестеринемия (nonFH), дислипидемия и смешанная дислипидемия. В определенных аспектах для пациента, который нуждается в лечении, показан аферез LDL. В определенных аспектах пациент с гиперлипидемией также страдает сахарным диабетом 2 типа. В определенных аспектах у пациента, который нуждается в лечении, диагностируют гиперхолестеринемии и он плохо переносит статины, не реагирует на статины или страдает заболеванием, неконтролируемым статинами. Как используют в настоящем описании, гиперлипидемия включает первичную гиперлипидемию, вторичную гиперлипидемию и кассы I-V Фредриксоновского фенотипа.

Как используют в настоящем описании, выражение "нуждающийся в этом пациент" означает человека или не являющееся человеком животное, у которого проявляется один или более симптомов или признаков гиперлипидемии, или у которого диагностировали гиперлипидемию, или которое иным обра-

зом получит пользу от снижения общего уровня холестерина в сыворотке, LDL, триглицеридов, VLDL, липопротеина (а) [Lp(a)], или которое получит пользу от повышения уровня HDL.

Способы по настоящему изобретению включают отбор пациентов, которые в настоящее время не получают терапию статинами. Как используют в настоящем описании, терапия статинами предусматривает введение ингибитора редуктазы HMG-CoA и включает, но не ограничивается ими, аторвастатин, церивастатин, флувастатин, ловастатин, мевастатин, питавастатин, правастатин, розувастатин, симвастатин и т.д. В некоторых вариантах осуществления дозы ингибитора PCSK9 вводят пациенту, у которого провидимую ранее (или "базисную") терапию статинами прекращают до введения первой дозы ингибитора PCSK9 или проводят одновременно с введением первой дозы ингибитора PCSK9.

По определенным вариантам осуществления пациента можно отбирать на основании того, что он подвергается среднему, высокому или очень высокому риску CV. Степень риска CV можно оценивать и выражать через величину оценки риска сердечно-сосудистого заболевания (CVD) со смертельным исходом в течение 10 лет, как определяют согласно Рабочей группе по ведению состояний дислипидемии Европейского общества кардиологии (ESC) и европейскому обществу атеросклероза (EAS), как указано в руководствах ESC/EAS по ведению состояний дислипидемии, *European Heart Journal*, 2100; 32:1769-1818 (обозначаемых в настоящем описании как "ESC/EAS 2011"), описание которых полностью включено в настоящее описание посредством ссылки. Как используют в настоящем описании, "средний риск CV" означает оценку риска CVD со смертельным исходом, рассчитанную в течение 10 лет, более или равную 1% и менее 5%. Как используют в настоящем описании, "высокий риск CV" означает оценку риска CVD со смертельным исходом, рассчитанную в течение 10 лет, более или равную 5%, и/или болезнь почек средней степени тяжести (CKD), и/или сахарный диабет 1 или 2 типа без поражения органа-мишени, и/или heFH. Как используют в настоящем описании, "очень высокий риск CV" означает наличие в анамнезе подтвержденной ишемической болезни сердца (CHD), ишемического инсульта, поражения периферических артерий (PAD), транзиторной ишемической атаки (TIA), аневризм брюшной аорты, окклюзии сонной артерии более 50% без симптомов, каротидной эндартерэктомии или процедуры стентирования сонной артерии, стеноза почечной артерии, процедуры стентирования почечной артерии и/или сахарного диабета 1 или 2 типа с поражением органа-мишени.

По определенным вариантам осуществления пациента можно отбирать на основании того, что у него в анамнезе присутствует ишемическая болезнь сердца (CHD). Как используют в настоящем описании, "в анамнезе присутствует CHD" (или "подтвержденное в анамнезе CHD") включает один или более из (i) острого инфаркта миокарда (MI); (ii) бессимптомного MI; (iii) нестабильной стенокардии; (iv) процедуры реваскуляризации коронарных артерий (например, чрескожного коронарного вмешательства [PCI] или шунтирования коронарных артерий [CABG]) и/или (v) клинически значимого CHD, диагностированного инвазивным или неинвазивным тестированием (таким как коронарная ангиография, стресс-тест с использованием беговой дорожки, стресс-эхокардиография или радионуклидная визуализация).

По определенным вариантам осуществления пациента можно отбирать на основании того, что он подвергается одному или более дополнительных факторов риска, выбранных из группы, состоящей из возраста (например, старше 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80 лет), расы, национального происхождения, пола (мужского или женского), характера физических нагрузок (например, регулярное выполнение действий, связанных с физической нагрузкой, отсутствие действий, связанных с физической нагрузкой), других предшествующих медицинских состояний (например, диабета II типа, высокого артериального давления и т.д.) и текущего статуса приема лекарственных средств (например, прием в настоящее время бета-блокаторов, ниацина, эзетимиба, фибратов, омега-3-жирных кислот, секвестрантов желчных кислот и т.д.).

Способы по настоящему изобретению включают введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, который не получает терапию статинами. Пациенты с гиперлипидемией могут не получать терапию статинами вследствие того, что они не реагируют на статины, страдают заболеванием, плохо контролируемым терапией статинами, плохо переносят статины, у них в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами или по любой другой причине.

Несмотря на то, что изменение образа жизни и лечение общепринятыми лекарственными средствами часто эффективно снижают уровни холестерина, не у всех пациентов удается достигать рекомендуемых целевых уровней холестерина с такими подходами. Различные состояния, такие как семейная гиперхолестеринемия (FH), по-видимому, являются устойчивыми к снижению уровней LDL-C, несмотря на интенсивное использование общепринятой терапии. Гомозиготная и гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (hoFH, heFH) представляют собой состояния, связанные с ранним атеросклеротическим заболеванием сосудов. Однако пациенты, у которых диагностировали hoFH, в большинстве случаев не реагируют на терапию общепринятыми лекарственными средствами, и для них существуют ограниченные варианты лечения. В частности, лечение статинами, которые снижают LDL-C путем ингибирования синтеза холестерина и активации рецептора LDL печени, может оказывать незначительное действие у пациентов, у которых не представлены или являются дефектными рецепторы LDL. Недавно было опубликовано среднее снижение LDL-C всего лишь менее чем приблизительно на 20% у пациентов с подтвержденной генотипом hoFH, получающих лечение максимальной дозой статинов. Добавление эзетимиба 10

мг/сутки к этой схеме лечения приводило к общему снижению уровней LDL-C 27%, которое является все еще далеко не оптимальным. Аналогично, многие пациенты не реагируют на статины или страдают заболеванием, плохо контролируемым терапией статинами.

В некоторых аспектах способы по настоящему изобретению включают введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту, который "не переносит статины" или "плохо переносит статины". Как используют в настоящем описании, считают, что пациент "не переносит статины" или "плохо переносит статины", если в анамнезе пациента присутствует одна или более нежелательных реакций, которые начинались или увеличивались при ежесуточной схеме лечения статинами и прекращались, когда отменяли терапию статинами. В определенных вариантах осуществления нежелательные реакции являются мышечно-скелетными по своей природе, например боль, ломота, слабость или спазм скелетных мышц (например, миалгия, миопатия, рабдомиолиз и т.д.). В определенных вариантах осуществления нежелательные реакции представляют собой боль или ломоту в скелетных мышцах, которые возникают или усиливаются после физической нагрузки или напряжения. Связанные со статинами нежелательные реакции также включают печеночные, желудочно-кишечные и психические симптомы, которые коррелируют с введением статинов. По определенным вариантам осуществления считают, что пациент "не переносит статины" или "плохо переносит статины", если в анамнезе пациента присутствуют связанные со скелетными мышцами симптомы, ассоциированные по меньшей мере с двумя различными и отдельными ежесуточными схемами лечения статинами. По определенным вариантам осуществления пациент "не переносит статины" или "плохо переносит статины", если у пациента выявляют одну или более связанных со статинами нежелательных реакций на минимальные одобренные суточные дозы одного или более статинов. В определенных вариантах осуществления пациент "не переносит статины" или "плохо переносит статины", если пациент не способен переносить суммарную еженедельную дозу статинов в семь раз ниже минимального одобренного размера таблетки. По другим вариантам осуществления настоящего изобретения пациент "не переносит статины" или "плохо переносит статины", если пациент может переносить терапию статинами в низких дозах, но у него развиваются симптомы, когда повышают дозу (например, для получения целевого уровня LDL-C).

По настоящему изобретению "данные в анамнезе о связанных со скелетными мышцами симптомами, ассоциированными с приемом по меньшей мере двух различных и отдельных статинов" включают связанные со скелетными мышцами боль, ломоту, слабость и/или спазм, которые начинались или усиливались во время терапии статинами и прекращались, когда терапию статинами отменяли. В контексте настоящего изобретения иллюстративные виды терапии статинами, ассоциированные с плохой переносимостью статинов, могут включать ежесуточные терапевтические схемы лечения статинами, выбранные из группы, состоящей из 5 мг розувастатина ежесуточно, 10 мг аторвастатина ежесуточно, 10 мг симвастатина ежесуточно, 20 мг ловастатина ежесуточно, 40 мг правастатина ежесуточно, 40 мг флувастатина ежесуточно и 2 мг питавастатина ежесуточно.

Пациенты, которых можно лечить способами по настоящему изобретению, могут получать один или более других видов модифицирующей уровень липидов терапии не на основе статинов. Альтернативно, они могут не получать другие виды модифицирующей уровень липидов терапии; в этом случае введение ингибитора PCSK9 может быть описано как монотерапия. Как используют в настоящем описании, использование ингибитора PCSK9 в качестве "монотерапии" означает отсутствие любой другой сопутствующей терапии, модифицирующей уровень липидов.

Способы лечения гиперлипидемии и снижения уровней LDL-C в сыворотке.

По определенным вариантам осуществления пациент, которого можно лечить способами по настоящему изобретению, страдает гиперлипидемией, включая гиперхолестеринемию (в некоторых случаях обозначаемую в настоящем описании как "пациент с гиперхолестеринемией"). Как используют в настоящем описании, "гиперхолестеринемия" включает концентрацию LDL-C в сыворотке, более или равную 70 мг/дл, или концентрация LDL-C в сыворотке, более или равную 100 мг/дл, в зависимости от сердечнососудистого риска пациента ("риск CV"). Например, для пациентов с очень высоким риском CV (как определяют далее в настоящем описании) считают, что пациент страдает гиперхолестеринемией, если концентрация LDL-C в сыворотке пациента является большей или равной приблизительно 70 мг/дл. Для пациентов со средним или высоким риском CV (как определено где-либо еще в настоящем описании) считают, что пациент страдает гиперхолестеринемией, если концентрация LDL-C в сыворотке пациента является большей или равной приблизительно 100 мг/дл.

Для целей настоящего изобретения гиперхолестеринемия включает гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию (heFH), гомозиготную семейную гиперхолестеринемию (hoFH), аутосомную доминантную гиперхолестеринемию (ADH, например, ADH, ассоциированную с одной или более мутаций приобретения функции в гене PCSK9), а также частоту возникновения гиперхолестеринемии, которая отличается от семейной гиперхолестеринемии (nonFH).

Настоящее изобретение относится к способам снижения уровней LDL-C в сыворотке у пациента. Пациент может представлять собой пациента с гиперхолестеринемией, пациента, плохо переносящего статины, или любого другого пациента, для которого считают, что снижение уровня LDL-C в сыворотке является благоприятным или желательным. Аналогично, настоящее изобретение относится к способам

снижения уровней LDL-C в сыворотке у пациента без вызывания боли, дискомфорта, слабости или спазма в скелетных мышцах. Как используют в этом контексте, "снижение уровней LDL-C в сыворотке" означает вызывание снижения уровня LDL-C в сыворотке у пациента по меньшей мере на 10% (например, по меньшей мере 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75% или более).

Способы устранения или уменьшения использования статинов.

Настоящее изобретение относится к способам и композиции, пригодным в числе прочего для устранения или уменьшения использования статинов у пациента с гиперлипидемией, включая страдающего гиперхолестеринемией пациента, например страдающего гиперхолестеринемией пациента, который плохо переносит статины. Способы по этому аспекту изобретения включают (а) отбор пациента, который получает или получал ежесуточно терапевтическую схему лечения статинами и который плохо переносит статины, или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами, и (b) отмену или уменьшение ежесуточной терапевтической схемы лечения статинами у пациента и (c) введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту. По определенным вариантам осуществления этого аспекта изобретения ежесуточную терапевтическую схему лечения статинами пациента можно полностью отменять в момент времени начала или непосредственно перед началом терапевтического курса лечения, включающего введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту. В других вариантах осуществления ежесуточную терапевтическую схему лечения статинами пациента можно постепенно уменьшать в момент времени начала или непосредственно перед началом терапевтического курса лечения, включающего введение одной или более доз ингибитора PCSK9 пациенту. Постепенное уменьшение схемы лечения статинами в отношении этого аспекта изобретения может включать уменьшение количества статина, вводимого пациенту, и/или уменьшение частоты введения статина пациенту. Постепенное уменьшение схемы лечения статинами по этому аспекту изобретения может приводить к полному устранению использования статинов пациентом, при этом пациент получает ингибитор PCSK9 вместо статина. В отношении этого неблагоприятные воздействия статинов у пациента снижают или устраняют путем уменьшения или устранения использования статинов пациентом, при этом все еще обеспечивая соответствующее лечение гиперхолестеринемии у пациента в результате введения ингибитора PCSK9.

Терапевтическая эффективность.

Способы по настоящему изобретению приводят к снижению уровней одного или более липидных компонентов в сыворотке, выбранных из группы, состоящей из LDL-C, ApoB100, не-HDL-C, общего холестерина, VLDL-C, триглицеридов, Lp(a) и/или остаточного холестерина, и повышению уровня ApoA-1.

По определенным вариантам настоящего изобретения введение фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9, пациенту с гиперхолестеринемией в качестве монотерапии при отсутствии любой другой модифицирующей уровень липидов терапии приводит к среднему проценту снижения холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 25, 30, 40, 45, 50, 60% или более; среднему проценту снижения ApoB100 от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 25, 30, 40, 50, 60% или более; среднему проценту снижения не-HDL-C от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 25, 30, 40, 50, 60% или более; среднему проценту снижения общего холестерина от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 10, 15, 20, 25, 30, 35% или более и/или среднему проценту повышения ApoA-1 от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10% или более. Величины снижения в процентах различных липидных параметров, как указано выше, можно достигать через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 или более недель после начала схемы лечения, включающей введение ингибитора PCSK9, как описано в настоящем описании (например, 75 или 150 мг mAb316P, вводимого один раз каждые две недели, или другие аналогичные схемы введения; см., например, пример 2 в настоящем описании).

В соответствии с определенными конкретными вариантами осуществления настоящее изобретение относится к способам снижения уровней LDL-C в сыворотке у пациента с гиперхолестеринемией при отсутствии любой другой модифицирующей уровень липидов терапии. Способы по этому аспекту изобретения включают (а) отбор пациента с LDL-C в диапазоне от 100 мг/дл (2,59 ммоль/л) до 190 мг/дл (4,9 ммоль/л), который подвергается среднему сердечно-сосудистому риску и не получает любой другой модифицирующей уровень липидов терапии, и (b) введение многократных доз антитела против PCSK9 пациенту в дозируемом количестве приблизительно от 75 до 150 мг в дозе и с частотой дозирования приблизительно один раз каждые две недели, где приблизительно после 24 недель лечения антителом против PCSK9 у пациента выявляют одно или более улучшений липидных параметров, выбранных из группы, состоящей из снижения уровня LDL-C от исходного уровня приблизительно на 47%, снижения уровня не-HDL-C от исходного уровня приблизительно на 41%, снижения уровня ApoB от исходного уровня приблизительно на 37% и/или снижения уровня общего холестерина от исходного уровня приблизительно на 30%. Способы по этому аспекту изобретения могут включать отмену базисной модифицирующей уровень липидов терапии пациента до начала лечения или одновременно с началом лечения антителом против PCSK9.

Способы по настоящему изобретению приводят к снижению уровней одного или более липидных компонентов в сыворотке, выбранных из группы, состоящей из LDL-C, ApoB100, не-HDL-C, общего хо-

лестерина, VLDL-C, триглицеридов, Lp(a) и/или остаточного холестерина. Например, по определенным вариантам настоящего изобретения введение фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9 пациенту с гиперхолестеринемией, который плохо переносит статины или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами (также обозначаемый в настоящем описании как "плохо переносящий статины пациент с гиперхолестеринемией"), приводит к среднему проценту снижения холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) от исходного уровня в сыворотке по меньшей мере приблизительно на 25, 30, 40, 45, 50, 60% или более; среднему проценту снижения ApoB100 от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 25, 30, 40, 50, 60% или более; среднему проценту снижения не-HDL-C от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 25, 30, 40, 50, 60% или более; среднему проценту снижения общего холестерина от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 10, 15, 20, 25, 30, 35% или более; среднему проценту снижения VLDL-C от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 5, 10, 15, 20, 25, 30% или более; среднему проценту снижения триглицеридов от исходного уровня (например, триглицеридов натощак) по меньшей мере приблизительно на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35% или более и/или среднему проценту снижения Lp(a) от исходного уровня по меньшей мере приблизительно на 5, 10, 15, 20, 25% или более. Величины снижения в процентах различных липидных параметров, как указано выше, можно достигать через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 или более недели после начала схемы лечения, включающей введение ингибитора PCSK9, как описано в настоящем описании (например, 75 или 150 мг mAb316P, вводимого один раз каждые две недели, или другие аналогичные схемы введения; см., например, пример 3 в настоящем описании).

В соответствии с определенными конкретными вариантами осуществления настоящее изобретение относится к способам снижения уровней LDL-C в сыворотке у плохо переносящего статины пациента с гиперхолестеринемией. Способы по этому аспекту изобретения включают (a) отбор пациента с умеренным, высоким или очень высоким сердечно-сосудистым риском, который плохо переносит статины или у которого в анамнезе присутствуют нежелательные реакции при терапии статинами, и (b) введение многократных доз антитела против PCSK9 пациенту в дозируемом количестве приблизительно от 75 до 150 мг в дозе и с частотой дозирования приблизительно один раз каждые две недели, где приблизительно после 24 недель лечения антителом против PCSK9 у пациента выявляют одно или более улучшений липидных параметров, выбранных из группы, состоящей из снижения уровня LDL-C от исходного уровня приблизительно на 45%, снижения уровня не-HDL-C от исходного уровня приблизительно на 40%, снижения уровня ApoB от исходного уровня приблизительно на 36% и/или снижение уровня Lp(a) от исходного уровня приблизительно на 26%. Способы по этому аспекту изобретения могут включать отмену базисной терапии статинами у пациента до начала или одновременно с началом лечения антителом против PCSK9.

#### Ингибиторы PCSK9.

Способы по настоящему изобретению включают введение пациенту терапевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. Как используют в настоящем описании, "ингибитор PCSK9" представляет собой любое средство, которое связывается или взаимодействует с PCSK9 человека и ингибирует нормальную биологическую функцию PCSK9 *in vitro* или *in vivo*. Неограничивающие примеры категорий ингибиторов PCSK9 включают низкомолекулярные антагонисты PCSK9, пептидные антагонисты PCSK9 (например, молекулы "пептидного антитела") и антитела или антигенсвязывающие фрагменты антител, которые специфически связываются с PCSK9 человека.

Как используют в настоящем описании, термин "пропротеиновая конвертаза субтилизин/кексинового 9 типа человека", или "PCSK9 человека", или "hPCSK9" относится к PCSK9, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, представленной в SEQ ID NO: 197 и содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 198, или ее биологически активному фрагменту.

Как используют в настоящем описании термин "антитело" предназначен для обозначения молекул иммуноглобулина, содержащих четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, а также их мультимеров (например, IgM).

Каждая тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемую в настоящем описании как HCVR или V<sub>H</sub>) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub> и C<sub>H3</sub>. Каждая легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (сокращенно обозначаемую в настоящем описании как LCVR или V<sub>L</sub>) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (C<sub>L1</sub>). Области V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> можно дополнительно подразделять на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарностью областями (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> состоит из трех CDR и четырех FR, располагающихся от N-конца к C-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В определенных вариантах осуществления изобретения FR антитела против PCSK9 (или его антигенсвязывающего участка) могут являться идентичными последовательностям зародышевой линии человека или они могут являться модифицированными естественным или искусственным образом. Консенсусную аминокислотную последовательность можно определять на основании анализа расположения "бок-о-

бок" двух или более CDR.

Как используют в настоящем описании, термин "антитело" также включает антигенсвязывающие фрагменты полных молекул антитела. Как используют в настоящем описании, термины "антигенсвязывающий участок" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и т.п. включают любой природный, ферментативно получаемый, синтетический или получаемый генной инженерией полипептид или гликопротеин, который специфически связывается с антигеном с образованием комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антитела можно получать, например, из полных молекул антител любыми подходящими стандартными способами, такими как протеолитическое расщепление или техники рекомбинантной генетической инженерии, включающие манипуляцию с ДНК и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и необязательно константные домены антитела. Такая ДНК является известной и/или легкодоступной, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, например, фаговые библиотеки антител), или ее можно синтезировать. ДНК можно секвенировать и обрабатывать химически или техниками молекулярной биологии, например, для расположения одного или более переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или для введения кодонов, создания остатков цистеина, модификации, добавления или удаления аминокислот и т.д.

Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты F(ab')<sub>2</sub>; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) одноцепочечные молекулы Fv(scFv); (vi) фрагменты dAb и (vii) минимальные распознающие компоненты, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, выделенная определяющая комплементарность область (CDR), такая как пептид CDR3), или пространственно ограниченный пептид FR3-CDR3-FR4. Выражение "антигенсвязывающий фрагмент", как используют в настоящем описании, также включает другие конструируемые молекулы, такие как доменспецифичные антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с пересаженными CDR, диатела, триотела, тетратела, мини-антитела, нанотела (например, одновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т.д.), иммунофармацевтические средства на основе модульного белка малого размера (SMIP) и переменные домены IgNAR акулы.

Антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, содержит по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может являться любого размера или аминокислотного состава и, как правило, содержит по меньшей мере одну CDR, которая является смежной или находится в рамке считывания с одной или более каркасных последовательностей. В антигенсвязывающих фрагментах, содержащих домен V<sub>H</sub>, связанный с доменом V<sub>L</sub>, домены V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> могут располагаться относительно друг друга в любом подходящем порядке. Например, переменная область может являться димерной и содержать димеры V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>, V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> или V<sub>L</sub>-V<sub>L</sub>. Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub>.

В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный по меньшей мере с одним константным доменом. Неограничивающие, иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые можно найти в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают (i) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1; (ii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2; (iii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>3; (iv) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2; (v) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (vi) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (vii) V<sub>H</sub>-C<sub>L</sub>; (viii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1; (ix) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2; (x) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>3; (xi) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2; (xii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (xiii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3 и (xiv) V<sub>L</sub>-C<sub>L</sub>. В любой конфигурации переменных и константных доменов, включая любую из иллюстративных конфигураций, указанных выше, переменные и константные домены могут быть непосредственно связаны друг с другом или могут быть связаны полной или неполной шарнирной или линкерной областью. Шарнирная область может состоять по меньшей мере из 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, которые приводят к гибкой или полугибкой связи между смежными переменными и/или константными доменами в одной молекуле полипептида. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) любой из конфигураций переменного и константного домена, перечисленных выше, в нековалентно связанном состоянии с одним другим и/или с одним или более мономерных доменов V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub> (например, посредством дисульфидной связи(ей)).

Как и в случае полных молекул антитела, антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими).

Мультиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, содержит по меньшей мере два различных переменных домена, где каждый переменный домен может специфически связываться с отдельным антигеном или с различным эпитопом на одном и том же антигене. Любой формат полиспецифического антитела, включая иллюстративные форматы биспецифического антитела, описываемые в настоящем описании, можно адаптировать для использования в отношении антигенсвязывающего фрагмента антитела по настоящему изобретению с использованием общепринятых техник, доступных в данной области.

Константная область антитела является важной для способности антитела фиксировать комплемент и опосредовать клеточнозависимую цитотоксичность. Таким образом, изотип антитела можно выбирать на основании того, является ли желательным для антитела возможность опосредовать цитотоксичность.

Как используют в настоящем описании, термин "антитело человека" предназначен включать антитела, содержащие переменные и константные области, получаемые из последовательностей зародышевой линии иммуноглобулинов человека. Тем не менее антитела человека по изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями зародышевой линии иммуноглобулинов человека (например, мутации, водимые случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или в результате соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и, в частности, в CDR3. Однако термин "антитело человека", как используют в настоящем описании, не предназначен включать антитела, в которых последовательности CDR, получаемые из зародышевой линии, другого вида млекопитающих, такого как мышь, пересаживали в последовательности каркасной области человека.

В настоящем описании термин "рекомбинантное антитело человека" предназначен включать все антитела человека, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют рекомбинантными способами, такие как антитела, экспрессируемые с использованием рекомбинантного экспрессирующего вектора, трансформированного в клетку-хозяина, (описываемые дополнительно ниже), антитела, выделяемые из рекомбинантной, комбинаторной библиотеки антител человека (описываемые дополнительно ниже), антитела, выделяемые у животного (например, мыши), которое является трансгенным по генам иммуноглобулина человека (см. например, Taylor et al., (1992) Nucl. Acids Res., 20:6287-6295), или антитела, получаемые, экспрессируемые, создаваемые или выделяемые любыми другими способами, которые включают сплайсинг последовательностей гена иммуноглобулин человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека содержат переменные и константные области, получаемые из последовательностей зародышевой линии иммуноглобулинов человека. Однако в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные антитела человека подвергают мутагенезу *in vitro* (или, когда используют животное, трансгенное по последовательностям Ig человека, соматическому мутагенезу *in vivo*), и, таким образом, аминокислотные последовательности областей V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые несмотря на то, что их получают из последовательностей зародышевой линии V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> человека и они являются родственными к ним, могут не существовать в природе в зародышевом наборе антитела человека *in vivo*.

Антитела человека могут существовать в двух формах, которые ассоциированы с гетерогенностью шарнирной области. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильную конструкцию четырех цепей приблизительно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе межцепевой дисульфидной связью тяжелой цепи. Во второй форме димеры не являются связанными посредством межцепевых дисульфидных связей, и образуется молекула приблизительно 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепей (полуантитело). Эти формы было очень трудно разделять даже после аффинной очистки.

Частота появления второй формы в различных интактных изоформах IgG обусловлена, но не ограничена этим, структурными различиями, связанными с изоформой шарнирной области антитела. Замена одной аминокислоты в шарнирной области IgG4 человека может значительно снизить появление второй формы (Angal et al., (1993) Molecular Immunology, 30:105) до уровня, как правило, наблюдаемых с использованием шарнирной области IgG1 человека. Настоящее изобретение включает антитела, содержащие одну или более мутаций в шарнирной области, области C<sub>H</sub>2 или C<sub>H</sub>3, которые могут являться желательными, например, для продукции, улучшения выхода желаемой формы антитела.

В настоящем описании "выделенное антитело" означает антитело, которое идентифицировали и отделяли и/или выделяли по меньшей мере из одного компонента его природного окружения. Например, антитело, которое отделяли или удаляли по меньшей мере из одного компонента организма или из ткани, или клетки, в которой антитело существует в природе или продуцируется в природе, представляет собой "выделенное антитело" для целей настоящего изобретения. Выделенное антитело также включает антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Выделенные антитела представляют собой антитела, которые подвергали по меньшей мере одному этапу очистки или выделения. Согласно определенным вариантам осуществления выделенное антитело может, по существу, не содержать другие клеточные вещества и/или химические соединения.

Термин "специфически связывается" или т.п. означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образует комплекс с антигеном, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Способы определения, связывается ли специфически антитело с антигеном, хорошо известны в данной области и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и т.п. Например, антитело, которое "специфически связывается" с PCSK9, как используют в контексте настоящего изобретения, включает антитела, которые связываются с PCSK9 или его участком с K<sub>D</sub> менее приблизительно 1000 нМ, менее приблизительно 500 нМ, менее приблизительно 300 нМ, менее приблизительно 200 нМ, менее приблизительно 100 нМ, менее приблизительно 90 нМ, менее приблизительно 80 нМ, менее приблизительно 70 нМ, менее приблизительно 60 нМ, менее приблизительно 50 нМ, менее приблизительно 40 нМ, менее приблизительно 30 нМ, менее приблизительно 20 нМ, менее приблизительно 10 нМ, менее приблизительно 5 нМ, менее приблизительно 4 нМ, менее приблизительно 3 нМ, менее приблизительно 2 нМ, менее приблизительно 1 нМ или менее приблизительно 0,5 нМ, как измеряют в анализе поверхностного плазмонного резонанса. Тем не менее, выделенное антитело, кото-

рое специфически связывается с PCSK9 человека, обладает перекрестной реактивностью к другим антигенам, таким как молекулы PCSK9 от других (не принадлежащих человеку) видов.

Антитела против PCSK9, пригодные для способов по настоящему изобретению, могут содержать одну или более замен, вставок и/или делеций аминокислот в каркасной и/или CDR областях переменных доменов тяжелой и легкой цепей по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии человека, из которых получают антитела. Такие мутации можно легко устанавливать путем сравнения аминокислотных последовательностей, описываемых в настоящем описании, с последовательностями зародышевой линии, доступными, например, в базах данных общего пользования последовательностей антител. Настоящее изобретение относится к способам, включающим использование антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые получают из любой из аминокислотных последовательностей, описываемых в настоящем описании, где одна или более аминокислот в одной или более каркасных и/или областях CDR подвергают мутации до соответствующего остатка(ов) последовательности зародышевой линии, из которой получают антитело, или до соответствующего остатка(ов) другой последовательности зародышевой линии человека или до консервативной аминокислотной замены соответствующего остатка(ов) зародышевой линии (такие изменения последовательности общепринято обозначают в настоящем описании как "мутации зародышевой линии"). Специалист в данной области, начиная с последовательностей переменной области тяжелой и легкой цепей, описываемых в настоящем описании, может легко получать многие антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или более индивидуальных мутаций зародышевой линии или их сочетания. В определенных вариантах осуществления все каркасные и/или остатки CDR в доменах  $V_H$  и/или  $V_L$  подвергают обратной мутации до остатков, встречающихся в исходной последовательности зародышевой линии, из которой получали антитело. В других вариантах осуществления только определенные остатки подвергают обратной мутации до исходной последовательности зародышевой линии, например, только мутантные остатки, встречающиеся в первых 8 аминокислотах FR1 или в последних 8 аминокислотах FR4, или только мутантные остатки, встречающиеся в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или более остатков каркасной области и/или CDR подвергают мутации до соответствующего остатка(ов) другой последовательности зародышевой линии (например, последовательности зародышевой линии, которая отличается от последовательности зародышевой линии, из которой исходно получают антитело). Кроме того, антитела по настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию двух или более мутаций зародышевой линии в каркасной и/или CDR областях, например, где определенные индивидуальные остатки подвергают мутации до соответствующего остатка конкретной последовательности зародышевой линии, при этом определенные другие остатки, которые отличаются от исходной последовательности зародышевой линии, сохраняют или подвергают мутации до соответствующего остатка отличной последовательности зародышевой линии. После получения антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или более мутаций зародышевой линии, можно легко тестировать на одно или более желаемых свойств, таких как улучшенная специфичность связывания, повышенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные антагонистические или агонистические биологические свойства (соответственно), сниженная иммуногенность и т.д. В настоящем изобретении предусматривают использование антител и антигенсвязывающих фрагментов, получаемых таким общим образом.

Настоящее изобретение также относится к способам, включающим использование антител против PCSK9, содержащих варианты любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, описываемых в настоящем описании, содержащих одну или более консервативных замен. Например, настоящее изобретение относится к использованию антител против PCSK9, содержащих аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, например, 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее и т.д. консервативными аминокислотными заменами относительно любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, описываемых в настоящем описании.

В настоящем описании термин "поверхностный плазмонный резонанс" относится к оптическому явлению, которое обеспечивает возможность анализа взаимодействий в реальном времени путем детекции изменений концентрации белков в матрице биосенсора, например, с использованием системы BIAcore™ (Biacore Life Sciences division of GE Healthcare, Piscataway, NJ).

В настоящем описании термин " $K_D$ " предназначен для обозначения равновесной константы диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.

Термин "эпитоп" относится к антигенной детерминанте, которая взаимодействует с конкретным антигенсвязывающим участком в переменной области молекулы антитела, известной как паратоп. Один антиген может содержать более одного эпитопа. Таким образом, различные антитела могут связываться с различными областями на антигене и могут оказывать различное биологическое действие. Эпитопы могут быть конформационными или линейными. Конформационный эпитоп образуют располагаемые рядом друг с другом в пространстве аминокислоты из различных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, образуемый смежными аминокислотными остатками в полипептидной цепи. В определенных обстоятельствах эпитоп может содержать фрагменты сахаридов, фосфорильные группы или сульфонильные группы на антигене.

По определенным вариантам осуществления антитело против PCSK9, используемое в способах по

настоящему изобретению, представляет собой антитело с зависящими от pH характеристиками связывания. Как используют в настоящем описании, выражение "зависящее от pH связывание" означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обладает "пониженным связыванием с PCSK9 при кислом pH по сравнению с нейтральным pH" (для целей настоящего изобретения, оба выражения можно использовать взаимозаменяемо). Например, антитела "с зависящими от pH характеристиками связывания" включают антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с PCSK9 с более высокой аффинностью при нейтральном pH, чем при кислом pH. В определенных вариантах осуществления антитела и антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению связываются с PCSK9 по меньшей мере в 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 или более раз высокой аффинностью при нейтральном pH, чем при кислом pH.

По этому аспекту изобретения антитела против PCSK9 с зависящими от pH характеристиками связывания могут содержать одну или более аминокислотных вариаций относительно исходного антитела против PCSK9. Например, антитело против PCSK9 с зависящими от pH характеристиками связывания может содержать одну или более замен или вставок гистидина, например, в одной или более CDR исходного антитела против PCSK9. Таким образом, определенные варианты настоящего изобретения относятся к способам, включающим введение антитела против PCSK9, которое содержит аминокислотные последовательности CDR (например, CDR тяжелых и легких цепей), которые являются идентичными аминокислотным последовательностям CDR исходного антитела против PCSK9, за исключением замены одной или более аминокислот одной или более CDR исходного антитела остатком гистидина. Антитела против PCSK9 с зависящими от pH связыванием могут содержать, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более замен гистидина в одной CDR исходного антитела или распределенными на всем протяжении многих (например, 2, 3, 4, 5 или 6) CDR исходного антитела против PCSK9. Например, настоящее изобретение относится к использованию антител против PCSK9 с зависящими от pH связыванием, содержащих одну или более замен гистидина в HCDR1, одну или более замен гистидина в HCDR2, одну или более замен гистидина в HCDR3, одну или более замен гистидина в LCDR1, одну или более замен гистидина в LCDR2 и/или одну или более замен гистидина в LCDR3 исходного антитела против PCSK9.

В настоящем описании выражение "кислый pH" означает pH 6,0 или менее (например, менее приблизительно 6,0, менее приблизительно 5,5, менее приблизительно 5,0 и т.д.). Выражение "кислый pH" включает значения pH приблизительно 6,0, 5,95, 5,90, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 или менее. Как используют в настоящем описании, выражение "нейтральный pH" означает pH приблизительно от 7,0 приблизительно до 7,4. Выражение "нейтральной pH" включает значения pH приблизительно 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 и 7,4.

Неограничивающие примеры антител против PCSK9, которые можно использовать в контексте настоящего изобретения, включают, например, алирокумаб, эволокумаб, бокоцизумаб или их антигенсвязывающие участки.

Получение антител человека.

В данной области известны способы получения антител человека у трансгенных мышей. Любые такие известные способы можно использовать в контексте настоящего изобретения для получения антител человека, которые специфически связываются с PCSK9 человека.

С использованием технологии VELOCIMMUNE™ (см., например, US 6596541, Regeneron Pharmaceuticals) или любого другого известного способа получения моноклональных антител сначала выделяют высокоаффинные химерные антитела против PCSK9, содержащие вариабельную область человека и константную область мыши. Технология VELOCIMMUNE® включает получение трансгенной мыши, содержащей геном, содержащий вариабельные области тяжелой и легкой цепей человека, функционально связанные с эндогенным локусом константной области мыши, таким образом, что у мыши образуется антитело, содержащее вариабельную область человека и константную область мыши в ответ на стимуляцию антигеном. ДНК, кодирующую вариабельные области тяжелой и легкой цепей антитела, выделяют и функционально связывают с ДНК, кодирующей константные области тяжелой и легкой цепей человека. Затем ДНК экспрессируют в клетке, способной экспрессировать полностью принадлежащее человеку антитело.

Как правило, мышь VELOCIMMUNE® стимулируют представляющим интерес антигеном и выделяют лимфатические клетки (такие как В-клетки) у мышей, у которых экспрессируются антитела. Лимфатические клетки можно сливать с линией миеломных клеток для получения иммортализованных линий гибридомных клеток, и такие линии гибридомных клеток подвергают скринингу и отбору для идентификации линий гибридомных клеток, которые продуцируют антитела, специфические к представляющему интерес антигену. ДНК, кодирующую вариабельные области тяжелой цепи и легкой цепи, можно выделять и связывать с желаемыми изотипическими константными областями тяжелой цепи и легкой цепи. Такой антитело-белок можно получать в клетке, такой как клетка CHO. Альтернативно, ДНК, кодирующую специфические к антигену химерные антитела или вариабельные домены легкой и тяжелой цепей, можно выделять непосредственно из специфичных к антигену лимфоцитов.

Сначала выделяют высокоаффинные химерные антитела, содержащие вариабельную область чело-

века и константную область мыши. Антитела характеризуют и отбирают в отношении желаемых характеристик, включая аффинность, селективность, эпитоп и т.д., стандартными способами, известными специалистам в данной области. Константные области мыши заменяют желаемой константной областью человека с получением полностью принадлежащего человеку антитела по изобретению, например, IgG1 или IgG4 дикого типа или модифицированные IgG1 или IgG4. Несмотря на то, что выбранная константная область может изменяться в зависимости от конкретного использования, высокоаффинные антигенсвязывающие характеристики и характеристики специфичности к мишени обусловлены вариабельной областью.

В основном антитела, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению, обладают высокими аффинностями, как описано выше, при измерении по связыванию с антигеном, иммобилизованном на твердой фазе, или в жидкой фазе. Константные области мыши заменяют желаемыми константными областями человека с получением полностью принадлежащих человеку антител по изобретению. Несмотря на то, что выбранная константная область может изменяться в зависимости от конкретного использования, высокоаффинные антигенсвязывающие характеристики и характеристики специфичности к мишени обусловлены вариабельной областью.

Конкретные примеры антител человека или антигенсвязывающих фрагментов антител, которые специфически связываются с PCSK9, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению, включают любое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1 и 11, или, по существу, аналогичную последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности. Альтернативно, конкретные примеры антител человека или антигенсвязывающих фрагментов антител, которые специфически связываются с PCSK9, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению, включают любое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащиеся в вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 141, 149, 157, 165, 173, 181 и 189, или, по существу, аналогичную последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент может содержать три CDR легкой цепи (LCVR1, LCVR2, LCVR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6 и 15, или, по существу, аналогичную последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности. Альтернативно, антитело или антигенсвязывающий фрагмент может содержать три CDR легкой цепи (LCVR1, LCVR2, LCVR3), содержащиеся в вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 105, 113, 121, 129, 137, 145, 153, 161, 169, 177, 185 и 193, или, по существу, аналогичную последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности.

Идентичность последовательности двух аминокислотных последовательностей определяют по всей длине эталонной аминокислотной последовательности, т.е. аминокислотной последовательности, определяемой SEQ ID NO, с использованием лучшего выравнивания последовательностей и/или по всей области лучшего выравнивания последовательностей двух аминокислотных последовательностей, где лучшее выравнивание последовательностей можно получать известными в данной области средствами, например Align, с использованием стандартных настроек, предпочтительно EMBOSS::needle, матрицы: Blosum62, открытие пропуска 10,0, продление пропуска 0,5.

В определенных вариантах настоящего изобретения антитело или антигенсвязывающий белок содержит шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из пар аминокислотных последовательностей вариабельной области тяжелой и легкой цепей (HCVR/LCVR), выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1/6 и 11/15. Альтернативно, в определенных вариантах настоящего изобретения антитело или антигенсвязывающий белок содержит шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из пар аминокислотных последовательностей вариабельной области тяжелой и легкой цепей (HCVR/LCVR), выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 37/41, 45/49, 53/57, 61/65, 69/73, 77/81, 85/89, 93/97, 101/105, 109/113, 117/121, 125/129, 133/137, 141/145, 149/153, 157/161, 165/169, 173/177, 181/185 и 189/193.

В определенных вариантах настоящего изобретения антитело против PCSK9 или антигенсвязывающий белок, который можно использовать в способах по настоящему изобретению, содержит аминокислотные последовательности HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3, выбранные из SEQ ID NO: 2/3/4/7/8/10 (mAb316P [также обозначаемое как "REGN727" или "алирокумаб"]) и 12/13/14/16/17/18 (mAb300N) (см. публикацию патентной заявки США № 2010/0166768) и 12/13/14/16/17/18, где SEQ ID

NO: 16 содержит замену гистидина лейцином в аминокислотном остатке 30 (L30H).

В определенных вариантах настоящего изобретения антитело или антигенсвязывающий белок содержит пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1/6 и 11/15. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность HCVR SEQ ID NO: 1 и аминокислотную последовательность LCVR SEQ ID NO: 6. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность HCVR SEQ ID NO: 11 и аминокислотную последовательность LCVR SEQ ID NO: 15. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность HCVR SEQ ID NO: 11 и аминокислотную последовательность LCVR SEQ ID NO: 15, содержащие замену гистидина лейцином в аминокислотном остатке 30 (L30H).

Фармацевтические композиции и способы введения.

Настоящее изобретение относится к способам, которые включают введение ингибитора PCSK9 пациенту, где ингибитор PCSK9 содержится в фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции по изобретению формулируют с подходящими носителями, эксципиентами и другими средствами, которые обеспечивают подходящие перенос, доставку, переносимость и т.п. Большое число соответствующих составов можно найти в справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Такие составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски, масла, липиды, содержащие липиды (катионные или анионные), везикулы (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбционные пасты, эмульсии типа "масло-в-воде" и "вода-в-масле", эмульсии карбовакса (полиэтиленгликоли различных молекулярных масс), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. Также см. Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Известны различные системы доставки, и их можно использовать для введения фармацевтической композиции по изобретению, например инкапсуляция в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, рецепторно-опосредованный эндоцитоз (см., например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Способы введения включают, но не ограничиваются ими, интрадермальный, внутримышечный, интраперитонеальный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути. Композицию можно вводить любым подходящим путем, например посредством инфузии или болюсной инъекции, путем абсорбции через эпителиальные или слизисто-кожные оболочки (например, слизистую оболочку полости рта, слизистую прямой кишки и кишечника и т.д.) и можно вводить совместно с другими биологически активными средствами.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно доставлять подкожно или внутривенно с использованием стандартной иглы и шприца. Кроме того, в отношении подкожной доставки средство доставки в виде ручки легко находит применение в доставке фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Такое средство доставки в виде ручки может являться пригодным для повторного использования или одноразовым. В средстве доставки в виде ручки, пригодном для повторного использования, как правило, используют заменяемый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. После того как ввели всю фармацевтическую композицию в картридже, и картридж пуст, пустой картридж можно просто выбрасывать и заменять новым картриджем, который содержит фармацевтическую композицию. Затем можно повторно использовать средство доставки в виде ручки. В одноразовом средстве доставки в виде ручки не содержится заменяемый картридж. В противоположность этому одноразовое средство доставки в виде ручки поступает предварительно заполненное фармацевтической композицией, содержащейся в емкости в устройстве. После того как из емкости удаляют фармацевтическую композицию, все устройство выбрасывают.

Многие пригодные для повторного использования средства доставки в виде ручки и автоматического медицинского шприца находят применение для подкожной доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению. Примеры включают, но не ограничиваются ими AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), ручку HUMALOG MIX 75/25™, ручку HUMALOG™, ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly и Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN™ JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), ручку BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany), названы лишь немногие. Примеры одноразовых средств доставки в виде ручки, которые находят применение для подкожной доставки фармацевтической композиции по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, ручку SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), ручку-шприц SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) и ручку HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), названы лишь немногие.

При определенных обстоятельствах фармацевтическую композицию можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном из вариантов осуществления можно использовать насос (см.

Langer, выше; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). В другом варианте осуществления можно использовать полимерные вещества; см., Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. В еще одном варианте осуществления систему с контролируемым высвобождением можно располагать в непосредственной близости от мишени композиции, таким образом, что необходимой является только фракция системной дозы (см., например, Goodson, 1984, в Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138). Другая система с контролируемым высвобождением описана в обзоре Langer, 1990, Science, 249:1527-1533.

Инъецируемые препараты могут включать лекарственные формы для внутривенной, подкожной, внутрикожной и внутримышечной инъекций, видов капельного введения и т.д. Такие инъецируемые препараты можно получать известными способами. Например, инъецируемые препараты можно получать, например, растворением, суспендированием или эмульгированием антитела или его соли, описанной выше, в стерильной водной среде или масляной среде, общепринято используемой для инъекций. В качестве водной среды для инъекций можно назвать, например, физиологический раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства и т.д., которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизатором, таким как спирт (например, этанол), полиспирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное вещество [например, полисорбат 80, продукт присоединения гидрогенизированного касторового масла HCO-50 (полиоксизтилен (50 моль))] и т.д. В качестве масляной среды применяют, например, кунжутное масло, соевое масло и т.д., которые можно использовать в комбинации с солюбилизатором, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Получаемую таким образом инъекцию предпочтительно вносят в подходящую ампулу.

Преимущественно описанные выше фармацевтические композиции для перорального или парентерального использования получают в лекарственных формах в стандартной дозе в соответствии с дозой активных ингредиентов. Такие лекарственные формы в стандартной дозе включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекции (ампулы), суппозитории и т.д.

Иллюстративные фармацевтические составы, содержащие антитело против PCSK9, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению, являются такими, как указано, например, в US 2013/0189277, описание которой, таким образом, полностью включено посредством ссылки.

#### Дозирование.

Количество ингибитора PCSK9 (например, антитела против PCSK9), вводимого пациенту способами по настоящему изобретению, как правило, представляет собой терапевтически эффективное количество. Как используют в настоящем описании, фраза "терапевтически эффективное количество" означает дозу ингибитора PCSK9, которая приводит к детектируемому снижению (по меньшей мере приблизительно на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75% или более от исходного уровня) одного или более параметров, выбранных из группы, состоящей из LDL-C, ApoB100, не-HDL-C, общего холестерина, VLDL-C, триглицеридов, Lp(a) и остаточного холестерина.

В случае антитела против PCSK9 терапевтически эффективное количество может составлять приблизительно от 0,05 мг приблизительно до 600 мг, например приблизительно 0,05 мг, приблизительно 0,1 мг, приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2,0 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 90 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 110 мг, приблизительно 120 мг, приблизительно 130 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 170 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 190 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 210 мг, приблизительно 220 мг, приблизительно 230 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 260 мг, приблизительно 270 мг, приблизительно 280 мг, приблизительно 290 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 310 мг, приблизительно 320 мг, приблизительно 330 мг, приблизительно 340 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 360 мг, приблизительно 370 мг, приблизительно 380 мг, приблизительно 390 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 410 мг, приблизительно 420 мг, приблизительно 430 мг, приблизительно 440 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 460 мг, приблизительно 470 мг, приблизительно 480 мг, приблизительно 490 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 510 мг, приблизительно 520 мг, приблизительно 530 мг, приблизительно 540 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 560 мг, приблизительно 570 мг, приблизительно 580 мг, приблизительно 590 мг или приблизительно 600 мг антитела против PCSK9. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество составляет 75 мг антитела против PCSK9. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество составляет 150 мг антитела против PCSK9.

Количество антитела против PCSK9, содержащееся в отдельных дозах, можно выражать в пересчете на миллиграммы антитела на килограмм массы тела пациента (например, мг/кг). Например, антитело против PCSK9 можно вводить пациенту в дозе приблизительно от 0,0001 приблизительно до 10 мг/кг массы тела пациента.

#### Способы комбинированного лечения.

По определенным вариантам настоящего изобретения один или более видов модифицирующей уровень липидов терапии не на основе статинов можно проводить у пациента в комбинации с ингибито-

ром PCSK9. Примеры таких видов модифицирующей уровень липидов терапии не на основе статинов включают, например, (1) средство, которое ингибирует всасывание холестерина, ингибиторы (например, эзетимиб); (2) средство, которое увеличивает катаболизм липопротеинов (такое как никотиновая кислота, включая ниацин и ниацины с замедленным высвобождением); (3) фибровую кислоту, (4) секвестрант желчных кислот и/или (5) активатор фактора транскрипции LXR, который играет роль в элиминации холестерина (такой как 22-гидроксихолестерол).

Схемы введения.

По определенным вариантам настоящего изобретения пациенту можно вводить многократные дозы ингибитора PCSK9 (например, фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9) в течение определенного периода времени (например, вместо ежедневного терапевтического курса лечения статинами). Способы по этому аспекту изобретения включают последовательное введение пациенту многократных доз ингибитора PCSK9. Как используют в настоящем описании, "последовательно введение" означает, что каждую дозу ингибитора PCSK9 вводят пациенту в различный момент времени, например в различные сутки с определенным интервалом (например, часы, сутки, недели или месяцы). Настоящее изобретение относится к способам, которые включают последовательное введение пациенту одной начальной дозы ингибитора PCSK9 с последующим введением одной или более вторичных доз ингибитора PCSK9 и необязательно с последующим введением одной или более третичных доз ингибитора PCSK9.

Термины "начальная доза", "вторичные дозы" и "третичные дозы" относятся к временной последовательности введения отдельных доз фармацевтической композиции, содержащей ингибитор PCSK9. Таким образом, "начальная доза" представляет собой дозу, которую вводят в начале курса лечения (также обозначаемую как "исходная доза"); "вторичные дозы" представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; и "третичные дозы" представляют собой дозы, которые вводят после вторичных доз. Начальная, вторичные и третичные дозы могут содержать одинаковое количество ингибитора PCSK9, но, как правило, могут отличаться друг от друга частотой введения. Однако в определенных вариантах осуществления количество ингибитора PCSK9, содержащегося в начальной, вторичных и/или третичных дозах, отличается друг от друга (например, повышают или понижают при необходимости) во время курса лечения. В определенных вариантах осуществления две или более (например, 2, 3, 4 или 5) дозы вводят в начале курса лечения как "ударные дозы", за которыми следуют последующие дозы, которые вводят с меньшей частотой (например, "поддерживающие дозы").

В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления настоящего изобретения каждую вторичную и/или третичную дозу вводят от 1 до 26 (например, 1, 1<sup>1/2</sup>, 2, 2<sup>1/2</sup>, 3, 3<sup>1/2</sup>, 4, 4<sup>1/2</sup>, 5, 5<sup>1/2</sup>, 6, 6<sup>1/2</sup>, 7, 7<sup>1/2</sup>, 8, 8<sup>1/2</sup>, 9, 9<sup>1/2</sup>, 10, 10<sup>1/2</sup>, 11, 11<sup>1/2</sup>, 12, 12<sup>1/2</sup>, 13, 13<sup>1/2</sup>, 14, 14<sup>1/2</sup>, 15, 15<sup>1/2</sup>, 16, 16<sup>1/2</sup>, 17, 17<sup>1/2</sup>, 18, 18<sup>1/2</sup>, 19, 19<sup>1/2</sup>, 20, 20<sup>1/2</sup>, 21, 21<sup>1/2</sup>, 22, 22<sup>1/2</sup>, 23, 23<sup>1/2</sup>, 24, 24<sup>1/2</sup>, 25, 25<sup>1/2</sup>, 26, 26<sup>1/2</sup> или более) недель после непосредственно предшествующей дозы. Фраза "непосредственно предшествующая доза", как используют в настоящем описании, означает в последовательности многократных введений дозу антигенсвязывающей молекулы, которую вводят пациенту до введения каждой следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

Способы по этому аспекту изобретения могут включать введение пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз ингибитора PCSK9. Например, в определенных вариантах осуществления пациенту вводят только одну вторичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогично, в определенных вариантах осуществления пациенту вводят только одну третичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз.

В вариантах осуществления, включающих многократные вторичные дозы, каждую вторичную дозу можно вводить с той же частотой, как и другие вторичные дозы. Например, каждую вторичную дозу можно вводить пациенту от 1 до 2, 4, 6, 8 или более недель после непосредственно предшествующей дозы. Аналогично, в вариантах осуществления, включающих многократные третичные дозы, каждую третичную дозу можно вводить с той же частотой, как и другие третичные дозы. Например, каждую третичную дозу можно вводить пациенту от 1 до 2, 4, 6, 8 или более недель после непосредственно предшествующей дозы. Альтернативно, частота, с которой пациенту вводят вторичные и/или третичные дозы, может изменяться во время схемы лечения. Частоту введения врач также может регулировать во время курса лечения в зависимости от потребностей индивидуального пациента после клинического обследования.

По определенным вариантам настоящего изобретения многократные дозы фармацевтической композиции, содержащей приблизительно 75 мг антитела против PCSK9, вводят пациенту с частотой один раз каждые две недели.

По определенным вариантам настоящего изобретения многократные дозы фармацевтической композиции, содержащей приблизительно 150 мг антитела против PCSK9, вводят пациенту с частотой один раз каждые две недели.

По определенным вариантам настоящего изобретения многократные дозы фармацевтической композиции, содержащей приблизительно 75 мг антитела против PCSK9, вводят пациенту с частотой один раз каждые четыре недели.

По определенным вариантам настоящего изобретения многократные дозы фармацевтической композиции, содержащей приблизительно 150 мг антитела против PCSK9, вводят пациенту с частотой один раз каждые четыре недели.

Настоящее изобретение относится к схемам введения, включающим возможность повышения дозы (также обозначаемую в настоящем описании как "модификация дозы"). Как используют в настоящем описании, "возможность повышения дозы" означает, что после получения конкретного числа доз ингибитора PCSK9, если у пациента не получают определенного снижения одного или более определенных терапевтических параметров, в дальнейшем дозу ингибитора PCSK9 увеличивают. Например, в случае схемы лечения, включающей введение дозы 75 мг антитела против PCSK9 пациенту с частотой один раз каждые две недели, если после 8 недель (т.е. 5 доз, вводимых в момент времени неделя 0, неделя 2 и неделя 4, неделя 6 и неделя 8) у пациента не получают концентрацию LDL-C в сыворотке менее 70 мг/дл, то дозу антитела против PCSK9 увеличивают, например, до 150 мг, вводимых один раз каждые две недели в дальнейшем (например, начиная с недели 10, или недели 12, или позже).

В определенных вариантах осуществления антитело против PCSK9 вводят пациенту в дозе приблизительно 75 мг каждые две недели, например по меньшей мере для трех доз.

В определенных вариантах осуществления антитело против PCSK9 вводят пациенту в дозе приблизительно 150 мг каждые две недели, например по меньшей мере для трех доз.

В некоторых вариантах осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 75 мг каждые две недели в течение 12 недель, и дозу сохраняют при 75 мг каждые две недели, если на неделе 8 значение LDL-C у пациента составляло менее 100 мг/дл и представляло собой 30%-ное снижение уровня LDL-C.

В других вариантах осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 75 мг каждые две недели в течение 12 недель и повышают дозу приблизительно до 150 мг каждые две недели, если на неделе 8 значение LDL-C у пациента составляло более или являлось равным 100 мг/дл.

В некоторых вариантах осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 75 мг каждые две недели в течение 12 недель и дозу сохраняли при 75 мг каждые две недели, если на неделе 8 значение LDL-C у пациента составляло менее 70 мг/дл и представляло собой 30%-ное снижение уровня LDL-C.

В другом варианте осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 300 мг каждые четыре недели.

В дополнительном варианте осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 300 мг каждые четыре недели в совокупности для трех доз и изменяют дозу до 150 мг каждые две недели в течение еще 36 недель, если на неделе 8 для пациента не достигали определенной цели лечения, или у пациента не получали по меньшей мере 30%-го понижения уровня LDL-C от исходного уровня.

В определенных вариантах осуществления антитело против PCSK9 вводят пациенту в дозе приблизительно 150 мг каждые четыре недели по меньшей мере для трех доз.

В некоторых вариантах осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 150 мг каждые четыре недели в течение 12 недель и сохраняют дозу при 150 мг каждые четыре недели, если на неделе 8 значение LDL-C у пациента составляло менее 100 мг/дл и представляло собой 30%-ное снижение уровня LDL-C.

В других вариантах осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 150 мг каждые четыре недели в течение 12 недель и повышают дозу приблизительно до 300 мг каждые две недели, если на неделе 8 значение LDL-C у пациента составляло более или являлось равным 100 мг/дл.

В некоторых вариантах осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 150 мг каждые четыре недели в течение 12 недель и сохраняют дозу при 150 мг каждые четыре недели еще в течение 12 недель, если на неделе 8 значение LDL-C у пациента составляло менее 70 мг/дл и представляло собой 30%-ное снижение уровня LDL-C.

В другом варианте осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 300 мг каждые четыре недели.

В дополнительном варианте осуществления антитело вводят пациенту в дозе приблизительно 300 мг каждые четыре недели в совокупности для трех доз и изменяют дозу до 150 мг каждые две недели еще в течение 36 недель, если на неделе 8 для пациента не достигали определенной цели лечения, или у пациента не получали по меньшей мере 30%-го понижения уровня LDL-C от исходного уровня.

### Примеры

Следующие ниже примеры приведены, чтобы предоставить специалистам в данной области полное раскрытие и описание, как получать и использовать способы и композиции по изобретению, и не предназначены для ограничения объема того, что авторы изобретения рассматривают как свое изобретение. Были предприняты попытки с целью обеспечения точности в отношении используемых числовых величин (например, количество, температуры и т.д.), но следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура приведена в градусах Цельсия, и давление является атмосферным или близким к нему.

Пример 1. Получение антител человека против PCSK9 человека.

Антитела человек против PCSK9 получали, как описано в патенте США № 8062640. Иллюстративный ингибитор PCSK9, используемый в следующем ниже примере, представляет собой антитело человека против PCSK9, обозначаемое как "mAb316P", также известное как "REGN727" или "алирокумаб". mAb316P обладает следующими ниже характеристиками аминокислотной последовательности: тяжелая цепь, содержащая SEQ ID NO: 5, и легкая цепь, содержащая SEQ ID NO: 9; переменная область тяжелой цепи (HCVR), содержащая SEQ ID NO: 1, и переменный домен легкой цепи (LCVR), содержащий SEQ ID NO: 6; определяющая комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), содержащая SEQ ID NO: 2, HCDR2, содержащая SEQ ID NO: 3, HCDR3, содержащая SEQ ID NO: 4, определяющая комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), содержащая SEQ ID NO: 7, LCDR2, содержащая SEQ ID NO: 8, и LCDR3, содержащая SEQ ID NO: 10.

Пример 2. Монотерапия антителом против PCSK9 ("mAb316P") в сравнении с эзетимибом у пациентов с гиперхолестеринемией: Результаты для 24 недели, двойное слепое рандомизированное испытание 3 фаза.

### Предшествующий уровень техники

Гиперхолестеринемия, в частности повышение уровней холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C), является основным риском развития атеросклероза и CHD, основной причиной смерти и инвалидности в западном мире. LDL-C определяют как основную мишень для снижающей уровень холестерина терапии и принимают за валидную суррогатную терапевтическую конечную точку. Во многих исследованиях было продемонстрировано, что снижение уровней LDL-C в основном путем ингибирования 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы (HMG CoA) статином снижает риск CHD с сильной прямой зависимостью между уровнями LDL-C и событиями CHD; для каждого снижения уровня LDL-C на 1 ммоль/л (~40 мг/дл) смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (CVD) и заболеваемость снижаются на 22%.

Проводили три исследования 1 фазы с mAb316P и оценивали его показатели безопасности, переносимости и профиль РК/PD. Два исследования предусматривали введение однократной дозы (одно исследование с в/в введением доз от 0,3 до 12 мг и другое исследование с п/к введением доз от 50 до 250 мг), проводимой на здоровых индивидуумах с уровнем LDL-C >100 мг/дл для тех, кому терапия статинами не была показана. Третье исследование проводили на пациентах с гиперхолестеринемией (семейной или несемейной) с п/к введением от однократного до многократного 50, 100, 150 и 200 мг в качестве дополнения к стабильным дозам аторвастатина от 10 до 40 мг/сутки или в качестве монотерапии.

Результаты этих исследований 1 фазы демонстрируют, что mAb316P, вводимое здоровым индивидуумам и пациентам посредством в/в или п/к введения, как правило, являлось хорошо переносимым во всех дозах; для появившихся на фоне лечения нежелательных явлений (TEAE) не выявляли взаимосвязь с дозой. Не идентифицировали профиль нежелательных явлений (AE), связанных с лекарственным средством. Во всех этих исследованиях 1 фазы введение mAb316P индуцировало быстрые, существенные и длительные снижения уровня LDL-C до 60% от исходного уровня. Величина и продолжительность таких снижений являлись прямо пропорциональными вводимой дозе. Также следует отметить, что в третьем исследовании результаты являлись аналогичными у пациентов с семейной и несемейной гиперхолестеринемией. В целом в этих 3 исследованиях 1 фазы всего 109 индивидуумов подвергали воздействию по меньшей мере 1 дозы mAb316P.

Также проводили три исследования 2 фазы. Результаты этих исследований были описаны ранее.

Введение.

В настоящем примере проводили клиническое испытание 3 фазы для оценки эффективности и безопасности mAb316P при введении в качестве монотерапии.

Целью этого исследования являлось предоставление информации о величине эффекта и показателей безопасности, когда исследуемый продукт mAb316P используют в качестве монотерапии. Получение данных об эффективности и безопасности mAb316P при его использовании в качестве единственного лекарственного средства важно рассматривать в перспективе с данными, получаемыми, когда его используют в качестве дополнения к статину.

Другой целью этого исследования являлось предоставление данных о монотерапии, подтверждающих оценку mAb316P у пациентов, плохо переносящих статины. Существующие в настоящее время понижающие уровень LDL-C лекарственные средства, которые можно использовать в качестве монотерапии, когда статины считают недопустимыми или плохо переносимыми, включают эзетимиб, ниацин и секвестранты желчных кислот. Такие варианты, которые можно было бы использовать в монотерапии, ассоциированы приблизительно с 20%-ным понижением уровня LDL-C.

Контрольная группа, которую выбирали для этого исследования, представляла собой 10 мг эзетимиба п/о ежедневно. Это обеспечивает возможность сравнения mAb316P и варианта лечения (т.е. эзетимиба), который является доступным в общепринятой клинической практике.

Это конкретное исследование проводили для демонстрации того, что у пациентов со средним риском CV и с LDL-C в диапазоне от 100 мг/дл (2,59 ммоль/л) до 190 мг/дл (4,9 ммоль/л) 75 и/или 150 мг mAb316P каждые 2 недели в качестве монотерапии вызывает статистически значимое и клинически зна-

чимое понижение уровня LDL-C по сравнению с эзетимибом.

Популяция исследования.

Популяция исследования для исследования с монотерапией представляла собой пациентов с LDL-C в диапазоне от 100 мг/дл (2,59 ммоль/л) до 190 мг/дл (4,9 ммоль/л).

В это исследование входили пациенты со средним риском CV, как определяют по рискам смертельного исхода от CVD в течение 10 лет  $\geq 1$  и  $< 5\%$  на основании карты SCORE, и без установленных эквивалентов рисков CHD или CHD. Карты рисков, такие как SCORE, предназначены облегчать оценку рисков у практически здоровых индивидуумов без признаков клинического или доклинического заболевания. По SCORE измеряют риск смертельного исхода от CV в течение 10 лет на основании общего холестерина, возраста, пола, курения и систолического кровяного давления (BP). Этот уровень риска считают подходящим для исследования монотерапии с активным препаратом сравнения, не являющимся статином.

Объем выборки 100 пациентов (50 пациентов в группе) с продолжительностью двойного слепого исследования лечения 24 недели был предназначен обеспечивать детекцию различий лечения 20% среднего процента изменений уровня LDL-C от исходного уровня до недели 24 с двух сторонним уровнем значимости 0,05 и допущением общего SD 25 и 5% не поддающейся оценке первичной конечной точки.

Выбор дозы.

Все пациенты сначала получали лечение 75 мг каждые 2 недели, и только для тех пациенты, у которых уровни LDL-C оставались равными или выше 100 мг/дл после 8 недель лечения, повышали дозу до 150 мг каждые 2 недели на неделе 12 в дальнейшем.

Выбор дозы, частоты дозирования и подхода повышения дозы основан на снижении уровня LDL-C, необходимом для обеспечения наилучшего эффекта в отношении снижения заболевания CV и соображения потенциальной безопасности в отношении низких значений LDL-C. На основании результатов 2 исследований подбора дозы ожидают, что режим дозирования каждые 2 недели поддерживает постоянное снижение уровня LDL-C на всем протяжении интервала между дозированием с максимальной эффективностью через 12 недель, обеспечиваемой дозированием 150 мг каждые 2 недели. Однако для многих пациентов величина наблюдаемого эффекта с дозой 150 мг каждые 2 недели может не являться необходимой для достижения целевого уровня LDL-C и можно начинать с более низкой дозы. С использованием модели "доза-эффект" выбирали 75 мг каждые 2 недели для обеспечения приблизительно 50%-го снижения LDL-C от исходного уровня: все пациенты сначала получали лечение 75 мг каждые 2 недели и только для тех пациентов, у которых уровни LDL-C оставались равными или выше 100 мг/дл после 8 недель лечения, повышали дозу до 150 мг каждые 2 недели (на неделе 12). С этой схемой лечения ожидают, что для большей части пациентов с первичной гиперхолестеринемией получают их целевой уровень LDL-C, где для нескольких пациентов получают уровень ниже 25 мг/дл.

Предварительные данные PK из исследования 2 фазы демонстрировали, что воздействие mAb316P снижалось в течение периода последующего наблюдения в течение 8 недель, который следовал после периода двойного слепого лечения, где общие концентрации mAb316P в сыворотке являлись все еще детектируемыми, но на очень низких уровнях. Таким образом, для подтверждения достаточной низких неэффективных концентраций mAb316P в сыворотке за пациентами наблюдали в течение последующего периода наблюдения 8 недель (т.е. через 10 недель после последнего дозирования). Результаты фармакокинетических параметров в этом испытании являются важными, т.к. не существует фонового уровня статинов, который ослабляет эффект mAb316P.

Задачи исследования.

Первичная задача исследования монотерапии заключалась в демонстрации снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) mAb316P каждые 2 недели (Q2W) в качестве монотерапии в сравнении с 10 мг эзетимиба (EZE) ежедневно через 24 недели лечения у пациентов с гиперхолестеринемией, подвергающихся среднему сердечно-сосудистому (CV) риску.

Вторичные задачи исследования монотерапии являлись такими, как указано ниже. (1) Оценка эффекта 75 мг mAb316P в сравнении с EZE на уровень LDL-C после 12 недель лечения. (2) Оценка эффекта mAb316P на другие липидные параметры (т.е. ApoB, не-HDL-C, общий-C, Lp (a), HDL-C, уровни TG и уровни ApoA-I). (3) Оценка безопасности и переносимости MAb316P. (4) Оценка образования антител против MAb316P. (5) Оценка фармакокинетики (PK) MAb316P.

План исследования.

Это являлось рандомизированным, двойным слепым, контролируемым эзетимибом, сбалансированным (1:1, mAb316P:эзетимиб), многоцентровым, многонациональным исследованием с двойной имитацией на параллельных группах для оценки эффективности и безопасности mAb316P у пациентов с гиперхолестеринемией и оценкой риска в течение 10 лет (SCORE)  $\geq 1$  и  $< 5\%$ . Рандомизацию стратифицировали в соответствии со статусом DM. После рандомизации пациенты получали лечение в рамках двойного слепого исследования (mAb316P или плацебо) каждые 2 недели и эзетимиб или плацебо для эзетимиба p/o ежедневно в течение периода продолжительностью 24 недели.

Повышение дозы в зависимости от уровней LDL-C на неделе 8 можно проводить на неделе 12 для пациентов, рандомизированных в группу mAb316P. За пациентами наблюдали в течение 8 недель после последнего визита периода лечения в двойном слепом режиме (DBTP). План исследования продемонстри-

рирован на фиг. 1.

Описание протокола.

Исследование состояло из 3 периодов: скрининг, лечение в двойном слепом режиме и последующее наблюдение.

Период скрининга - продолжительность до 2 недель, включая промежуточный визит, во время которого пациент (или другое уполномоченное лицо, такое как супруга, родственник и т.д.) тренировались вводить себе инъекцию/инъецировать плацебо для mAb316P. Проводили оценки соответствия критериям для обеспечения возможности рандомизации пациентов в исследовании. Исследователи имели возможность предоставить второй тренировочный набор плацебо для mAb316P пациентам, которым требовалась дополнительная тренировка по введению себе инъекции перед визитом рандомизации. Пациент или исследователь мог выбирать возможность проведения инъекции пациенту дома или в исследовательском центре.

Период лечения в двойном слепом режиме (DBTP) - период лечения в рамках рандомизированного, двойного слепого исследования с двойной имитацией в течение 24 недель. Первую инъекцию во время двойного слепого периода проводили в центре на сутки рандомизации (неделя 0 [D1]-V3) и как можно скорее после обращения в IVRS/IWRS для рандомизации в исследовании. Последующие инъекции проводил пациент (самостоятельное проведение инъекции) или другое уполномоченное лицо (такое как супруга, родственник и т.д.) в месте, предпочтительном для пациента (дом и т.д.). Пациенты, рандомизированные в группу mAb316P, получали дозу 75 мг mAb316P от момента рандомизации (V3) до недели 12 (V6) (т.е. недели 0, 2, 4, 6, 8 и 10)+плацебо для эзетимиба п/о ежедневно. Во время визита на неделе 12 (V6) эти пациенты в слепом режиме: (1) продолжали принимать 75 мг mAb316P каждые 2 недели (от недели 12 в дальнейшем до последней инъекции на неделе 22), если уровень LDL-C на неделе 8 составлял <100 мг/дл (1,81 ммоль/л), или (2) повышали дозу до 150 мг mAb316P каждые 2 недели (от недели 12 в дальнейшем до последней инъекции на неделе 22), если уровень LDL-C на неделе 8 составлял ≥2100 мг/дл (1,81 ммоль/л). Пациенты, рандомизированные в группу эзетимиба, получали плацебо mAb316P, инъекцируемое каждые 2 недели, +10 мг эзетимиба п/о ежедневно от момента рандомизации (V3) до недели 24 (V8).

Период последующего наблюдения - период продолжительностью 8 недель после конца периода лечения в двойном слепом режиме.

Продолжительность участия в исследовании.

Продолжительность исследования включала период скрининга до 2 недель, период лечения в двойном слепом режиме в течение 24 недель для оценки эффективности и безопасности и период последующего наблюдения после лечения в течение 8 недель для всех пациентов после последнего визита DBTP. Таким образом, продолжительность исследования на пациента составляла приблизительно 34 недели.

Отбор пациентов.

Целевой популяцией для этого исследования являлись пациенты с гиперхолестеринемией со средним сердечно-сосудистым (CV) риском, определяемые по оценке риска в течение 10 лет  $\geq 1$  и  $< 5\%$  по шкале Systematic Coronary Risk Estimation (SCORE), и включала подписанное письменное информированное согласие.

Пациентов, которые соответствовали всем указанным выше критериям включения, подвергали скринингу на последующие критерии исключения, которые классифицированы и пронумерованы в следующих ниже 3 подразделах.

A. Критерии исключения, связанные с методологией исследования.

1. LDL-C <100 мг/дл или >190 мг/дл (<2,59 ммоль/л или >4,9 ммоль/л соответственно) на неделе 2 (скрининг, V1).

2. Наличие в анамнезе установленного CHD или эквивалентов риска CHD, как определяют по (A) Подтвержденному анамнезу CHD (включает один или более из следующих ниже): (1) острого инфаркта миокарда (MI); (2) бессимптомного MI; (3) нестабильной стенокардии; (4) процедуры реваскуляризации коронарных артерий (например, чрескожного коронарного вмешательства [PCI] или шунтирования коронарных артерий [CABG]); (5) клинически значимого CHD, диагностируемого инвазивным или неинвазивным тестированием (таким как коронарная ангиография, стресс-тест с использованием беговой дорожки, стресс-эхокардиография или радионуклидная визуализация); (B) Эквивалентам риска CHD, которые включают клинические проявления некоронарогенных форм атеросклеротической болезни: (1) симптоматическое поражение периферических артерий; (2) аневризмы брюшной аорты или (3) транзиторные ишемические атаки или ишемический инсульт и "клинически значимую обструкцию сонной артерии инвазивным или неинвазивным тестированием (таким как ангиография или ультразвук)".

3. Пациенты с DM, ассоциированной со шкалой риска SCORE  $\geq 5\%$  или с любым дополнительным фактором риска (как перечислено ниже): (1) подтвержденный анамнез лодыжечно-плечевого индекса  $\leq 0,90$ ; (2) подтвержденный анамнез микроальбуминурии или макроальбуминурии (30) анализ мочи с помощью индикаторной полоски OR во время визита скрининга (неделя -2) с >2+белок; или (3) подтвержденный анамнез препролиферативной или пролиферативной ретинопатии или лечения лазером ретино-

патии.

4. Использование статина, никотиновой кислоты, связывающего желчные кислоты секвестранта, блокатора всасывания холестерина в кишечнике (ICA) (т.е. эзетимиба) или омега-3-жирных кислот в дозах >1000 мг ежедневно за 4 недели до визита скрининга (неделя -2, V1) или в период времени между визитами скрининга и рандомизации.

5. Использование фибрата за 6 недель до визита скрининга (неделя -2, V1) или в период времени между визитами скрининга и рандомизации.

6. Использование нутрицевтических продуктов или терапевтических средств, отпускаемых без рецепта, которые могут влиять на липиды, которые не поступали в стабильной дозе/количестве в течение по меньшей мере 4 недель до визита скрининга (неделя -2) или в период времени между визитами скрининга и рандомизации.

7. Использование продуктов на основе красного ферментированного риса за 4 недели до визита скрининга (неделя -2) или в период времени между визитами скрининга и рандомизации.

8. Планируемое прохождение PCI, CABG, реваскуляризации сонных или периферических артерий во время исследования.

9. Систолическое артериальное давление (BP) >160 мм рт.ст. или диастолическое BP >100 мм рт.ст. во время визитов скрининга (неделя -2, V1) или рандомизации (неделя 0).

10. Наличие в анамнезе сердечной недостаточности III или IV класса согласно Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) за последние 12 месяцев.

11. Известный анамнез геморрагического инсульта.

12. Возраст <18 лет или совершеннолетия во время визита скрининга (неделя -2) в зависимости от того, что больше.

13. Пациенты предварительно не получали инструкции касательно снижающей уровень холестерина диеты до визита скрининга (неделя -2).

14. Впервые диагностированный (за 3 месяца до визита рандомизации [неделя 0]) или плохо контролируемый (HbA<sub>1c</sub> >8,5% во время визита скрининга [неделя -2]) диабет.

15. Наличие любого клинически значимого неконтролируемого эндокринного заболевания, для которого известно, что оно влияет на уровни липидов или липопротеинов в сыворотке. Примечание: пациентов, получающих заместительную терапию щитовидной железы, можно включать в исследование, если дозирование являлось стабильным в течение по меньшей мере 12 недель до скрининга, и уровень TSH находится в нормальном диапазоне согласно центральной лаборатории во время визита скрининга.

16. Наличие в анамнезе бариатрической хирургии за 12 месяцев до визита скрининга (неделя -2).

17. Нестабильная масса, определяемая по изменению >5 кг за 2 месяца до визита скрининга (неделя -2).

18. Известный анамнез гомозиготной или гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии.

19. Известный анамнез утраты функции PCSK9 (т.е. генетическая мутация или изменение последовательности).

20. Использование системных кортикостероидов, если их не используют в качестве заместительной терапии заболевания гипофиза/надпочечников со стабильной схемой лечения в течение по меньшей мере 6 недель до визита рандомизации (неделя 0). Примечание: местные, внутрисуставные, назальные, ингалируемые и офтальмологические стероидные терапевтические средства не рассматривают как "системные", и они являются допустимыми.

21. Использование непрерывной гормональной заместительной терапии на основе эстрогена или тестостерона, за исключением случаев, когда схема лечения являлась стабильной последние 6 недель до визита скрининга (неделя -2) и не планируют изменять схему лечения во время исследования.

22. Наличие в анамнезе злокачественной опухоли за последние 5 лет, за исключением случаев излечения до возможной степени базально-клеточного рака кожи, плоскоклеточного рака кожи или рака шейки матки in situ.

23. Известный анамнез положительного результата анализа на ВИЧ.

24. Пациент, который принимал любые экспериментальные лекарственные средства, отличные от наборов для тренировки плацебо MAb316P за 1 месяц или 5 периодов полувыведения, в зависимости от того, что дольше.

25. Пациент, который ранее принимал участие в любом клиническом испытании MAb316P или любой другой терапии, направленной на PCSK9.

26. Пациент, который отзывает согласие во время периода скрининга (пациент, который не готов продолжать или не возвращается).

27. Состояния/ситуации, такие как (1) любая клинически значимая аномалия, идентифицируемая в момент скрининга, которая по мнению исследователя или любого соисследователя исключает безопасное завершение исследования или ограничивает оценку конечных точек, такая как основная системная болезнь, пациенты с короткой продолжительностью жизни, или (2) пациенты, которые по мнению исследователя или любого соисследователя являются неподходящими для этого исследования по любой причине, например (а) считаются неспособными удовлетворять конкретным требованиям прото-

кола, таким как плановые визиты; (b) считаются неспособными вводить или переносить длительные инъекции на основании мнения пациента или исследователя; (c) исследователь или любой соисследователь, фармацевтический работник, координатор исследования, другой персонал, участвующий в исследовании, или его родственник, непосредственно участвующий в проведении протокола и т.д., или (d) наличие любых других условий (например, географических, социальных) фактических или предполагаемых, которые по мнению исследователя задержат или ограничат участие пациента на протяжении всего периода продолжительности исследования.

28. Результаты лабораторных анализов во время периода скрининга (не включая лабораторные анализы во время рандомизации неделя 0): (1) положительный результат теста на поверхностный антиген гепатита В или антитела против гепатита С (подтвержденный рефлексивным тестированием); (2) положительный тест на беременность бета-hCG в сыворотке или моче (включая неделю 0) у женщин детородного возраста; (3) триглицериды >400 мг/дл (>4,52 ммоль/л) (допускают 1 повторение лабораторного анализа); (4) eGFR <60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> по формуле исследования MDRD с 4 переменными (рассчитываемой центральной лабораторией); (5) ALT или AST >3×ULN (допускают 1 повторение лабораторного анализа); (6) СРК >3×ULN (допускают 1 повторение лабораторного анализа) или (7) TSH <LLN или >ULN.

В. Критерии исключения, связанные с базисной терапией.

29. Все противопоказания для активного препарата сравнения (эзетимиба) или предупреждение/предостережение использования (при необходимости), как указано в соответствующей национальной маркировке продукции.

С. Критерии исключения, связанные с MAb316P.

30. Известная гиперчувствительность к терапевтическим средствам на основе моноклонального антитела.

31. Беременные или кормящие грудью женщины.

32. Женщины детородного возраста без эффективного контрацептивного способа контроля рождаемости и/или которые не желают или не способны проходить тест на беременность.

Примечание: женщины детородного возраста должны иметь подтвержденный отрицательный тест на беременность во время визитов скрининга и рандомизации. Они должны использовать эффективный способ контрацепции на всем протяжении исследования и соглашаться повторять тест мочи на беременность во время установленных визитов. Применяемые способы контрацепции должны соответствовать критериям высокоэффективного способа контроля рождаемости в соответствии с примечанием для руководства по безопасности доклинических исследований для проведения клинических испытаний на человеке и регистрационного удостоверения фармацевтических препаратов. У женщин после менопаузы должна присутствовать аменорея в течение по меньшей мере 12 месяцев.

Виды лечения в рамках исследования.

Исследуемый лекарственный препарат (ИМР) и введение.

Стерильный лекарственный продукт mAb316P поставляли в концентрации 75 и 150 мг/мл оба в виде объема 1 мл в автоматическом медицинском шприце. Стерильное плацебо для mAb316P получали в том же составе как mAb316P без добавления белка в виде объема 1 мл в автоматическом медицинском шприце.

Заключенные в капсулу таблетки эзетимиба 10 мг. Плацебо для капсул эзетимиба.

ИМР mAb316P можно вводить путем самостоятельного проведения инъекции или посредством другого уполномоченного лица (такого как супруга, родственник и т.д.). Использованный автоматический медицинский шприц выбрасывали в контейнер для игл, который предоставляли пациентам.

Пациентов просили хранить ИМР mAb316P в холодильнике. Перед введением ИМР следовало извлекать и помещать в безопасное место при комнатной температуре в течение приблизительно от 30 до 40 мин. В дальнейшем ИМР следует вводить как можно скорее.

Во время периода лечения в двойном слепом режиме mAb316P или плацебо для mAb316P вводили подкожно каждые 2 недели, начиная с недели 0 продолжая до последней инъекции за 2 недели (неделя 22) до конца периода лечения в двойном слепом режиме.

Инъекции ИМР MAb316P в идеале вводили каждые 2 недели подкожно приблизительно в одно и то же время суток; однако приемлемым являлся период окна  $\pm 3$  суток.

Капсулы эзетимиба 10 мг или плацебо для эзетимиба принимали перорально один раз в сутки приблизительно в одно и то же время суток с пищей или без нее.

Конечные точки исследования.

Первичная конечная точка оценки эффективности.

Первичная конечная точка оценки эффективности представляет собой процент изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня на неделе 24, которую определяют как  $100 \times (\text{рассчитываемое значение LDL-C на неделе 24} / \text{рассчитываемое значение LDL-C исходного уровня}) / \text{рассчитываемое значение LDL-C исходного уровня}$ .

Рассчитываемое значение LDL-C исходного уровня представляло собой последний уровень LDL-C, получаемый перед первым ИМР в двойном слепом режиме, определяемом как самый ранний между датой

первой инъекции в двойном слепом режиме и первым приемом капсулы.

Рассчитываемые LDL-C на неделе 24 представлял собой уровень LDL-C, получаемый в рамках окна времени недели 24 и во время основного периода эффективности. Основным периодом эффективности определяли как время от первого IMP в двойном слепом режиме до момента времени через 21 суток после последней инъекции IMP в двойном слепом режиме или до верхней границы окна анализа недели 24 в зависимости от того, что наступит раньше.

Все рассчитываемые значения LDL-C (плановые или неплановые, натошак или не натошак) можно использовать для получения значения первичной конечной точки оценки эффективности при необходимости в соответствии с указанным выше определением.

Вторичные конечные точки оценки эффективности.

Ключевые вторичные конечные точки оценки эффективности.

(1) Процент изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня до недели 12: аналогичное определение и правила, как указано выше, за исключением того, что рассчитываемый LDL-C на неделе 12 представлял собой уровень LDL-C, получаемый в рамках окна анализа недели 12 и во время период эффективности в течение 12 недель. Период эффективности в течение 12 недель определяли как время от первого IMP в двойном слепом режиме до контакта IVRS пополнения визит 6 или через 21 сутки после последней инъекции IMP в двойном слепом режиме в зависимости от того, что наступит раньше. Образцы крови, собираемые на сутки контакта IVRS пополнения визит 6, расценивали как до титрования.

(2) Процент изменения уровня ApoB от исходного уровня к неделе 24. Такое же определение и правила, как для первичной конечной точки.

(3) Процент изменения уровня не-HDL-C от исходного уровня к неделе 24. Такое же определение и правила, как для первичной конечной точки.

(4) Процент изменения уровня общего-C от исходного уровня к неделе 24. Такое же определение и правила, как для первичной конечной точки.

(5) Процент изменения уровня ApoB от исходного уровня к неделе 12. Такое же определение и правила, как для процента изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня к неделе 12.

(6) Процент изменения уровня не-HDL-C от исходного уровня к неделе 12. Такое же определение и правила, как для процента изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня к неделе 12.

(7) Процент изменения уровня общего-C от исходного уровня к неделе 12. Такое же определение и правила, как для процента изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня к неделе 12.

(8) Доля пациентов, которая достигла целевого уровня LDL-C <100 мг/дл (2,59 ммоль/л) на неделе 24, с использованием определения и правил, используемых для первичной конечной точки.

(9) Доля пациентов, которая достигла целевого уровня LDL-C <70 мг/дл (1,81 ммоль/л) на неделе 24, с использованием определения и правил, используемых для первичной конечной точки.

(10) Процент изменения уровня Lp(a) от исходного уровня к неделе 24. Такое же определение и правила, как для первичной конечной точки.

(11) Процент изменения уровня HDL-C от исходного уровня к неделе 24. Такое же определение и правила, как для первичной конечной точки.

(12) Процент изменения уровня HDL-C от исходного уровня к неделе 12. Такое же определение и правила, как для процента изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня к неделе 12.

(13) Процент изменения уровня Lp(a) от исходного уровня к неделе 12. Такое же определение и правила, как для процента изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня к неделе 12.

(14) Процент изменения уровня TG натошак от исходного уровня к неделе 24. Такое же определение и правила, как для первичной конечной точки.

(15) Процент изменения уровня TG натошак от исходного уровня к неделе 12. Такое же определение и правила, как для процента изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня к неделе 12.

(16) Процент изменения уровня ApoA-1 от исходного уровня к неделе 24. Такое же определение и правила, как для первичной конечной точки.

(17) Процент изменения уровня ApoA-1 от исходного уровня к неделе 12. Такое же определение и правила, как для процента изменения рассчитываемого LDL-C от исходного уровня к неделе 12.

Другие вторичные конечные точки оценки эффективности.

(18) Доля пациентов, которые достигли LDL-C <100 мг/дл (2,59 ммоль/л) на неделе 12.

(19) Доля пациентов, которые достигли LDL-C <70 мг/дл (1,81 ммоль/л) на неделе 12.

(20) Абсолютное изменение уровня LDL-C (мг/дл и ммоль/л) от исходного уровня к неделям 12 и 24.

(21) Изменение отношения ApoB/ApoA-1 от исходного уровня к неделе 12 к неделе 24.

(22) Доля пациентов с ApoB <80 мг/дл (0,8 г/л) на неделе 12 и неделе 24.

(23) Доля пациентов с не-HDL-C <100 мг/дл (2,59 ммоль/л) на неделях 12 и 24.

(24) Доля пациентов с LDL-C <70 мг/дл (1,81 ммоль/л) и/или 50% понижением уровня LDL-C (если LDL-C 70 мг/дл [1,81 ммоль/л]) на неделях 12 и 24.

Способ оценки эффективности.

Липидные параметры.

Измеряли непосредственно общий-С, HDL-С, TG, ApoB, ApoA-1 и Lp(a). LDL-С рассчитывали с использованием формулы Фридвальда при всех визитах (за исключением недели -1 и визита последующего наблюдения). Если значения TG превышали 400 мг/дл (4,52 ммоль/л), то в центральной лаборатории рефлексивно измеряли (способом количественного определения бета-липопротеинов) уровни LDL-С, а не рассчитывали их. Рассчитывали уровень не-HDL-С путем вычитания HDL-С из общего-С. Рассчитывали отношение ApoB/ApoA-1.

Конечные точки оценки безопасности - период наблюдения.

Наблюдение за данными безопасности являлось таким, как указано ниже:

Период подготовки к лечению: период наблюдения подготовки к лечению определяли из подписанного информированного согласия до первой дозы IMP в двойном слепом режиме.

Период TEAE: период наблюдения TEAE определяли как время от первой дозы IMP в двойном слепом режиме до последней дозы инъекции IMP в двойном слепом режиме +70 суток (10 недель), т.к. ожидают, что остаточное действие MAb316P сохраняется до 10 недель после прекращения инъекции IMP в двойном слепом режиме.

Период после лечения: период наблюдения после лечения определяли как время, начинающееся на следующие сутки после завершения периода TEAE до конца исследования.

Конечные точки оценки безопасности - лабораторные показатели безопасности.

Клинические данные лабораторных анализов состояли из анализа мочи и анализа крови, общего анализа крови (количества RBC, относительной ширины распределения эритроцитов по объему (RDW), количества ретикулоцитов, гемоглобина, гематокрита, тромбоцитов, количества WBC с дифференцированным подсчетом), стандартных химических параметров (глюкоза, натрий, калий, хлорид, бикарбонат, кальций, фосфор, азот мочевины, креатинин, мочевиная кислота, общий белок, LDH, альбумин,  $\gamma$ -глутамилтрансфераза [ $\gamma$ GT]), антитело против гепатита С, печеночные пробы (ALT, AST, ALP и общий билирубин) и СРК.

Конечные точки оценки безопасности - измерение показателей жизненно важных функций: показатели жизненно важных функций включали HR, систолическое и диастолическое ВР в сидячем положении.

Другие конечные точки оценки антитела против MAb316P: антитела против mAb316P включали статус по антителам (положительный/отрицательный) и титры антитела.

Время отбора проб: образцы сыворотки для определения антитела против mAb316P периодически отбирали на всем протяжении исследования. Первый плановый образец получали во время визита рандомизации перед инъекцией IMP (до введения дозы).

У пациентов, у которых титр антитела против mAb316P составлял 240 или выше во время визита последующего наблюдения, получали дополнительный образец(ы) антитела от 6 до 12 месяцев после последней дозы и в дальнейшем приблизительно каждые 3-6 месяцев до тех пор, пока титр возвращался ниже 240. Для сохранения слепого режима исследования запросы сбора образцов антител против mAb316P после исследования направляли для пациентов с титрами ниже 240 во время визита последующего наблюдения.

Процедура отбора проб: для каждого образца антитела против mAb316P собирали кровь объемом пять (5) мл.

Биоаналитический способ: анализировали все образцы антитела против mAb316P (ADA; антитело против лекарственного средства).

Образцы антитело против mAb316P анализировали с использованием утвержденного, неколичественного, мостикового иммунологического анализа на основе титра. Это включало первичный скрининг, подтверждающий анализ на основе специфичности лекарственного средства и измерение титра антител против MAb316P в образце. Нижний предел детекции составлял приблизительно 1,5 нг/мл.

Образцы, которые являлись положительными в анализе ADA, оценивали на нейтрализующие антитела с использованием утвержденного, неколичественного, конкурентного анализа связывания лиганда. Нижний предел детекции на основе моноклонального нейтрализующего антитела положительного контроля составляет 390 нг/мл.

hs-CRP: процент изменения уровня hs-CRP от исходного уровня к неделе 12 и неделе 24.

HbA1C: абсолютное изменение уровня HbA1c (%) от исходного уровня к неделе 12 и неделе 24.

Опросник пациента EQ-5D: EQ-5D представляет собой стандартизованный показатель статуса здоровья, разработанный группой EuroQol для обеспечения простого, общего показателя здоровья для клинической и экономической оценки. EQ-5D в качестве показателя связанного со здоровьем качества жизни определяет состояние здоровья по 5 измерениям: подвижность, самообслуживание, повседневная деятельность, боль/дискомфорт, тревожность/депрессия. Каждое измерение может принимать одну из трех характеристик (3 порядковых уровня тяжести): "отсутствие проблем" (1), "некоторые проблемы" (2), "тяжелые проблемы" (3). Общее состояние здоровья определяют как 5-значное число. Статус здоровья, определяемый классификацией по 5 признакам, можно преобразовывать в соответствующие оценки показателя, которые количественно характеризуют статус здоровья, где 0 представляет собой "случай

смерти" и 1 представляет собой "прекрасное здоровье". Если характеристика одного или более измерений отсутствует, оценка показателя отсутствует.

Переменные EQ-5D включали характеристику каждого элемента EQ-5D, оценку показателя и изменение оценки показателя относительно исходного уровня.

Фармакокинетика: фармакокинетические переменные включали общую концентрацию mAb316P в сыворотке. При необходимости можно измерять концентрации общей и связанной PCSK9 в том же образце РК.

Время отбора проб: образцы сыворотки для общей концентрации mAb316P собирали перед IMP (перед дозированием) на неделе 0 (визит рандомизации), а затем во время нескольких визитов до конца периода последующего наблюдения. Для сбора информации о фазе абсорбции необязательный образец РК собирали на 5 сутки ( $\pm 2$ ) после инъекции IMP недели 22 или на 5 сутки ( $\pm 2$ ) после любой последующей инъекции IMP, при этом индивидуум получал лечение.

Способ отбора проб: для каждого образца собирали кровь объемом 5 мл.

Биоаналитический способ: все образцы РК анализировали для определения концентраций общего mAb316P (т.е. свободного mAb316P и mAb316P, содержащегося в комплексах PCSK9:mAb316P), с использованием утвержденного твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Нижняя граница количественного определения (LLQ) для этого анализа составляет 0,078 мкг/мл.

При необходимости образцы РК можно анализировать для определения уровней общей и свободной PCSK9 с использованием утвержденного ELISA. LLQ составляет 0,156 мкг/мл для анализа общего PCSK9 и 0,0312 мкг/мл для анализа свободного PCSK9.

Процедуры исследования.

Для всех визитов после сутки 1/неделя 0 (визит рандомизации) допустимым являлся временной интервал определенное число суток. Период окна для визита на неделях 12 и 24 составлял  $\pm 3$  суток и для всех других визитов в исследовательский центр он составлял  $\pm 7$  суток во время периода лечения в двойном слепом режиме и период последующего наблюдения. Период окна  $+3$  суток допускали для визита рандомизации (сутки 1/неделя 0) и для визита скрининга для тренировки инъекции (неделя -1).

Взятие образцов крови: взятие образцов крови для определения липидных параметров (т.е. общего С, LDL-С, HDL-С, TG, не-HDL-С, Apo B, Apo A-1, ratio Apo B/Apo A-1, Lp [a]) следует проводить утром натощак (т.е. в течение ночи по меньшей мере от 10 до 12 ч не принимать пищу и воздержаться от курения) для всех визитов исследовательского центра на всем протяжении исследования. Не рекомендуют принимать алкоголь за 48 ч и заниматься интенсивными физическими упражнениями за 24 ч перед взятием образца крови.

Лабораторные тесты: данные лабораторных анализов собирали и пересылали в центральную лабораторию, включая общий анализ крови; химические показатели; печеночные пробы (в случае, если значения общего билирубина выше нормального диапазона, разделение на конъюгированный и неконъюгированный билирубин проходит автоматически); креатининфосфокиназу (СРК); поверхностный антиген гепатита В; антитело против гепатита С (положительные результаты тестов подтверждали рефлексивным тестированием) и тест сыворотки на беременность.

Взятие проб мочи: анализ мочи с помощью индикаторной полоски проводили в центральной лаборатории и оценивали pH, удельную плотность и наличие крови, белка, глюкозы, кетонов, нитратов, лейкоцитарной эстеразы, уробилиногена и билирубина. Если индикаторная полоска являлась аномальной, то проводили стандартную микроскопию.

Способы оценки других конечных точек: все другие параметры крови измеряли в центральной лаборатории во время исследования. Не рекомендовали принимать алкоголь за 48 ч и заниматься интенсивными физическими упражнениями за 24 ч до взятия образцов крови. Изменяли гликимические параметры (HbA1c и глюкозу в сыворотке) в центральной лаборатории периодически на всем протяжении исследования. Образцы крови на показатель воспаления, hs-CRP собирали периодически на всем протяжении исследования.

Образцы для оценки параметров фармакокинетики: образцы сыворотки для оценки концентрации mAb316P получали периодически на всем протяжении исследования.

Медицинский осмотр: необходимо проводить общий медицинский.

Артериальное давление (BP)/частота сердечных сокращений: BP следует измерять в положении сидя в стандартизованных условиях, приблизительно в одно и то же время суток, на одной и той же руке, одним и тем же прибором (после того как пациент комфортно отдыхал в течение по меньшей мере 5 мин в положении сидя). Значения необходимо было регистрировать в e-CRF; необходимо регистрировать как систолическое BP, так и диастолическое BP. В первый визит скрининга BP следует измерять на обеих руках. Во время этого визита определяют руку с наиболее высоким диастолическим давлением, и BP следует измерять на этой руке на всем протяжении исследования. Это самое высокое значение регистрируют в e-CRF. Частоту сердечных сокращений измеряют в момент времени измерения BP.

Электрокардиограмма: ЭКГ в 12-ти отведениях следует проводить по меньшей мере после 10 мин отдыха и в положении лежа на спине.

Масса тела и рост: массу тела следует измерять, когда пациент одет в нижнее белье или очень легкую одежду и без обуви и с пустым мочевым пузырем.

Статистический анализ.

Рассчитывали, что объем выборки 45 пациентов на группу лечения обеспечивает 95% мощность для детекции среднего различия между mAb316P и эзетимибом процент изменения LDL-C 20% от исходного уровня к неделе 24 с использованием 2-стороннего t-критерия со значимостью 5%, принимая общее стандартное отклонение (SD) 25% на основании предшествующего испытания mAb316P (McKenney et al., "Safety and efficacy of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease, SAR236553/REGN727, in patients with primary hypercholesterolemia receiving ongoing stable atorvastatin therapy", *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 59, pp. 2344-2353 (2012)) и с ожидаемым показателем исключения 5%.

Первичную конечную точку оценивали в популяции назначенного лечения (ITT), которая включала всех рандомизированных пациентов, которые имели по меньшей мере 1 рассчитываемое значение LDL-C на момент начала исследования и в один из планируемых моментов времени от 4 до 24 недели. Также проводили анализ во время лечения (соответствующий модифицированной ITT или mITT), которые включали всех рандомизированных и получающих лечение пациентов, которые имели по меньшей мере 1 рассчитываемое значение LDL-C на момент начала исследования и в один из планируемых моментов времени от 4 до 24 недели во время проведения лечения, определяемого как период между первой дозой лечения в рамках исследования и до 21 суток после последней инъекции или через 3 суток после последнего приема капсулы, в зависимости от того, что наступит раньше.

Недостающие данные учитывают посредством подхода на основе модели смешанных эффектов с повторными измерениями (MMRM) (Siddiqui et al., MMRM vs. LOCF: a comprehensive comparison based on simulation study and 25 NDA datasets", *J. Biopharm. Stat.*, vol. 19, pp. 227-246 (2009); National Research Council, "The Prevention and Treatment of Missing Data in Clinical Trials" Panel on Handling Missing Data in Clinical Trials. Committee on National Statistics, Division of Behavioral and Social Sciences and Education. 2010. Washington, D.C.: The National Academies Press; Andersen et al., "On the practical application of mixed effects models for repeated measures to clinical trial data", *Pharm. Stat.*, vol. 12, pp.7-16 (2013)). Для анализа ITT в MMRM использовали все доступные измерения в планируемые моменты времени от 4 до 24 недели (а именно неделя 4, 8, 12, 16 и 24) независимо от их статуса "во время лечения" или "вне периода лечения". Одну модель MMRM использовали для LDL-C для обеспечения оценок средних наименьших квадратов и сравнения между группами лечения на неделях 24 и 12. Более подробное описание модели приведено ниже. Для анализа во время лечения в модели MMRM использовали все доступные измерения во время лечения (т.е. до 21 суток после последней инъекции/через 3 суток после последней капсулы в зависимости от того, что наступит раньше) в планируемые моменты времени от 4 до 24 недели. Аналогичным образом как для анализа ITT, использовали одну модель для обеспечения оценок и сравнения на неделе 24 и неделе 12 для анализа во время лечения. Длительные ключевые вторичные точки, отличные от Lp(a) и триглицеридов, анализировали аналогичным образом как первичную конечную точку, и описание статистической методологии для вторичных конечных точек и подгруппового анализа приведено ниже.

Анализ безопасности включал всех рандомизированных и получающих лечение пациентов. Данные параметров безопасности анализировали посредством описательной статистики. Все статистические анализы проводили с использованием SAS® версия 9.2 или выше (SAS Institute Inc., Cary, NC).

Модель смешанных эффектов с повторными измерениями (MMRM).

MMRM включала фиксированные категориальные эффекты групп лечения (mAb316P в сравнении с эзетимибом), момент времени (недели 4, 8, 12, 16 и 24) и зависимости эффекта лечения от момента времени, а также непрерывные фиксированные ковариаты значения холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) исходного уровня и зависимость исходного значения от момента времени. Результатом модели являлись скорректированные на исходный уровень оценки среднего наименьших квадратов (LS) на неделе 24 для обеих групп лечения с соответствующей стандартной ошибкой (SE). Соответствующее контрастное предположение использовали для тестирования различия между этими оценками при 2-стороннем 5% альфа-уровне. Для оценки надежности первичного анализа и для сравнения результатов, получаемых во время лечения, между группами также применяли модель MMRM для значений LDL-C, получаемых во время лечения.

Подгрупповой анализ.

Для оценки однородности эффекта лечения в различных подгруппах к первичной модели MMRM добавляли термины фактор лечение в подгруппе, фактор момента времени-подгруппа и эффект фактора лечение-момент времени-подгруппа и фактор подгруппы. Представляющие интерес подгруппы включали индекс массы тела (BMI)  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, пол, регион (Северная Америка, Восточная Европа), возраст  $\geq 65$  лет, LDL-C исходного уровня ( $\geq 130$  или  $\geq 160$  мг/дл), холестерин липопротеинов высокой плотности исходного (HDL-C) уровня  $< 40$  мг/дл, триглицериды натощак исходного уровня  $\geq 150$  мг/дл, липопротеин(a) [Lp(a)] исходного уровня  $\geq 30$  мг/дл и свободную пропротеиновую конвертазу субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9) исходного уровня (ниже/выше медиана).

Статистический анализ ключевых вторичных конечных точек.

Для анализа ключевых вторичных конечных точек использовали иерархическую процедуру для контроля ошибки I рода и регуляции мультиплетности. Вторичные конечные точки оценки эффективности тестировали последовательно в приведенной выше порядке в популяции назначенного лечения. Непрерывные ключевые вторичные конечные точки (включая вторичные конечные точки на неделе 12), за исключением Lp(a) и триглицеридов, анализировали с использованием той же модели MMRM как для первичной конечной точки с фиксированными категориальными эффектами группы лечения, планируемыми моментами времени до недели 24 и зависимости эффекта лечения от момента времени, а также непрерывных фиксированных ковариат соответствующего значения исходного уровня и зависимости значения исходного уровня от момента времени. Lp(a) и триглицериды (которые характеризуются негауссовским распределением) и бинарные конечные точки (доля пациентов с LDL-C <100 и <70 мг/дл) анализировали с использованием подхода множественного восстановления для обработки недостающих значений. Для Lp(a) и триглицеридов множественное восстановление сопровождалось робастной регрессионной моделью с группами лечения и соответствующими значениями исходного уровня в качестве эффектов. Для бинарных конечных точек множественное восстановление сопровождалось логистической регрессией с группой лечения в качестве эффекта и соответствующим значением исходного уровня в качестве ковариаты. Чувствительность анализа ключевых вторичных конечных точек применяли с использованием того же статистического подхода, как описано выше, с использованием значений, получаемых во время лечения.

Результаты.

Из 204 пациентов, прошедших скрининг, 103 соответствовало критерии отбора для исследования, и их рандомизировали (52 для группы mAb316P и 51 для группы эзетимиба; фиг. 2). Исходные характеристики и липидные параметры, как правило, равномерно распределялись в 2 исследуемых группах (табл. 1). Всего у 4 пациентов идентифицировали сахарный диабет во время скрининга (3 в группе mAb316P и 1 в группе эзетимиба). Средние исходные уровни LDL-C составляли 141,1 мг/дл (3,65 ммоль/л) в группе mAb316P и 138,3 мг/дл (3,58 ммоль/л) в группе эзетимиба (табл. 1).

14 пациентам в группе mAb316P повышали дозу в слепом режиме на неделе 12 до 150 мг при режиме дозирования каждые 2 недели, т.к. их уровень LDL-C на неделе 8 составлял  $\geq 70$  мг/дл; только у одного из этих пациентов уровень LDL-C >100 мг/дл. Средние исходные значения LDL-C составляли 153,2 мг/дл (3,96 ммоль/л) у пациентов, которым повышали дозу mAb316P до 150 мг каждые 2 недели, и 134,7 мг/дл (3,48 ммоль/л) у пациентов, которым не повышали дозу. Исходные значения других значений липидных параметров в зависимости от того, повышали пациентам дозу или не повышали, приведены в табл. 2.

Всего 44/52 (85%) пациента в группе mAb316P и 44/51 (86%) пациента в группе эзетимиба завершали период лечения продолжительностью 24 недели (фиг. 2). Основная причина прекращения лечения представляла собой TEAE в обеих группах лечения (фиг. 2). Из 15 пациентов, которые досрочно прекратили лечение, у 3 (6%) пациента в группе mAb316P и у 5 (10%) пациентов в группе эзетимиба не выявляли рассчитываемого значения LDL-C на неделе 24.

48 пациентов в каждой группе самостоятельно проводили себе все инъекции (94% в группе эзетимиба, 92% в группе mAb316P). Три пациента в группе эзетимиба и 4 в группе mAb316P самостоятельно проводили себе некоторые из инъекций и обращались к другому лицу, чтобы оно проводило другие инъекции. Не было пациентов, которые обращались к другому лицу за проведением всех своих инъекций.

Все рандомизированные пациенты получали по меньшей мере 1 дозу назначенного им лекарственного средства, и их включали в популяцию назначенного лечения (ITT) и популяцию оценки безопасности (фиг. 2). Один пациент из каждой группы лечения отказывался от лечения перед тем, как проводили какие-либо измерения уровня LDL-C после рандомизации, и, таким образом, их исключали из анализа во время лечения. Тем не менее они продолжали принимать участие в исследовании, и у них проводили измерения LDL-C во время периода "отсутствие лечения", но перед концом периода исследования продолжительностью 24 недели, таким образом, их включали в анализ ITT.

Таблица 1

## Исходные характеристики (все рандомизированные пациенты)

Характеристика (среднее значение [SD], если не указано иное)	Эзетимиб 10 мг (N=51)	MAb316P 75 мг Q2W (N=52)
Возраст, годы	59,6 (5,3)	60,8 (4,6)
≥65 лет, n (%)	8 (15,7)	11 (21,2)
Мужской пол, n (%)	27 (52,9)	28 (53,8)
Раса, n (%)		
Белый	47 (92,2)	46 (88,5)
Черный или афроамериканец	4 (7,8)	6 (11,5)
BMI, кг/м <sup>2</sup>	28,4 (6,7)	30,1 (5,9)
HbA1c, %	5,6 (0,4)	5,7 (0,5)
Глюкоза в крови натощак, мг/дл	97,4 (9,0)	101,4 (14,3)
Период времени от диагностики гиперхолестеринемии, годы	4,5 (7,8)	4,0 (4,7)
Риск CVD со смертельным исходом в течение 10 лет (SCORE), %	2,68 (1,14)	2,97 (1,29)
Липидные параметры, мг/дл		
LDL-C	138,3 (24,5)	141,1 (27,1)
Диапазон (минимальное:максимальное)	73:186	77:207
Аполипопротеин В	104,3 (19,1)	104,3 (18,4)
Общий холестерин	223,9 (30,2)	221,7 (33,7)
Не-HDL-C	164,0 (29,7)	167,4 (30,3)
Липопротеин(a), медиана (IQR)	16,0 (6,0:34,0)	13,0 (4,0:39,0)
Триглицериды, медиана (IQR)	117,0 (87,0:154,0)	119,0 (89,0:153,0)
HDL-C	59,9 (19,2)	54,3 (16,1)
Аполипопротеин А-1	163,8 (33,4)	153,1 (29,2)

Всего у 4 пациентов идентифицировали сахарный диабет во время скрининга (3 в группе mAb316P и 1 в группе эзетимиба). Не наблюдали клинически или статистически значимых различий между группами; для преобразования измерений глюкозы в ммоль/л проводили умножение на 0,0555; для преобразования измерений холестерина в ммоль/л проводили умножение на 0,02586; для преобразования измерений триглицеридов в ммоль/л проводили умножение на 0,01129; BMI - индекс массы тела; HbA1c - гликированный гемоглобин; HDL-C - холестерин липопротеина высокой плотности; IQR - интерквартильный размах; LDL-C - холестерин липопротеинов низкой плотности; Q2W - каждые 2 недели; SCORE - Systemic Coronary Risk estimation; SD - стандартное отклонение.

Таблица 2

## Липидные параметры на исходном уровне в соответствии со статусом повышения дозы (пациенты из популяции для оценки безопасности по меньшей мере с одной инъекцией после недели 12)

Липидный параметр (мг/дл)	Не проводили повышение дозы в группе mAb316P (N=32)	Повышение дозы в группе mAb316P (N=14)
LDL-C		
Среднее значение (SD)	134,7 (26,7)	153,2 (24,6)*
Диапазон (минимальное:максимальное)	77:206	122:207
HDL-C		
Среднее значение (SD)	51,3 (16,3)	60,3 (15,2)†
Диапазон (минимальное:максимальное)	30:98	33:96
Общий холестерин		
Среднее значение (SD)	215,1 (32,9)	236,6 (30,6)‡
Диапазон (минимальное:максимальное)	159: 289	184: 296
Не-HDL-C		
Среднее значение (SD)	163,7 (32,5)	176,4 (24,0)§
Диапазон (минимальное:максимальное)	100:233	144:231
Триглицериды натощак		
Среднее значение (SD)	145,3 (80,5)	115,4 (34,1)¶
Диапазон (минимальное:максимальное)	36:373	62:183

Значение P относительно пациентов без повышения дозы: \*P=0,0436; †P=0,0280; ‡P=0,0546; §P=0,2989; ¶P=0,3455. Значения P не корректировали на мультиплетность и используют только для описательных целей; HDL-C - холестерин липопротеина высокой плотности; LDL-C - холестерин липопротеинов низкой плотности; SD - стандартное отклонение.

Результаты оценки эффективности.

Для первичного анализа эффективности (анализ ИТТ) проценты снижения среднего (SE) наименьших квадратов (LS) уровня LDL-C от исходного уровня к неделе 24 составляли 47 (3)% в группе mAb316P по сравнению с 16 (3)% в группе эзетимиба со статистически значимым различием среднего LS (SE) в группах -32 (4)% (P<0,0001) (табл. 3). Результаты анализа во время лечения являлись аналогичными результатам анализа ИТТ: снижения среднего (SE) наименьших квадратов LS LDL-C от исходного уровня к неделе 24 составляли 54 (2)% по сравнению с 17 (2)% (P<0,0001) для mAb316P и эзетимиба соответственно (табл. 3).

На неделе 12, когда все пациенты в группе mAb316P получали 75 мг каждые 2 недели, уровни LDL-C снижались на 48 (3)% для mAb316P по сравнению с 20 (3)% для эзетимиба в анализе ИТТ с различием средних LS (SE) между группами -28 (4)% (P<0,0001). Соответствующие снижения уровней LDL-C в анализе во время лечения на неделе 12 составляли 53 (2)% для mAb316P по сравнению с 20 (2)% для эзетимиба с различием средних LS (SE) между группами -33 (3)%.

На фиг. 3 представлены изменения в зависимости от времени уровней LDL-C во время всего периода лечения для пациентов, получавших лечение mAb316P и эзетимибом. Здесь представлены значения периода во время лечения, т.к. целью заключается в понимании продолжительности действия лекарственного средства без какого-либо смешивания эффектов в результате исключения. Наблюдался значительное снижение уровня LDL-C от исходного уровня к неделе 4 у пациентов, которые получали mAb316P, с устойчивыми снижениями уровней LDL-C, сохраняющимися от недели 4 до конца периода лечения на неделе 24. Статистический анализ зависимости лечения от момента времени на модели MMRM являлся незначимым, что подтверждает стабильность снижающего уровень LDL эффекта mAb316P по сравнению с эзетимибом в течение длительного периода времени (как проиллюстрировано на фиг. 3).

Рассчитываемые доли пациентов со снижениями уровней LDL-C  $\geq 50\%$  на неделе 12 перед повышением дозы составляли 58% в группе mAb316P по сравнению с 3% пациентов в группе эзетимиба (ИТТ). Соответствующие значения в анализе во время лечения составляли 65% в группе mAb316P и 2% в группе эзетимиба. Все пациенты реагировали на mAb316P во время прохождения лечения (популяция во время лечения) (фиг. 4).

Для оценки влияния повышения дозы на основании LDL-C  $\geq 70$  мг/дл вместо  $\geq 100$  мг/дл на первичный параметр эффективности проводили дополнительный анализ, исключая значения LDL-C после повышения дозы для 13 пациентов, которым повышали дозу, несмотря на то, что они имели значения LDL-C <100 мг/дл; этот анализ приводил к результатам, аналогичным результатам общего анализа ИТТ (табл. 4).

Проценты снижения ApoB, общего холестерина и не-HDL-C от исходного уровня являлись значительно больше для mAb316P по сравнению с эзетимибом на неделе 24 и схожими в анализах ИТТ и во время лечения (табл. 5). Средние снижения уровней Lp(a), TG и повышения уровней HDL-C наблюдали после обоих исследуемых видов лечения без различий между группами mAb316P и эзетимиба (табл. 5).

Подгрупповой анализ подтверждал отсутствие существенных различий эффективности mAb316P по сравнению с эзетимибом в популяции ИТТ для различных параметров (фиг. 5).

Таблица 3

Процент изменения уровня LDL-C от исходного уровня к неделе 24 (анализ ИТТ или во время лечения, как указано)

LDL-C	Эзетимиб 10 мг	mAb316P 75 мг Q2W	mAb316P по сравнению с эзетимибом		
			Отличие средних LS (SE) %	CI 95%	Значение P
ИТТ	N=51	N=52			
Изменение средних LS (SE) от исходного уровня (%)	-15,6 (3,1)	-47,2 (3,0)	-31,6 (4,3)	от -40,2 до -23,0	<0,0001*
Во время лечения†	N=50	N=51			
Исходный уровень LDL-C, среднее значение (SD), мг/дл	137,5 (24,1)	141,1 (27,4)			
Минимальное:Максимальное	73:186	77:207			
Изменение средних LS (SE) от исходного уровня (%)	-17,2 (2,0)	-54,1 (2,0)	-36,9 (2,9)	от -42,7 до -31,2	<0,0001†

\* - статистически значимые в соответствии с фиксированным иерархическим подходом, используемым для контроля общего показателя ошибки I рода;

† - включают всех пациентов в популяции ИТТ по меньшей мере с 1 рассчитываемым значением LDL-C в один планируемый момент времени между первой дозой лечения в рамках исследования и до 21 суток после последней инъекции или через 3 суток после последнего приема капсулы, в зависимости от того, что наступит раньше;

‡ - значение P приведено только для описательных целей;

CI - доверительные интервалы; ИТТ - предназначенное лечение; LDL-C - холестерин липопротеинов низкой плотности; LS - наименьшие квадраты; Q2W - каждые 2 недели; SD - стандартное отклонение; SE - стандартная ошибка.

Таблица 4

Процент изменения LDL-C от исходного уровня к неделе 24, за исключением данных после повышения дозы от пациентов, которым повышали дозу MAb316P от 75 до 150 мг каждые 2 недели, уровни которых LDL-C составляли <100 мг/дл (популяция назначенного лечения)

LDL-C, среднее LS (SE)	Эзетимиб 10 мг (N=51)	MAb316P 75 мг Q2W (N=52)	MAb316P по сравнению с эзетимибом		
			Различия средних LS (SE) %	CI 95%	Значение P
Изменение от исходного уровня (%) на неделе 24	-15,6 (3,2)	-44,3 (3,4)	-28,7 (4,6)	от -37,9 до -19,5	<0,0001 <sup>†</sup>

\* - значение P представлено только для описательных целей;

CI - доверительный интервал; LDL-C - холестерин липопротеинов низкой плотности; LS - наименьшие квадраты; Q2W - каждые 2 недели.

Таблица 5

Процент изменения от исходного уровня вторичных липидных параметров (анализ ИТТ или во время лечения, как указано)

% изменения средних LS (SE) от исходного уровня к неделе 24	Эзетимиб 10 мг	MAb316P 75 мг Q2W	MAb316P по сравнению с эзетимибом		
			Различия средних LS (SE) %	CI 95%	Значение P
ИТТ	N=51	N=52			
Апо В	-11,0 (2,4)	-36,7 (2,3)	-25,8 (3,3)	от -32,3 до -19,2	<0,0001*
Не-HDL-C	-15,1 (2,9)	-40,6 (2,8)	-25,5 (4,1)	от -33,5 до -17,4	<0,0001*
Общий холестерин	-10,9 (2,2)	-29,6 (2,1)	-18,7 (3,0)	от -24,7 до -12,7	<0,0001*
Lp(a) <sup>†</sup>	-12,3 (3,8)	-16,7 (3,7)	-4,4 (5,3)	от -14,8 до 5,9	0,4013
TGs <sup>†</sup>	-10,8 (4,3)	-11,9 (4,2)	-1,2 (5,9)	от -12,7 до 10,3	0,8433 <sup>‡</sup>
HDL-C	1,6 (1,9)	6,0 (1,9)	4,4 (2,7)	-1,0 до 9,8	0,1116 <sup>‡</sup>
Апо А-1	-0,6 (1,6)	4,7 (1,6)	5,3 (2,2)	от 0,9 до 9,8	0,0196 <sup>‡</sup>
Во время лечения	N=50	N=51			
Апо В	-11,5 (1,9)	-40,8 (1,9)	-29,2 (2,6)	-34,4 to -24,0	<0,0001 <sup>§</sup>
Не-HDL-C	-16,6 (1,9)	-47,1 (1,9)	-30,5 (2,7)	от -35,9 до -25,1	<0,0001 <sup>§</sup>
Общий холестерин	-12,0 (1,6)	-34,2 (1,6)	-22,2 (2,3)	от -26,7 до -17,7	<0,0001 <sup>§</sup>
Lp(a) <sup>†</sup>	-12,3 (4,0)	-17,7 (4,1)	-5,4 (5,7)	от -16,6 до 5,9	0,3506 <sup>§</sup>
TGs <sup>†</sup>	-12,7 (4,2)	-14,7 (4,4)	-1,9 (6,0)	от -13,7 до 9,8	0,7452 <sup>§</sup>
HDL-C	1,7 (1,9)	8,0 (1,9)	6,2 (2,7)	от 0,8 до 11,6	0,0241 <sup>§</sup>
Апо А-1	-0,7 (1,6)	5,3 (1,6)	6,1 (2,3)	от 1,6 до 10,6	0,0084 <sup>§</sup>

\* - статистически значимые в соответствии с фиксированным иерархическим подходом, используемым для контроля общего показателя ошибки I рода;

<sup>†</sup> - комбинированная оценка скорректированного процента изменений среднего (SE) представлено для Lp(a) и TG;

<sup>‡</sup> - вследствие того, что различия Lp(a) на неделе 24 не являлись значимыми для mAb316P по сравнению с эзетимибом, не проводили дальнейших проверок по критериям значимости в соответствии с фиксированным иерархическим подходом. Значения P для TG, HDL-C и Апо А-1 представлены только для иллюстративных целей;

<sup>§</sup> - значения P представлены только для иллюстративных целей;

Апо - аполипротеин; CI - доверительные интервалы; HDL-C - холестерин липопротеина высокой плотности; ИТТ - назначенного лечения; Lp(a) - липопротеин(a); LS - наименьшие квадраты; Q2W - каждые 2 недели; SE - стандартная ошибка; TGs - триглицериды.

#### Результаты оценки безопасности.

Общий процент пациентов, которые испытывали по меньшей мере один ТЕАЕ, составлял 69% в группе mAb316P и 78% в группе эзетимиба (табл. 6). Не наблюдали смертельных случаев. Было описано два случая SAE во время периода ТЕАЕ: один пациент, который получал mAb316P 75 мг каждые 2 недели в течение 3 месяцев и имел в анамнезе фибрилляцию предсердий и хроническое обструктивное заболевание легких, страдал эмболией сосудов легких; лечение в рамках исследования отменяли и госпита-

лизировали пациента, после чего он выздоравливал. Один пациент в группе эзетимиба с артритом в анамнезе страдал эрозией сустава, и его госпитализировали для проведения операции (артропластика плечевого сустава). Пациент выздоравливал в больнице и завершал исследование. Ни один из случаев SAE не расценивался исследователем, как связанный с лечением в рамках исследования. ТЕАЕ, возникающие у 5% или более пациентов в любых группах лечения, представлены в табл. 6.

Девять пациентов досрочно отменяли лечение после одного или более ТЕАЕ (5 [10%] пациентов в группе mAb316P и 4 [8%] в группе эзетимиба). В группе эзетимиба ТЕАЕ, приводящие к отмене лечения, представляли собой подагру у 1 пациента, усталость, боль в позвоночнике и учащенное мочеиспускание у 1 пациента, абдоминальный спазм и реакцию на участке инъекции у 1 пациента и реалистичные сновидения у 1 пациента. В группе mAb316P ТЕАЕ, приводящие к отмене лечения, представляли собой эмболию сосудов легких у 1 пациента, тошноту, усталость, головную боль и гиперемию у 1 пациента, артралгию (генерализованную боль) у 1 пациента, реакцию на участке инъекции у 1 пациента и диарею у 1 другого пациента.

Наиболее распространенным классом ТЕАЕ являлась инфекция (42,3% mAb316P в сравнении с 39,2% эзетимиба), главным образом органов дыхания. Связанные с мышцами ТЕАЕ возникали у 2 (4%) пациентов mAb316P и 2 (4%) пациентов эзетимиба. Повышенные уровни креатининкиназы более чем в 10 раз выше от верхней границы нормы описывали для 1 пациента в группе эзетимиба (табл. 6). Три пациента испытывали локальную реакцию на участке инъекции (1 [2%] пациент в группе mAb316P и 2 [4%] в группе эзетимиба). Эти случаи характеризовались слабой интенсивностью. Пациент в группе mAb316P испытывал 3 случая локальной реакции на участке инъекции после последовательных инъекций. Три пациента, которые получали лечение mAb316P 75 мг каждые 2 недели, имели по меньшей мере 1 значение LDL-C <25 мг/дл; не наблюдали конкретных проблем, касающихся безопасности, связанных с низкими уровнями LDL-C у этих 3 пациентов.

У нескольких (2 или менее) пациентов в группе эзетимиба и не у одного из пациентов в группе mAb316P выявляли аномальные показатели жизненно важных функций (артериальное давление, частота сердечных сокращений). Кроме того, не наблюдали увеличения более чем в 3 раза выше верхней границы нормы аланинаминотрансферазы или аспартатаминотрансферазы (табл. 6). В группе mAb316P больше пациентов имели уровень глюкозы в крови  $\geq 126$  мг/дл (7 ммоль/л) по сравнению с группой эзетимиба (6 пациентов по сравнению с 1 пациентом; табл. 6). 6 пациентов в группе mAb316P, у которых наблюдали высокий уровень глюкозы в крови во время периода лечения, имели аномальный уровень глюкозы натощак во время скрининга или на исходном уровне, и не наблюдали никакой закономерности изменений их уровня глюкозы в крови или HbA1c от скрининга до недели 24 (табл. 7).

Образующиеся в результате лечения антитела против лекарственного средства выявляли у 6 (12%) пациентов в группе mAb316P и не наблюдали у пациентов в группе эзетимиба. Для всех пациентов с положительными результатами в отношении антител против лекарственного средства титры являлись низкими ( $\leq 240$  в используемом анализе) и не детектировали нейтрализующего антитела против лекарственного средства, которое может влиять на фармакокинетику, эффекты в отношении LDL-C или безопасность mAb316P.

Таблица 6  
ТЕАЕ и лабораторные параметры (популяция для оценки безопасности)

Категория АЕ или лабораторный параметр, n (%)	Эзетимиб 10 мг (n=51)	mAb316P 75 мг Q2W (n=52)
Пациенты с любым ТЕАЕ	40 (78,4)	36 (69,2)
Пациенты с любым возникающим на фоне лечения SAE	1 (2,0)	1 (1,9)
Пациенты с любым ТЕАЕ, приводящем к летальному исходу	0	0
Пациенты с любым ТЕАЕ, приводящем к отмене лечения	4 (7,8)	5 (9,6)
ТЕАЕ, возникающие у $\geq 5\%$ пациентов в любой группе		
Ринофарингит	8 (15,7)	12 (23,1)
Диарея	2 (3,9)	6 (11,5)
Грипп	3 (5,9)	6 (11,5)
Артралгия	2 (3,9)	3 (5,8)
Головные боли	2 (3,9)	3 (5,8)
Тошнота	3 (5,9)	3 (5,8)
Инфекция верхних дыхательных путей	5 (9,8)	2 (3,8)
Боль в позвоночнике*	3 (5,9)	1 (1,9)
Головокружение	3 (5,9)	1 (1,9)
Инфекция мочевыводящих путей	3 (5,9)	0
Пациенты с представляющими интерес ТЕАЕ		
Поражение скелетно-мышечной и соединительной ткани	11 (21,6)	8 (15,4)

Поражение мышц	2 (3,9)	2 (3,8)
Миалгия	1 (2,0)	2 (3,8)
Мышечные спазмы	1 (2,0)	0
Поражение скелетно-мышечной и соединительной ткани NEC	5 (9,8)	2 (3,8)
Костно-мышечная боль	1 (2,0)	1 (1,9)
Общие нарушения и состояния участка введения	5 (9,8)	5 (9,6)
Реакции на участке инъекции	2 (3,9)	1 (1,9)
Лабораторные параметры n/N (%)		
Аланинаминотрансфераза (ALT)		
≥3×ULN (если исходная ALT<ULN) или ≥2× исходное значение (если исходная ALT≥ULN)	0/51	0/52
>3×ULN	0/51	0/52
Аспаратаминотрансфераза		
>3×ULN	0/51	0/52
Глюкоза		
≤70 мг/дл (3,9 ммоль/л) и <LLN	0/50	0/52
≥126 мг/дл (7 ммоль/л) (натощак)	1/50 (2,0)	6/51 (11,8)**
Альбумин		
≤25 г/л	0/50	0/51
Креатинкиназа		
>3×ULN	1/50 (2,0)	0/51
>10×ULN	1/50 (2,0)	0/51

\* - боль в позвоночнике также расценивали как TEAE, представляющего интерес (поражение скелетно-мышечной и соединительной ткани NEC);

\*\* - у трех таких пациентов идентифицировали сахарный диабет во время скрининга и все 6 пациентов имели аномальный уровень глюкозы в крови натощак во время скрининга или на исходном уровне; не наблюдали зависимости изменений уровня глюкозы в крови в течение длительного периода времени (см. дополнительную табл. 6);

TEAE представляют собой нежелательные явления, которые развиваются или усугубляются или становятся серьезным во время периода TEAE (определяемого как время от первой дозы лечения в рамках двойного слепого исследования до последней инъекции плюс 70 суток [10 недель], т.к. ожидали, что остаточный эффект mAb316P сохраняется до 10 недель после последней инъекции;

LLN - нижняя граница нормы; NEC - не включенный в другие рубрики; Q2W - каждые 2 недели;

SAE - серьезное нежелательное явление; TEAE - возникающее на фоне лечения нежелательное явление и ULN - верхняя граница нормы.

Таблица 7

Уровни глюкозы в крови для пациентов в группе MAb316P, у которых описывали высокие уровни глюкозы в крови во время исследования (n=6)

Пациент (условный номер)	Момент времени	Глюкоза в крови натощак (мг/дл)	HbA1c (%)
1	Скрининг (неделя -2)	121	5,7
	Исходный уровень (неделя 0)	115	
	Неделя 24	112	5,9
2	Скрининг (неделя -2)	128	6,2
	Исходный уровень (неделя 0)	119	
	Неделя 24	121	6,5
3*	Скрининг (неделя -2)	126	6,2
	Неделя 24	112	5,9
4*	Скрининг (неделя -2)	105	7,0
	Исходный уровень (неделя 0)	97	
	Неделя 24	70	6,2
5*	Скрининг (неделя -2)	164	7,5
	Исходный уровень (неделя 0)	142	
	Неделя 24	183	7,7
6	Скрининг (неделя -2)	125	6,7
	Исходный уровень (неделя 0)	129	
	Неделя 12	135	6,3

Для всех пациентов для всех моментов времени значения являлись недоступными.

\* - идентифицированные как страдающие сахарным диабетом при скрининге.

Это являлось исследованием 3 фазы mAb316P, первым исследованием монотерапии mAb316P и первым исследованием применения режима дозирования 75 мг каждые 2 недели. Для MAb316P демонстрировали большую эффективность при монотерапии по сравнению с эзетимибом на протяжении 24 недели лечения. В анализе ИТТ наблюдали снижения уровней LDL-C на 48% на неделе 12 (перед повышением дозы) у пациентов, которые получали mAb316P 75 мг каждые 2 недели, по сравнению с 20% для эзетимиба 10 мг ежедневно. Соответствующие снижения для пациентов, которые получали лечение, составляли 53% для mAb316P 75 мг каждые 2 недели по сравнению с 20% для эзетимиба.

Эффективность MAb316P соответствовала исходным параметрам, включая уровни LDL-C и PCSK9, и демографические данные. Фактически, все пациенты, получавшие лечение mAb316P, реагировали на 75 мг каждые 2 недели при монотерапии в анализе во время лечения. Для монотерапии MAb316P демонстрировали длительный снижающий уровень LDL эффект от 4 до 24 недели.

В соответствии с заметными снижениями уровня LDL-C mAb316P также обеспечивало устойчивые снижения уровней общего холестерина, ApoB и не-HDL-C. MAb316P приводил к 18% снижению уровня Lp(a) в текущем исследовании по сравнению с 12% в группе эзетимиба.

Для MAb316P демонстрировали переносимость и безопасность, сравнимые с эзетимибом. Связанные с мышцами АЕ возникали с аналогичной частотой в обеих группах лечения (4% пациентов с mAb316P и 4% пациентов с эзетимибом). Кроме того, образование антител против лекарственного средства у получавших лечение mAb316P пациентов, являлось ниже.

Для обобщения: это является первой оценкой ингибитора PCSK9 продолжительностью 6 месяцев 3 фазы в слепом режиме. Снижение уровня LDL-C ~50% наблюдали в группе mAb316P 75 мг каждые 2 недели на 12 неделе в популяции, получающей монотерапию, что являлось значительно больше, чем то, что наблюдали в группе эзетимиба (20%). В этом исследовании продолжают наблюдения для оценки безопасности из испытаний 2 фазы, без подтверждения опасных показателей, которые, по-видимому, ограничивают использование и переносимость. Это являлось также первым рандомизированным, контролируемым испытанием инъецируемого моноклонального антитела против PCSK9 с использованием одноразового автоматического медицинского шприца, что приводило к меньшему числу связанных с инъекцией АЕ (<2% пациентов с mAb316P и <4% пациентов с эзетимибом).

Результаты фармакокинетики.

Оценивали о взаимосвязь концентраций mAb316P, свободного PCSK9 и LDL-C у пациентов, получавших монотерапию mAb316P. В группе эзетимиба также оценивали изменения свободного PCSK9 и LDL-C.

Уровни mAb316P и свободного PCSK9 в сыворотке определяли с использованием утвержденных твердофазных иммуноферментных анализов.

Фармакокинетические анализы проводили у 46 пациентов в группе лечения mAb316P, которым не отменяли лечение до недели 12 (табл. 8). Из 46 получавших лечение mAb316P пациентов у 32 пациентов достигали уровень LDL-C <70 мг/дл на неделе 8 и сохраняли mAb316P 75 мг каждые 2 недели, и у 14 пациентов повышали дозу до 150 мг mAb316P каждые 2 недели.

Исходные уровни LDL-C являлись выше у пациентов с повышенной дозой mAb316P по сравнению с пациентами без повышения дозы mAb316P ( $P=0,044$ ) (табл. 9). В группе без повышения дозы снижения уровней LDL-C, наблюдаемые на неделе 4, сохранялись до недели 24 (фиг. 6А). В группе повышения дозы уровни LDL-C также снижались к неделе 4, но с относительно меньшей степенью по сравнению с группой без повышения дозы (фиг. 6А). Снижения уровней LDL-C mAb316P являлись аналогичными на неделях 12 и 24, независимо от того повышали ли дозу mAb316P на неделе 12 (фиг. 6А), и являлись постоянно выше по сравнению с эзетимибом (табл. 9).

Уровни mAb316P в сыворотке являлись аналогичными в группах повышения дозы и без повышения дозы во время первых 12 недель исследования, когда все пациенты получали дозу 75 мг, и приблизительно удваивались у пациентов, которым повышали дозу на неделе 12 (фиг. 6В; табл. 9).

Исходные уровни свободного и общего PCSK9 являлись слегка выше в группе повышения дозы по сравнению с группами без повышения дозы и эзетимиба (табл. 9). Уровни свободного PCSK9 достигали наиболее низкого значения на неделе 4 в группе без повышения дозы; уровни свободного PCSK9 также снижались на неделях 4-12 в группе повышения дозы, но являлись в 2-3 раза выше по сравнению с группой без повышения дозы (фиг. 6С; табл. 9). Повышение дозы mAb316P до 150 мг каждые 2 недели на неделе 12 было ассоциировано с дополнительным подавлением уровней свободного PCSK9; снижения сохранялись к неделе 24 (фиг. 6С; табл. 9). Уровни свободного PCSK9 оставались относительно неизменными относительно исходного уровня к неделе 12 в группе эзетимиба, но снижались на неделе 24 (табл. 9). Уровни общего PCSK9 повышались после лечения mAb316P, но не эзетимибом (табл. 9), вероятно, вследствие того, что комплекс антитело:PCSK9 характеризуется большим временем полужизни, чем свободный PCSK9.

У пациентов, которым сохраняли монотерапию mAb316P 75 мг каждые 2 недели до недели 24, уровни свободного PCSK9 максимально снижались к неделе 4; эффективность снижения LDL-C сохранялась от 4 до 24 недели. У пациентов, которым повышали дозу mAb316P до 150 мг каждые 2 недели на неделе 12, как и ожидалось, концентрации mAb316P в сыворотке повышались, и наблюдали дополнительное снижение уровней свободного PCSK9, но существовал незначительный дальнейшее эффект на

уровни LDL-C. Результаты позволяют предположить, что монотерапия mAb316P 75 мг каждые 2 недели является достаточной для блокирования свободного PCSK9 и сохранения снижающей уровень LDL-C эффективности в течение 24 недель у большинства пациентов, не получающих статины или другие виды модифицирующей уровень липидов терапии. Вследствие того, что опосредованное мишенью выведение mAb316P ускоряется в результате его связывания со свободным PCSK9, в условиях клиники могут требоваться более высокие дозы mAb316P, когда пациенты получают совместно статины или другие модифицирующие уровень липидов средства, увеличивающие свободную PCSK9.

Настоящее изобретение не является ограниченным в объеме конкретными вариантами осуществления, описываемыми в настоящем описании. Фактически, различные модификации изобретения в дополнение к модификациям, описываемым в настоящем описании, станут понятны специалистам в данной области из указанного выше описания и прилагаемых фигур. Такие модификации предназначены войти в объем прилагаемой формулы изобретения.

Таблица 8  
Исходные характеристики среднее значение (SD)

Характеристика	mAb316P		Эзетимиб (n=51)
	Повышение дозы* на неделе 12 (n=14)	Без повышения дозы на неделе 12 (n=32)	
Возраст, годы	61,8 (3,9)	60,2 (5,1)	59,6 (5,3)
Мужской пол, n (%)	3 (21,4)	22 (68,8)	27 (52,9)
Раса, белая, n (%)	13 (92,9)	28 (87,5)	47 (92,2)
BMI, кг/м <sup>2</sup>	31,8 (6,4)	29,8 (5,8)	28,4 (6,7)
Диабет 2 типа, n (%)	0	3 (9,4)	1 (2,0)
Риск CVD со смертельным исходом в течение 10 лет (SCORE), %	3,2 (1,2)	2,9 (1,4)	2,68 (1,1)

\* - дозу mAb316P повышали в слепом режиме до 150 мг каждые 2 недели на неделе 12, если уровень LDL-C на неделе 8 составлял  $\geq 70$  мг/дл ( $\sim 1,8$  ммоль/л);  
BMI - индекс массы тела; CVD - сердечно-сосудистое заболевание; SCORE - Systematic Coronary Risk Estimation; SD - стандартное отклонение.

Таблица 9  
Среднее значение (SD) концентраций mAb316P, общей и свободной PCSK9 и LDL-C в сыворотке

	mAb316P		Эзетимиб (n=51)
	Повышение дозы* на неделе 12 (n=14)	Без повышения дозы на неделе 12 (n=32)	
<b>LDL-C (во время лечения), мг/дл</b>			
Исходный уровень	153,2 (24,6)	134,7 (26,7)	137,5 (24,1)
Неделя 4	83,5 (23,6)	59,8 (13,6)	109,9 (22,4)
Неделя 12	78,3 (22,8)	58,8 (16,8)	109,8 (25,2)
Неделя 24	74,8 (19,5)	57,8 (16,2)	113,4 (25,0)
<b>mAb316P, нг/мл**</b>			
Неделя 4	4533,9 (3996,5)	5784,7 (2456,4)	-
Неделя 12	5702,9 (4816,4)	5979,0 (2780,3)	-
Неделя 24	14772,2 (10201,7)	6991,4 (4418,4)	-
<b>Общая PCSK9, нг/мл</b>			
Исходный уровень	551,6 (129,5)	470,3 (144,7)	496,1 (161,0)
Неделя 4	2948,2 (1284,8)	3186,9 (634,1)	508,8 (244,1)
Неделя 12	3762,3 (1588,3)	3204,2 (988,8)	645,5 (694,2)
Неделя 24	4680,8 (1297,2)	3408,2 (969,7)	482,0 (128,5)
<b>Свободная PCSK9, нг/мл</b>			
Исходный уровень	213,8 (38,3)	178,4 (53,6)	181,5 (61,5)
Неделя 4	65,9 (80,2)	22,8 (37,4)	180,1 (57,4)
Неделя 12	59,3 (76,9)	40,4 (53,4)	191,0 (65,0)
Неделя 24	14,3 (37,1)	36,9 (55,0)	138,5 (56,4)

Для преобразования LDL-C мг/дл в ммоль/л проводили умножение на 0,02586.

\* - дозу mAb316P увеличивали в слепом режиме до 150 мг каждые 2 недели на неделе 12, если уровень LDL-C на неделе 8 составлял  $\geq 70$  мг/дл ( $\sim 1,8$  ммоль/л);

\*\* - значения C<sub>остаточн.</sub> получали через 14 $\pm$ 6 суток после предшествующей инъекции;  
C - концентрация.

Пример 3. Рандомизированное, двойное слепое исследование эффективности и безопасности антитела против PCSK9 ("mAb316P") на пациентах с первичной гиперхолестеринемией, которые плохо переносят статины.

Введение.

Задачей настоящего исследования являлась оценка способности антитела против PCSK9 ("mAb316P", также известного как REGN727 или алирокумаб) снижать уровень LDL-C в сравнении с эзетимибом (EZE) у пациентов с первичной гиперхолестеринемией (heFH и non-FH), которые плохо переносят статины.

Связанные с мышцами симптомы в клинических испытаниях, которые включают тщательно отобранные группы пациентов с аккуратным соблюдением режима лечения и переносимостью статинов, могут не отражать истинной распространенности миалгии в клинике, о чем свидетельствуют результаты в обсервационных исследованиях. Расхождение частоты возникновения связанных с мышцами нежелательных явлений (AE) может являться вторичным для некоторых пациентов, испытывающих AE на фоне многих лекарственных средств, и это может не являться истинной переносимостью статинов. Таким образом, для учета пациентов, которые могут иметь AE на многие лекарственные средства, а не только на статины, достаточное число пациентов подвергали скринингу и включали в односторонне слепой вводный период плацебо настоящего исследования для обеспечения объема выборки 250 пациентов для периода лечения в двойном слепом режиме (100:100:50; mAb316P:EZE:аторвастатин).

Объем выборки 250 пациентов (100:100:50; mAb316P:EZE:аторвастатин) с продолжительностью лечения в рамках двойного слепого исследования 24 недели предназначен для получения информации об эффективности и получения описательного опыта, касающегося событий, связанных с безопасностью, в основном, всеми связанными со скелетными мышцами событиями и, в частности, с прекращением участия, связанными с событиями, связанными со скелетными мышцами. В это исследование включали пациентов, плохо переносящих статины, со средним, высоким или очень высоким риском CV, в качестве популяции, в которой достижение целевого уровня LDL-C вызывает большие трудности с использованием только альтернативных вариантов, не являющихся статинами. Определение риска CV основано на существующих руководствах (см., например, The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology [ESC] and the European Atherosclerosis Society [EAS], ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *European Heart Journal* 2011; 32:1769-1818); Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program [NCEP] Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults [Adult Treatment Panel III], *JAMA* 2001; 285:2486-2497).

Применение периода отмывания продолжительностью 2 недели обеспечивало то, что не наблюдали эффекта переноса базисной терапии на группы сравнения.

Использовали вводный период с плацебо продолжительностью 4 недели для исключения пациентов, у которых могут развиваться связанные с мышцами симптомы в ответ на лекарственные средства, включая плацебо.

Предварительные данные фармакокинетики из исследований 2 фазы mAb316P демонстрировали, что воздействие mAb316P снижалось в течение периода последующего наблюдения продолжительностью 8 недель, который следовал за периодом лечения в двойном слепом режиме, где общие концентрации в сыворотке mAb316P все еще являются детектируемыми, но на очень низких уровнях. Таким образом, для обеспечения достаточно низких неэффективных концентраций mAb316P в сыворотке пациенты находились под наблюдением в течение периода последующего наблюдения продолжительностью 8 недель (например, 10 недель после последней дозы).

Эзетимиб использовали в качестве активного препарата сравнения, т.к. он представляет собой современный стандарт ухода за пациентами, которые неспособны переносить статины, и первичная задача исследования заключалась в оценке снижения уровня LDL-C через 24 недели для mAb316P по сравнению с EZE. Аторвастатин также включали в качестве препарата сравнения для определения, что популяция, отобранная в исследовании, представляет собой истинную плохо переносящую статины популяцию, путем оценки частоты встречаемости досрочного завершения вследствие связанных со скелетными мышцами AE (Fung and Crook, *Cardiovasc. Ther.* 2012 Oct, 30(5):e212-218).

В настоящем исследовании использовали две дозы mAb316P: 75 и 150 мг, вводимые подкожно через неделю (каждые 2 недели). Выбор доз был основан на данных программ фазы 1 и фазы 2. Выбор дозы, частоты дозирования и подхода повышения дозы также был основан на снижении уровня LDL-C, необходимом для обеспечения лучшего благоприятного действия в отношении уменьшения CVD и потенциальных соображений безопасности в отношении низких значений LDL-C.

Ожидают, что режим дозирования каждые 2 недели поддерживает постоянное понижение уровня LDL-C на всем протяжении интервала между дозированием с максимальной эффективностью в течение 12 недель, обеспечиваемой дозой 150 мг каждые 2 недели. Однако для многих пациентов величина эффекта, наблюдаемого с дозой 150 мг каждые 2 недели, может не обязательно достигать целевого уровня LDL-C, и лечение можно начинать с меньшей дозы. Таким образом, в настоящем исследовании все пациенты сначала получали лечение 75 мг каждые 2 недели, и только у таких пациентов с высоким и очень

высоким риском CV и LDL-C  $\geq 70$  мг/дл и пациентов со средним риском CV и LDL-C  $\geq 100$  мг/дл после 8 недель лечения проводили повышение дозы до 150 мг каждые 2 недели на неделе 12.

На основании клинических данных, доступных в момент времени начала настоящего исследования, лечение mAb316P демонстрировало значительное снижающее уровень LDL-C действие и, как правило, хорошо переносилось популяцией пациентов с несемейной гиперхолестеринемией или с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией. Эффективность снижения уровней LDL-C ассоциировалась с непротиворечивыми результатами общего-C, ApoB, не-HDL-C и отношения ApoB/ApoA-1 и положительной тенденцией для HDL-C, TG и Lp(a). Не наблюдали никаких доказательств того, что mAb316P оказывает отрицательное воздействие на другие сердечно-сосудистые (CV) факторы риска, например массу тела, артериальное давление, уровень глюкозы или C-реактивный белок.

Задачи исследования.

Первичная задача исследования заключалась в демонстрации снижения уровня LDL-C mAb316P в сравнении с EZE 10 мг перорально один раз в сутки (п/о QD) через 24 недели у пациентов с первичной гиперхолестеринемией (heFH и не-FH), которые плохо переносили статины.

Вторичные задачи исследования заключались (1) в оценке эффекта mAb316P 75 мг в сравнении с EZE на LDL-C после 12 недель лечения; (2) в оценке эффекта mAb316P на другие липидные параметры (например, уровни ApoB, не-HDL-C, общего-C, Lp(a), HDL-C, TG и уровни ApoA-1); (3) в оценке безопасности и переносимости mAb316P, включая характеристику показателя частоты возникновения и показателя досрочного завершения лечения в результате связанных со скелетными мышцами А, и (4) в оценке образования антител против mAb316P.

План исследования.

Настоящее исследование представляло собой рандомизированное, контролируемое активным веществом, многонациональное, многоцентровое исследование с двойной имитацией в параллельных группах у пациентов с первичной гиперхолестеринемией и средним, высоким или очень высоким риском CV, которые плохо переносят статины. План исследования проиллюстрирован на фиг. 7.

Непереносимость статинов определяли как неспособность переносить по меньшей мере 2 предшествующих статина в минимальных одобренных суточных дозах вследствие связанных со скелетными мышцами симптомов, отличных от симптомов, обусловленных растяжением или травмой, таких как боль, ломота, слабость или спазм, которые начинались или усиливались во время терапии статинами и прекращались, когда терапию статинами отменяли.

Исследование состояло из 5 периодов: скрининга; отмывания; односторонне слепого вводного периода с плацебо; лечения в двойном слепом режиме и последующего наблюдения.

(1) Скрининг.

Скрининг длился приблизительно 1 неделю (неделя -7). Пациентов просили придерживаться стабильной диеты, эквивалентной диете в рамках терапевтических изменений образа жизни (TLC) согласно III докладу группы экспертов по лечению взрослых (NCEP-АТPIII) Национальной образовательной программы по холестерину на всем протяжении периода исследования, начиная со скрининга до визита окончания лечения.

(2) Отмывание.

Пациенты, которые удовлетворяли всем критериям включения скрининга и критерии исключения переходили к периоду отмывания в течение 2 недель (от недели -6 до недели -4) от EZE, статинов (для пациентов, придерживающихся не одобренной дозы или схемы лечения) и красного ферментированного риса.

(3) Односторонне слепой вводный период с плацебо.

После отмывания пациенты переходили к односторонне слепому (только пациенты проходят лечение в слепом режиме) вводному периоду с плацебо продолжительностью 4 недели (от недели -4 до недели 0), состоящему из 4 недель лечения плацебо для mAb316P каждые 2 недели (всего 2 дозы) плюс плацебо для EZE/капсулы аторвастатина п/о один раз в сутки (28 доз).

Только пациенты, которые не испытывали связанные со скелетными мышцами АЕ, отличные от тех, которые обусловлены растяжением или травмой, во время односторонне слепого вводного периода с плацебо, являлись подходящими для перехода к периоду лечения в двойном слепом режиме, описанном ниже.

Пациентам, которые испытывали связанные со скелетными мышцами АЕ, отличные от тех, которые обусловлены растяжением или травмой, во время односторонне слепого вводного периода с плацебо продолжительностью 4 недели, давали указание прекращать терапию и досрочно прекращать исследование.

Во время первого планового визита односторонне слепого вводного периода плацебо (неделя -4) пациентам (или лицам, осуществляющим уход за ними) давали указания по введению исследуемого лекарственного средства с использованием односторонне слепого автоматического медицинского шприца, содержащего плацебо для mAb316P, и они самостоятельно вводили первую дозу (на неделе -4) в больнице. Вторую дозу исследуемого лекарственного средства во время односторонне слепого вводного периода с плацебо (на неделе -2) вводил пациент или лицо, осуществляющее уход, дома с использованием вто-

рого односторонне слепого автоматического медицинского шприца с плацебо для mAb316P. Пациенты принимали плацебо для EZE/капсулы аторвастатина один раз в сутки в течение 4 недель во время вводного периода плацебо.

(4) Лечение в двойном слепом режиме.

Пациентов, которые удовлетворяли всем критериям включения и которые не удовлетворяли ни одному из критериев исключения, включая испытываемые связанные со скелетными мышцами АЕ, отличные от тех, которые обусловлены растяжением или травмой, во время односторонне слепого вводного периода плацебо продолжительностью 4 недели, подвергали рандомизации для получения (А) mAb316P 75 мг п/к каждые 2 недели+плацебо для EZE/аторвастатина п/о один раз в сутки, или (В) EZE 10 мг п/о один раз в сутки+плацебо для mAb316P п/к каждые 2 недели, или (С) аторвастатина 20 мг п/о один раз в сутки+плацебо для mAb316P п/к каждые 2 недели.

Эзетимиб 10 мг и аторвастатин 20 мг находились в капсуле с двойной оболочкой, чтобы соответствовать плацебо для EZE/аторвастатина для обеспечения двойного слепого режима. Эзетимиб 10 мг, аторвастатин 20 мг и плацебо являлись неотличимыми друг от друга.

Рандомизацию стратифицировали в соответствии с анамнезом подтвержденного инфаркта миокарда (MI) или ишемического инсульта, (да/нет).

Первую инъекцию во время периода лечения в двойном слепом режиме вводили в исследовательском центре на сутки рандомизации (неделя 0 [сутки 1] - визит 4) и как можно скорее после обращения к интерактивной системе голосовой связи (IVRS)/интерактивной системе веб-связи (IWRS) для рандомизации в исследовании. Последующие инъекции вводил пациент (самостоятельное проведение инъекции) или доверенное лицо, осуществляющее уход (супруга, родственник и т.д.), в предпочтительном для пациента месте (например, дома или на рабочем месте). Пациентам давали возможность сделать выбор возвращаться в исследовательский центр каждые 2 недели для того, чтобы введение инъекции проводил персонал исследования. Пациенты, рандомизированные в группу mAb316P, получали 75 мг исследуемого лекарственного средства от момента рандомизации до недели 12 (недели 0, 2, 4, 6, 8 и 10).

Во время визита недели 12 на основании их уровня LDL-C на неделе 8 и исходного риска CV (определено где-либо еще в настоящем описании) пациенты продолжали получать mAb316P 75 мг каждые 2 недели или им увеличивали дозу, как указано ниже:

(А) пациенты с очень высоким риском CV в слепом режиме (i) продолжали получать mAb316P 75 мг каждые 2 недели от недели 12 до последней инъекции на неделе 22, если их уровень LDL-C на неделе 8 составлял <70 мг/дл (1,81 ммоль/л), или (ii) получали дозу, которую повышают до mAb316P 150 мг каждые 2 недели от недели 12 до последней инъекции на неделе 22, если их уровень LDL-C на неделе 8 составлял  $\geq$ 70 мг/дл (1,81 ммоль/л).

(В) пациенты с высоким или средним риском CV в слепом режиме (i) продолжали получать mAb316P 75 мг каждые 2 недели от недели 12 до последней инъекции на неделе 22, если их уровень LDL-C на неделе 8 составлял <100 мг/дл (2,59 ммоль/л), или (ii) получали дозу, которую повышали до mAb316P 150 мг каждые 2 недели от недели 12 до последней инъекции на неделе 22, если их уровень LDL-C на неделе 8 составлял  $\geq$ 100 мг/дл (2,59 ммоль/л).

(5) Последующее наблюдение.

Пациентов наблюдали в течение периода 8 недель после конца периода лечения в двойном слепом режиме или после досрочной отмены лечения в рамках исследования.

На всем протяжении исследования.

Пациентам давали инструкции продолжать принимать их базисную модифицирующую уровень липидов терапию (LMT) на всем протяжении исследования (за исключением EZE, статинов, красного ферментированного риса и фибратов [отличных от фенофибрата]).

Допустимые LMT (в соответствующих случаях) являлись стабильными (включая дозу) от скрининга до визита конца лечения, кроме исключительных обстоятельств, при которых проблемы безопасности (включая, но, не ограничиваясь ими Alert TG, сообщаемый центральной лабораторией) оправдывали такие изменения по усмотрению исследователя.

Максимальная продолжительность исследования на пациента составляла приблизительно до 39 недель (9 месяцев): до 1 недели для скрининга; 2 недели для отмывания; 4 недели для односторонне слепого вводного периода с плацебо; 24 недели для лечения в двойном слепом режиме и 8 недель последующего наблюдения. Конец исследования определяли как последний визит исследовательского центра последнего пациента, по графику протокола.

Отбор пациентов.

Достаточное число пациентов подвергали скринингу и включали в односторонне слепой вводный период с плацебо для обеспечения того, что по меньшей мере 250 пациентов (100:100:50; mAb316P:EZE:аторвастатин) удовлетворяли критериям рандомизации для периода лечения в двойном слепом режиме.

Популяция исследования: популяция исследования состояла из пациентов с гиперхолестеринемией (heFH или не-FH) и со средним, высоким или очень высоким риском CV, которые плохо переносили ста-

тины. Средний риск CV определяли как оценку риска CVD со смертельным исходом, рассчитанную в течение 10 лет  $\geq 1$  и  $< 5\%$  (ESC/EAS 2011). Высокий риск CV определяли как оценку риска CVD со смертельным исходом, рассчитанную в течение 10 лет,  $\geq 5\%$  (ESC/EAS 2011), умеренная хроническая болезнь почек (СКД), сахарный диабет 1 типа или 2 типа без поражения органа-мишени или heFH. Очень высокий риск CV определяли как наличие в анамнезе подтвержденного CHD, ишемического инсульта, болезни периферических артерий (PAD), транзиторной ишемической атаки (TIA), аневризмы брюшной аорты, окклюзии сонной артерии  $> 50\%$  без симптомов, каротидной эндартерэктомии или процедуры стентирования сонной артерии, стеноза почечной артерии, процедуры стентирования почечной артерии, сахарного диабета 1 типа или 2 типа с поражением органа-мишени.

Подтвержденный анамнез CHD определяли как появление одного или более из указанных ниже: (i) острого MI; (ii) бессимптомного MI; (iii) нестабильной стенокардии; (iv) процедуры реваскуляризации коронарных артерий (например, чрескожного коронарного вмешательства [PCI] или шунтирования коронарных артерий [CABG]) и/или (v) клинически значимого CHD, диагностированного инвазивным или неинвазивным тестированием (таким как коронарная ангиография, стресс-тест с использованием беговой дорожки, стресс-эхокардиография или радионуклидная визуализация).

Критерии включения: для того, чтобы соответствовать критериям настоящего исследования пациенты должны страдать первичной гиперхолестеринемией (heFH или не-FH) с умеренным, высоким или очень высоким сердечно-сосудистым риском и иметь в анамнезе непереносимость статинов.

Диагностику heFH проводят по генотипированию или по клиническим критериям. Для пациентов, которые не прошли генотипирование необходимо, чтобы клинический диагноз представлял собой определенный/точный диагноз и мог быть основан на критериях Саймона Брума (Simon Broome) или ВОЗ/голландские критерии (Dutch Lipid Network). Средний, высокий и очень высокий риск CV является таким, как определено выше.

Определение непереносимости статинов: неспособность переносить по меньшей мере 2 предшествующих статина в минимальной одобренной суточной дозы вследствие связанных со скелетными мышцами симптомами, отличными от тех, которые обусловлены растяжением или травмой, такими как боль, ломота, слабость или спазм, которые начинались или усиливались во время терапии статинами и прекращались, когда терапию статинами отменяли.

Критерии исключения: проспективные пациенты, которые соответствуют любому из следующих ниже критериев (подразделенных на пункты А, В, и С, ниже), исключали из исследования:

А. Критерии исключения, связанные с методологией исследования:

- 1) рассчитанный уровень LDL-C в сыворотке  $< 70$  мг/дл (1,81 ммоль/л) и очень высокий риск CV (как определено где-либо еще в настоящем описании) во время визита скрининга (неделя -7);
- 2) рассчитанный уровень LDL-C в сыворотке  $< 100$  мг/дл (2,59 ммоль/л) и высокий или средний риск CV (как определено где-либо еще в настоящем описании) во время визита скрининга (неделя -7);
- 3) оценка риска CVD со смертельным исходом в течение 10 лет по шкале SCORE  $< 1\%$  во время визита скрининга (неделя -7);
- 4) использование статина, в дозе или выше минимальной одобренной суточной дозы за 4 недели до визита скрининга (неделя -7);
- 5) переживание связанных со скелетными мышцами нежелательных явлений (AE), отличные от тех, которые обусловлены растяжением или травмой, во время односторонне слепого вводного периода с плацебо продолжительностью 4 недели;
- 6) переживание связанного(ых) со скелетными мышцами AE, отличного от тех, которые обусловлены растяжением или травмой, в момент времени скрининга (неделя -7), начала односторонне слепого вводного периода с плацебо (неделя -4) или на сутки 1/неделя 0;
- 7) не получают стабильную дозу модифицирующей уровень липидов терапии (LMT) в течение по меньшей мере 4 недель и/или фенофибрат в течение по меньшей мере 6 недель, в соответствующих случаях, до визита скрининга (неделя -7) или от момента скрининга до рандомизация, в соответствующих случаях;
- 8) использование фибратов, отличных от фенофибрата, за 6 недель визита скрининга (неделя -7);
- 9) применение нутрицевтиков или терапевтических средств, отпускаемых без рецепта, которые влияют на липиды, в дозе/количестве, которое ее являлось стабильным в течение по меньшей мере 4 недели до визита скрининга (неделя -7) или в период между визитом скрининга и визитом рандомизации;
- 10) использование красного ферментированного риса от визита скрининга (неделя -7) до конечного визита исследования (неделя 32);
- 11) использование анальгетиков, для которых планируют, что доза не является стабильной, от визита скрининга до конечного визита исследования (неделя 32);
- 12) диагноз фибромиалгии;
- 13) наличие в анамнезе тяжелой нейропатической боли;
- 14) наличие в анамнезе ревматической болезни, ассоциированной с симптомами, которые можно спутать с симптомами непереносимости статинов (например, ревматоидный артрит);

- 15) наличие в анамнезе миалгии или миопатии, которая начиналась или усиливалась во время лечения LMT, отличной от терапии статинами, и прекращалась, когда LMT отменяли;
- 16) известный анамнез судорожного расстройства;
- 17) наличие в анамнезе предшествующей трансплантационной хирургии;
- 18) использование лекарственных препаратов, которым необходимо внутримышечное введение, или планируемые внутримышечные инъекции во время исследования;
- 19) известный анамнез миопатии, отличной от связанной со статинами миопатии;
- 20) наличие в анамнезе рабдомиолиза (определяемого как подтверждение поражения органа с креатинкиназой >10,000 МЕд/л);
- 21) наличие любого клинически значимого неконтролируемого эндокринного заболевания, для которого известно, что оно влияет на уровень липидов или липопротеинов в сыворотке. [Примечание: пациентов, получающих заместительную терапию щитовидной железы, можно было включать, если дозирование тироксина явилось стабильным в течение по меньшей мере 12 недель до скрининга и уровень стимулирующих щитовидную железу гормонов (TSH) находился в нормальном диапазоне центральной лаборатории во время визита скрининга (неделя -7)];
- 22) наличие в анамнезе бариатрической хирургии за 12 месяцев до визита скрининга (неделя -7);
- 23) нестабильная масса (измерение >5 кг) за 2 месяца до визита скрининга (неделя -7);
- 24) известный анамнез потери функции PCSK9 (например, генетическая мутация или изменение последовательности);
- 25) известный анамнез гомозиготной FH;
- 26) впервые диагностированный (за 3 месяца до визита рандомизации [неделя 0/сутки 1]) сахарный диабет или плохо контролируемый (гемоглобин A1c [HbA1c] >8,5%) диабет;
- 27) использование системных кортикостероидов, если их не используют в качестве заместительной терапии заболевания гипофиза/надпочечников со стабильной схемой лечения в течение по меньшей мере 6 недель до рандомизации. Местные, внутрисуставные, назальные, ингалируемые и офтальмологические стероидные терапевтические средства не рассматривают как "системные", и они являются допустимыми;
- 28) использование терапии на основе эстрогена или тестостерона, за исключением случаев, когда схема лечения являлась стабильной последние 6 недель до визита скрининга (неделя -7), и не планируют изменять схему лечения во время исследования;
- 29) наличие в анамнезе прохождения лечения плазмаферезом за 2 месяца до визита скрининга (неделя -7) или запланированное прохождение плазмафереза во время исследования;
- 30) систолическое артериальное давление >160 мм рт.ст. или диастолическое артериальное давление >100 мм рт.ст. во время визита скрининга (неделя -7) или во время рандомизации (неделя 0/сутки 1);
- 31) наличие в анамнезе инфаркта миокарда (МИ), нестабильной стенокардии, приводящей к госпитализации, шунтирования коронарных артерий (CABG), чрескожного коронарного вмешательства (PCI), неконтролируемой аритмии сердца, хирургии или стентирование сонных артерий, инсульта, транзиторной ишемической атаки, реваскуляризации сонных артерий, эндоваскулярной процедуры или хирургического вмешательства в отношении заболевания периферических сосудов за 3 месяца до визита скрининга (неделя -7);
- 32) пациенты, принимающие участие в настоящее время в реабилитации или в программе физической подготовки;
- 33) наличие в анамнезе сердечной недостаточности III или IV класса согласно Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) за последние 12 месяцев;
- 34) возраст <18 лет или совершеннолетия во время визита скрининга (неделя -7) в зависимости от того, что больше;
- 35) ранее не получали указаний, касающихся снижающей уровень холестерина диеты, до визита скрининга (неделя -7);
- 36) известный анамнез геморрагического инсульта;
- 37) наличие в анамнезе злокачественной опухоли за последние 5 лет, за исключением случаев излечения до возможной степени базально-клеточного рака кожи, плоскоклеточного рака кожи или рака шейки матки in situ;
- 38) известный анамнез положительного результата анализа на ВИЧ;
- 39) использование любых активных экспериментальных лекарственных средств за 1 месяц или 5 периодов полувыведения в зависимости от того, что больше;
- 40) предшествующее участие в любом клиническом испытании mAb316P (алирокумаба) или любого другого моноклонального антитела против PCSK9;
- 41) состояния/ситуации, такие как (A) любая клинически значимая аномалия, идентифицируемая в момент скрининга, которая по мнению исследователя или любого соисследователя исключает безопасное завершение исследования или ограничивает оценку конечных точек, например основные системные заболевания, пациенты с короткой продолжительностью жизни; (B) по мнению исследователя или любого соисследователя считающиеся неподходящими для этого исследования по любой причине, например (i) считаются неспособными удовлетворять конкретным требованиям протокола, таким как плановые

визиты; (ii) считаются неспособными вводить или переносить длительные инъекции на основании мнения пациента или исследователя; (iii) исследователь или любой соисследователь, фармацевтический работник, координатор исследования, другой персонал, участвующий в исследовании, или его родственник, непосредственно участвующий в проведении протокола и т.д.; (iv) наличие любых других условий (например, географических, социальных) фактических или предполагаемых, которые по мнению исследователя задержат или ограничат участие пациента на протяжении всего периода продолжительности исследования;

42) результаты лабораторных анализов во время периода скрининга (не включая лабораторные анализы во время рандомизации): (A) положительный результат теста на поверхностный антиген гепатита В или антитело против гепатита С; (B) положительный тест на беременность бета-hCG в сыворотке или моче у женщин детородного возраста; (C) TG >400 мг/дл (>3,95 ммоль/л) (допускают 1 повторение лабораторного анализа); (D) eGFR <30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> по формуле исследования MDRD с 4 переменными (рассчитываемой центральной лабораторией); (E) аланинаминотрансфераза (ALT) или аспартатаминотрансфераза (AST) >3×верхняя граница нормы (ULN) (допускают 1 повторение лабораторного анализа); (F) СРК >2×ULN; (G) TSH <нижняя граница нормы (LLN) или >ULN центральной лаборатории; (H) витамин D3 <20 нг/мл [50 нмоль/л];

В. Критерии исключения, связанные с активным препаратом сравнения или другими исследуемыми лекарственными средствами.

43) Все противопоказания для других лекарственных средств (аторвастатин и EZE) или предупреждение/предостережения использования (при необходимости), как указано в соответствующей национальной маркировке продукции;

С. Критерии исключения, связанные с активным средством (mAb316P).

44) Известная гиперчувствительность к терапевтическим средствам на основе моноклональных антител;

45) беременные или кормящие грудью женщины;

46) женщины детородного возраста без эффективного способа контрацепции контроля рождаемости, и/или которые не желают или неспособны пройти тест на беременность.

Пациенты, которых преждевременно исключали из исследования, не заменяют.

Исследуемые виды лечения.

Исследуемое лечение представляло собой однократную подкожную (п/к) инъекцию 1 мл для дозы 75 или 150 мг mAb316P или плацебо, предоставленного в автоматическом медицинском шприце, вводимую в живот, бедро или внутреннюю область плеча. Во время периода лечения в двойном слепом режиме (от 0 до 24 недели) отвечающих критериям пациентов подвергали рандомизации для получения (1) mAb316P 75 мг п/к один раз каждые две недели (Q2W)+плацебо для эзетимиба (EZE)/аторвастатина перорально один раз в сутки (п/о QD) или (2) EZE 10 мг п/о один раз в сутки+плацебо для mAb316P п/к каждые 2 недели или (3) аторвастатина 20 мг п/о один раз в сутки+плацебо для mAb316P п/к каждые 2 недели.

Эзетимиб 10 мг и аторвастатин 20 мг помещали в капсулу с войной оболочкой, чтобы соответствовать плацебо для EZE/аторвастатина для обеспечения двойного слепого режима. Эзетимиб 10 мг, аторвастатин 20 мг и плацебо неотличимы друг от друга. Исследуемое лекарственное средство вводили посредством п/к инъекции каждые 2 недели, начиная с недели 0 и продолжая до последней инъекции (неделя 22), за 2 недели до конца периода лечения в двойном слепом режиме.

Первую инъекцию исследуемого лекарственного средства в двойном слепом режиме вводили на месте проведения клинического исследования, как можно скорее после того, как пациент прошел рандомизацию в исследовании. За пациентом наблюдали на месте проведения клинического исследования в течение 30 мин после первой инъекции. Пациент/лицо, осуществляющее уход, вводило последующие инъекции вне клиники в соответствии со схемой дозирования. На сутки когда визит клинического исследования совпадал с дозированием, дозу исследуемого лекарственного средства вводили после того, как проводили все исследовательские оценки и собирали все образцы для лабораторных исследований.

Исследуемое лекарственное средство в идеале вводили каждые 2 недели п/к приблизительно в одно и то же время суток; однако признавали приемлемым наличие периода окна  $\pm 3$  суток. Все сутки выбирались на основании предпочтения пациента.

В случае когда введение инъекции задерживали более чем на 7 суток или полностью пропускали, пациента просили возвращаться к исходному режиму дозирования исследуемого лекарственного средства без введения дополнительных инъекций. Если задержка составляла менее или являлась равной 7 суткам от пропущенной даты, пациента просили вводить задержанную инъекцию, а затем возобновлять исходный режим дозирования. Пациентам давали возможность сделать выбор, чтобы введение инъекции проводил персонал исследования и возвращаться в исследовательский центр каждые 2 недели для проведения своей инъекции. Плацебо для EZE/аторвастатин, капсулы EZE 10 мг или аторвастатин 20 мг принимали перорально один раз в сутки. Исследовательский центр предоставляет пациенту/лицу, осуществляющему уход, подробные инструкции по транспортировке, хранению, получению и введению исследуемого

дуемого лекарственного средства.

Изменение дозы ("вариант повышения дозы").

Во время визита на неделе 12 на основании их уровня LDL-C на неделе 8 и исходного риска CV (определяемого где-либо еще в настоящем описании) пациенты продолжали принимать mAb316P 75 мг каждые 2 недели или им повышали их дозу, как указано ниже:

(А) Пациенты с очень высоким риском CV в слепом режиме: (1) продолжали получать mAb316P 75 мг каждые 2 недели от недели 12 до последней инъекции на неделе 22, если их уровень LDL-C на неделе 8 составлял <70 мг/дл (1,81 ммоль/л), или (2) получали дозу, которую повышали до mAb316P 150 мг каждые 2 недели от недели 12 до последней инъекции на неделе 22, если их уровень LDL-C на неделе 8 составлял  $\geq$ 70 мг/дл (1,81 ммоль/л).

(В) Пациенты с высоким или средним риском CV в слепом режиме: (1) продолжали получать mAb316P 75 мг каждые 2 недели от недели 12 до последней инъекции на неделе 22, если их уровень LDL-C на неделе 8 составлял <100 мг/дл (2,59 ммоль/л), или (2) получали дозу, которую повышали до mAb316P 150 мг каждые 2 недели от недели 12 до последней инъекции на неделе 22, если их уровень LDL-C на неделе 8 составлял  $\geq$ 100 мг/дл (2,59 ммоль/л).

Тренировка проведения инъекции.

Во время первого планового визита односторонне слепого вводного периода с плацебо (на неделе -4) пациентам давала указания по введению исследуемого лекарственного средства с использованием односторонне слепого автоматического медицинского шприца, содержащего плацебо для mAb316P, и они самостоятельно вводили первую дозу в исследовательском центре.

Вторую дозу исследуемого лекарственного средства во время односторонне слепого вводного периода с плацебо (на неделе -2) вводил пациент или лицо, осуществляющее уход, дома с использованием второго односторонне слепого автоматического медицинского шприца плацебо для mAb316P.

Первую инъекцию во время периода лечения в двойном слепом режиме вводили в исследовательском центре на сутки рандомизации (неделя 0 [сутки 1] - визит 4) и как можно скорее после рандомизации в исследование с использованием автоматического медицинского шприца из набора, в отношении которого проводили рандомизацию пациентов. Последующие инъекции вводил пациент (самостоятельное проведение инъекции) или доверенное лицо, осуществляющее уход, или пациенты имели возможность вернуться в исследовательский центр каждые 2 недели для того, чтобы персонал исследования проводил инъекцию. Все пациенты и лица, осуществляющие уход, для которых планировали, что они будут проводить инъекцию исследуемого лекарственного средства, перед введением инъекции проходили тренировку у персонала исследования.

Исследуемое лечение.

Стерильные лекарственный препарат mAb316P поставляли в концентрации 75 или 150 мг/мл в гистидине, pH 6,0, полисорбате 20 и сахарозе в автоматическом медицинском шприце. Плацебо, соответствующее mAb316P, поставляли в том же составе как mAb316P без добавления белка в автоматическом медицинском шприце. Эзетимиб 10 мг и аторвастатин 20 мг помещали в капсулу с двойной оболочкой, чтобы соответствовать плацебо для EZE/аторвастатина для обеспечения двойного слепого режима. Эзетимиб 10 мг, аторвастатин 20 мг и плацебо являлись неотличимыми друг от друга.

Базисное лечение.

Пациенты должны были получать стабильную LMT в течение по меньшей мере 4 недель (6 недель для фенофибрата) перед визитом скрининга (неделя -7). Пациентов просили продолжать получать их базисную LMT на всем протяжении исследования (отличную от EZE, статинов, красного ферментированного риса и фибратов [отличных от фенофибрата]). Значения липидного профиля из образцов, получаемых после рандомизации, были в слепом режиме. Не проводили изменения базисной LMT у пациента в период от визита скрининга (неделя -7) до конца визита исследования (неделя 32). Не происходило регуляции дозы, отмены или начало другой LMT (включая запрещенную LMT) вовремя этого периода времени, кроме исключительных обстоятельств, при которых вызывающие беспокойство вопросы безопасности оправдывали такие изменения по усмотрению исследователя.

В итоге, базисную LMT не модифицировали от момента скрининга до визита последующего наблюдения. Другие виды фоновой терапии, допускаемые в исследовании, включали секвестранты желчных кислот (такие как холестирамин, колестипол, колесевелам); никотиновую кислоту; фенофибрат и омега-3-жирные кислоты ( $\geq$ 1000 мг ежедневно).

Рандомизация.

Пациентов рандомизировали для получения mAb316P, EZE или аторвастатина во время периода лечения в рамках двойного слепого исследования с использованием отношения 2:2:1 с блочной рандомизацией. Рандомизацию стратифицировали в соответствии с анамнезом подтвержденного MI или ишемического инсульта [да/нет].

Слепой режим.

Односторонне слепой вводный период с плацебо.

Для односторонне слепого вводного периода с плацебо и в соответствии односторонне слепым ди-

займом только принимающие участие в исследовании пациенты получали лечение в слепом режиме; исследователи не находились в слепом режиме по отношению к исследуемому лечению. Плацебо для mAb316P поставляли в автоматических медицинских шприцах. Пероральный плацебо для EZE/аторвастатина поставляли в капсуле для сохранения слепого режима.

Период лечения в двойном слепом режиме.

Для периода лечения в двойном слепом режиме mAb316P и плацебо для mAb316P предоставляли в идентично соответствующих автоматических медицинских шприцах и идентично упаковывали, и прикрепляли этикетку для сохранения слепого режима. Эзетимиб и аторвастатин помещали в капсулу с двойной оболочкой, чтобы соответствовать плацебо для EZE/аторвастатина для обеспечения двойного слепого режима. Эзетимиб 10 мг, аторвастатин 20 мг и плацебо являлись неотличимыми друг от друга.

Каждый набор для лечения в двойном слепом режиме помечали числом, которое получали посредством компьютерной программы. Исследователь получал числа для набора для лечения во время рандомизации пациента и последующих визитов пациента, планированных посредством централизованной системы распределения по группам лечения, которая являлась доступной 24 ч в сутки, 7 суток в неделю.

В соответствии с двойным слепым дизайном исследуемые пациенты, исследователи и персонал исследовательского центра оставались в слепом режиме по отношению к исследуемому лечению и не имели доступ к рандомизации (коды к схеме лечения), за исключением конкретно определенных обстоятельств.

Значения липидных параметров из образцов крови, получаемых после визита рандомизации, анализируемых центральной лабораторией, не передавали в исследовательские центры, таким образом, что они не были не способны делать выводы о группе лечения своих пациентов на основании получаемого уровня LDL-C. Оперативная группа спонсора не имела доступ к липидным параметрам после рандомизации и до окончания закрытия доступа к конечной базе данных. Исследовательские центры и оперативная группа спонсора находились в слепом режиме в отношении повышения дозы от 75 до 150 мг в случае, когда пациент соответствовал критериям повышения дозы. Использовали наборы исследуемого лекарственного средства в слепом режиме, кодируемые системой нумерации лекарственных средств. Для поддержания слепого режима списки, связывающие такие коды с номерами серии продуктов, являлись недоступными для индивидуумов, участвующих в проведении исследования.

Результаты по антителу против лекарственного средства (ADA) не передавали в исследовательские центры, и оперативная группа спонсора не имела доступ к результатам, связанным с идентификацией пациента до окончания закрытия доступа к конечной базе данных. У пациентов, у которых титры антитела против mAb316P составляли 240 или выше во время визита последующего наблюдения, брали дополнительный образец(ы) для антитела, получаемый в течение периода от 6 до 12 месяцев после последней дозы и в дальнейшем, приблизительно каждые 3-6 месяцев, до тех пор, пока титр не возвращался к значению ниже 240. Для поддержания слепого режима исследования пациентам с титрами ниже 240 направляли просьбы о сборе образцов для антител против mAb316P в период после лечения во время визита последующего наблюдения.

Сопутствующие лекарственные препараты.

Если считалось необходимым для благополучия пациента и маловероятным, чтобы препятствовать исследуемому лекарственному средству, по решению исследователя допускался прием сопутствующих лекарственных средств (отличных от тех, которые являются запрещенными во время исследования) в стабильной дозе (по возможности). Любое другое сопутствующее лекарственное средство (а) являлось допустимым и регистрировалось при необходимости.

Нутрицевтические продукты или отпускаемые без рецепта терапевтические средства, которые могут влиять на липиды, допускались только в случае, если их использовали в стабильной дозе в течение по меньшей мере 4 недель до визита скрининга (неделя-7) и сохраняли в течение периода от визита скрининга до конца исследования (неделя 32). Примеры таких нутрицевтических продуктов или отпускаемых без рецепта терапевтических средств включают омега-3-жирные кислоты в дозах <1000 мг, растительные станола, такие как встречающиеся в бенеколе, масле семян льна и подорожнике.

Запрещенные сопутствующие лекарственные средства от начального визита скрининга до визита последующего наблюдения включали следующие ниже: статины; фибраты, отличные от фенофибрата; EZE и продукты красного ферментированного риса.

Конечные точки исследования.

Исходные характеристики включали стандартные демографические данные (например, возраст, расу, массу, рост и т.д.), характеристики заболевания, включая историю болезни и историю болезни для каждого пациента. Данные за прошлые года касательно статинов, доз и существующих связанных со скелетными мышцами явлений, которые приводили к диагнозу "непереносимость статинов" собирали как часть истории болезни/хирургической истории.

Первичная конечная точка оценки эффективности.

Первичная конечная точка оценки эффективности представляла собой процент изменения рассчитываемого уровня LDL-C от исходного уровня к неделе 24, который определяли как  $100 \times (\text{рассчитываемое значение LDL-C на неделе 24} - \text{рассчитываемое значение LDL-C на исходном})$

уровне)/рассчитываемое значение LDL-C на исходном уровне. Исходное значение LDL-C являлось необходимым для каждого пациента, т.к. исходное рассчитываемое значение LDL-C представляло собой последний уровень LDL-C, получаемый перед первой инъекцией исследуемого лекарственного средства в двойном слепом режиме.

Рассчитываемый LDL-C на неделе 24 представлял собой уровень LDL-C, получаемый в течение окна анализа на неделе 24 и во время основного периода эффективности. Основным периодом эффективности определяли как период времени от первой инъекции исследуемого лекарственного средства в двойном слепом режиме до 21 суток после последней инъекции исследуемого лекарственного средства в двойном слепом режиме или до верхней границы окна анализа на неделе 24 в зависимости от того, что наступало раньше.

Все рассчитываемые значения LDL-C (планируемые или непланируемые, натошак или не натошак) использовали для получения значения для первичной конечной точки оценки эффективности, при необходимости в соответствии с указанным выше определением. Окно анализа, используемое для установления момента времени для измерения, определяли в плане статистического анализа (SAP).

Вторичные конечные точки для оценки эффективности.

Вторичные конечные точки настоящего исследования включали следующие ниже:

(1) Процент изменения рассчитываемого уровня LDL-C от исходного уровня к неделе 12: рассчитываемый уровень LDL-C на неделе 12 представлял собой уровень LDL-C, получаемый в окне анализа недели 12 и во время периода эффективности в течение 12 недель. Период эффективности в течение 12 недель определяют как момент времени от первой инъекции исследуемого лекарственного средства в двойном слепом режиме до контакта визита 6 или до 21 суток после последней инъекции исследуемого лекарственного средства в двойном слепом режиме в зависимости от того, что наступает раньше.

(2) Процент изменения уровня ApoB от исходного уровня к неделе 24.

(3) Процент изменения уровня не-HDL-C от исходного уровня к неделе 24.

(4) Процент изменения уровня общего-C от исходного уровня к неделе 24.

(5) Процент изменения уровня ApoB от исходного уровня к неделе 12.

(6) Процент изменения уровня не-HDL-C от исходного уровня к неделе 12.

(7) Процент изменения уровня общего-C от исходного уровня к неделе 12.

(8) Доля пациентов, которая достигла цели LDL-C на неделе 24; например, LDL-C <70 мг/дл (1,81 ммоль/л) в случае очень высокого риска CV или LDL-C <100 мг/дл (2,59 ммоль/л) для пациентов со средним или высоким риском CV, определяемым как (число пациентов, рассчитываемое значение LDL-C на неделе 24 которых достигает целевого LDL-C/число пациентов в модифицированной популяции получающей лечение [mITT]) $\times$ 100 с использованием определения и правил, используемых для первичной конечной точки.

(9) Доля пациентов, достигающая уровня LDL-C <70 мг/дл (1,81 ммоль/л) на неделе 24.

(10) Процент изменения уровня Lp(a) от исходного уровня к неделе 24.

(11) Процент изменения уровня HDL-C от исходного уровня к неделе 24.

(12) Процент изменения уровня HDL-C от исходного уровня к неделе 12.

(13) Процент изменения уровня Lp(a) от исходного уровня к неделе 12.

(14) Процент изменения уровня TG натошак от исходного уровня к неделе 24.

(15) Процент изменения уровня TG натошак от исходного уровня к неделе 12.

(16) Процент изменения уровня ApoA-1 от исходного уровня к неделе 24.

(17) Процент изменения уровня ApoA-1 от исходного уровня к неделе 12.

(18) Доля пациентов, которая достигла целевого уровня LDL-C на неделе 12; например, LDL-C <70 мг/дл (1,81 ммоль/л) в случае очень высокого риска CV и LDL-C <100 мг/дл (2,59 ммоль/л) в случае среднего или очень высокого риска CV, определяемого как: (число пациентов, рассчитываемое значение LDL-C которых на неделе 12, достигало целевого уровня LDL-C/число пациентов в популяции mITT) $\times$ 100.

(19) Доля пациентов, достигающая уровня LDL-C <100 мг/дл (2,59 ммоль/л) на неделе 24.

(20) Доля пациентов, достигающая уровня LDL-C <100 мг/дл (2,59 ммоль/л) на неделе 12.

(21) Доля пациентов, достигающая уровня LDL-C <70 мг/дл (1,81 ммоль/л) на неделе 12.

(22) Абсолютное изменение рассчитываемого уровня LDL-C (мг/дл и ммоль/л) от исходного уровня к неделям 12 и 24.

(23) Изменение отношения ApoB/ApoA-1 от исходного уровня к неделям 12 и 24.

(24) Доля пациентов с ApoB <80 мг/дл (0,8 ммоль/л) на неделях 12 и 24.

(25) Доля пациентов с не-HDL-C <100 мг/дл на неделях 12 и 24.

(26) Доля пациентов с рассчитываемым LDL-C <70 мг/дл (1,81 ммоль/л) и/или >50% снижением рассчитываемого уровня LDL-C (если рассчитывают LDL-C  $\geq$ 70 мг/дл [1,81 ммоль/л]) на неделях 12 и 24.

Другие конечные точки: (1) статус по антителам против лекарственного средства mAb316P (положительный/отрицательный) и титры, оцениваемые на всем протяжении исследования; (2) процент изменения уровня высокочувствительного C-реактивного белка (hs-CRP) от исходного уровня к неделе 24; (3)

абсолютное изменение HbA1c (%) от исходного уровня к неделе 24.

Процедуры исследования.

Все образцы для лабораторных анализов собирали перед введением дозы исследуемого лекарственного средства. Образцы крови для липидограмм собирали по утрам натощак (т.е. в течение ночи по меньшей мере 10 ч без приема пищи и воздержания от курения) для всех визитов в клинику. Не рекомендовали потребление алкоголя за 48 ч и занятие интенсивными физическими упражнениями за 24 ч до взятия образцов крови. Примечание: если пациент не находился в состоянии натощак, образец крови не собирали, и планировали новое время посещения через сутки (или как можно ближе к этой дате) с напоминанием, что образец крови необходимо сдавать в состоянии натощак (по меньшей мере 10 ч).

Общий-С, HDL-С, TG, ApoB, ApoA-1 и Lp(a) измеряли непосредственно в центральной лаборатории в соответствии определенной схемой. Холестерин липопротеинов низкой плотности рассчитывали по формуле Фридвальда для всех визитов (за исключением недели -15 и визита последующего наблюдения). Если значения TG превышали 400 мг/дл (4,52 ммоль/л), то в центральной лаборатории измеряли LDL-С (способом количественного определения бета-липопротеинов), а не рассчитывали его. Не-HDL-С рассчитывали вычитанием HDL-С их общего-С. Рассчитывали отношение ApoB/ApoA-1.

Липидограмма (натощак): образцы крови липидограммы (общий-С, TG, HDL-С и рассчитываемый LDL-С) собирали по меньшей мере через 10 ч натощак в predetermined моменты времени.

Конкретная липидограмма (натощак): образцы крови для конкретной липидограммы (ApoB, ApoA-1, отношение ApoB/ApoA-1 и Lp[a]) собирали по меньшей мере через 10 ч натощак в predetermined моменты времени.

Артериальное давление и частота сердечных сокращений: артериальное давление и частоту сердечных сокращений оценивали в predetermined моменты времени. Артериальное давление предпочтительно измеряли в положении сидя в стандартизованных условиях, приблизительно в одно и то же время суток, на одной и той же руке, с использованием одного и того же устройства (после того, как пациент удобно отдыхал в положении сидя в течение по меньшей мере 5 мин). Во время первого визита скрининга артериальное давление измеряли на обеих руках. Во время этого визита определяли руку с наиболее высоким диастолическим давлением и измеряли артериальное давление на этой руке на всем протяжении исследования. Такое самое высокое значение регистрировали в электронной индивидуальной регистрационной карте (eCRF). Частоту сердечных сокращений измеряли во время измерения артериального давления.

Медицинский осмотр: во время визита скрининга проводили (визит 1) всесторонний и полный медицинский осмотр, включая рост и массу. Медицинский осмотр с измерением массы тела проводили в predetermined моменты времени.

Масса тела и рост: массу тела определяли у пациента, одетого в нижнее белье или очень легкую одежду и без обуви и с пустым мочевым пузырем. Эту же шкалу преимущественно использовали на всем протяжении исследования. Рекомендовали использовать откалиброванные шкалы весов, по возможности.

Электрокардиограмма: электрокардиограммы проводили перед тем как получали образцы крови во время визитов, которые предусматривают забор крови. ЭКГ в стандартных 12 отведениях проводили в predetermined моменты времени. ЭКГ в 12 отведениях проводили после по меньшей мере 10 минут отдыха и в положении лежа на спине. Электроды размещали на одном и том же месте насколько это возможно для каждой регистрации ЭКГ на всем протяжении исследования. Исследователь интерпретировал ЭКГ по месту проведения. Каждую кривую анализировали в сравнении с кривой, регистрируемой во время скрининга.

Лабораторное тестирование: все образцы для лабораторных исследований собирали перед тем, как вводили дозу исследуемого лекарственного средства. Образцы для лабораторного тестирования собирали в predetermined моменты времени и анализировали в центральной лаборатории во время исследования.

Результаты.

Распределение индивидуумов.

Всего 519 пациентов подвергали скринингу для этого исследования, из которых 361 (69,6%) пациент завершал скрининг и входил в односторонне слепой вводный период с плацебо. Для этих пациентов, которые входили в односторонне слепой вводный период с плацебо, 47 (13%) пациентов досрочно прекращали лечение плацебо, среди которых 29 (8%) пациентов прекращали вследствие связанных со скелетными мышцами неблагоприятными явлениями (например, соответствующих конкретным критериям исключения). Таким образом, 314 пациентов (87%) завершали вводный период и соответствовали критериям рандомизации в двойной слепой период.

Всего 314 пациентов рандомизировали (63 в группу аторвастатина, 125 в группу эзетимиба и 126 в группу mAb316P), где один пациент в группе эзетимиба прошел рандомизацию, но не получал лечение в рамках исследования по причине "другое" (проблемы с планированием необходимых визитов по протоколу). Таким образом, популяция для оценки безопасности содержала 313 пациентов. Этот пациент не возвращался для какой-либо оценки впоследствии, и, таким образом, его не включали в популяцию ИТТ.

Кроме того, еще 3 пациента исключали из популяции ИТТ, 1 (в группе эзетимиба) вследствие отсутствия исходного значения LDL-C и 2 других (1 в группе аторвастатина и 1 в группе эзетимиба) вследствие отсутствия оценок после исходного уровня. Наконец, дополнительно 9 пациентов (2 в группе аторвастатина, 4 в группе эзетимиба и 3 в группе mAb316P) исключали из популяций mITT вследствие отсутствия оценок периода проведения лечения после исходного уровня.

По итогам первого этапа прекращения учета данных статус пациентов во время исследования являлся таким, как указано ниже.

220 (70,1%) пациентов завершали период лечения в двойном слепом режиме продолжительностью 24 недели: 42 (66,7%) в группе аторвастатина, 82 (65,6%) в группе эзетимиба и 96 (76,2%) в группе mAb316P.

93 (29,6%) пациентам досрочно отменяли лечение в рамках исследования перед завершением периода лечения в двойном слепом режиме: 21 (33,3%) в группе аторвастатина, 42 (33,6%) в группе эзетимиба и 30 (23,8%) в группе mAb316P. 70 (22,3%) пациентов досрочно прекращали лечение в рамках исследования вследствие нежелательных явлений: 16 (25,4%) в группе аторвастатина, 31 (24,8%) в группе эзетимиба и 23 (18,3%) в группе mAb316P. 2 (3,2%) пациента досрочно прекращали лечение в рамках исследования вследствие несоблюдения протокола, и оба пациента находились в группе аторвастатина. 21 (6,7%) пациент досрочно прекращал лечение в рамках исследования вследствие различных других причин: 3 (4,8%) в группе аторвастатина, 11 (8,8%) в группе эзетимиба и 7 (5,6%) в группе mAb316P.

281 (89,5%) пациента вводили по меньшей мере в одно открытое лечение mAb316P, и таким образом, включали в популяцию OLE.

9 (3,2%) пациентов прекращали лечение в рамках исследования в период OLE по итогам прекращения учета данных для этой KRM, и 8 (2,8%) таких пациентов прекращали вследствие нежелательного явления.

Оставшиеся 272 (96,8%) пациента в популяции OLE продолжают и получают лечение в рамках исследования в течение периода OLE.

Исходные характеристики пациентов, включенных в исследование, обобщены в табл. 10.

Таблица 10

## Исходные характеристики

	Аторвастатин (N=63)	Эзетимиб (N=125)	mAb316P (N=126)
Возраст, годы, среднее (SD)	63,4 (8,9)	62,8 (10,1)	64,1 (9,0)
Мужской пол, % (n)	55,6 (35)	53,6 (67)	55,6 (70)
Раса, белая, % (n)	98,4 (62)	92,8 (116)	92,9 (117)
BMI, кг/м <sup>2</sup> , среднее (SD)	29,7 (5,4)	28,4 (4,9)	29,6 (6,6)
НеFH, % (n)	12,7 (8)	20,0 (25)	11,1 (14)
Гипертензия	35 (55,6%)	77 (61,6%)	85 (67,5%)
Диабет 2 типа	15 (23,8%)	24 (19,2%)	36 (28,6%)
Анамнез CHD, % (n)			
Постоянный курильщик, % (n)			
LLT, отличная от статины/эзетимиба	54,0 (34)	44,0 (55)	37,3 (47)

Исходные липидные параметры обобщены в табл. 11.

Таблица 11

## Исходный уровень липидов

Среднее значение (SD), мг/дл	Аторвастатин (N=63)	Эзетимиб (N=125)	mAb316P (N=126)
LDL-C (рассчитываемый)	187,3 (59,5)	193,5 (70,9)	191,1 (72,7)
Не-HDL-C	223,8 (64,8)	229,8 (82,7)	230,0 (80,4)
Apo B	139,1 (34,7)	138,2 (37,4)	141,7 (39,5)
Lp(a), медиана (IQR)	12,0 (6,0:50,0)	14,0 (7,0:43,0)	18,0 (8,0:47,0)

Результаты оценки эффективности.

Вводный период с плацебо завершило 87,0% (314/361) пациентов. В основном, демографические характеристики, исходные характеристики заболевания, опросник по непереносимости статинов, исходные липидные параметры для оценки эффективности, анамнез LMT и применение базисной LMT являлись сравнимыми среди пациентов, рандомизированных в каждую из трех групп лечения в рамках исследования. 15% пациентов страдали гетерозиготной FH. Средний исходный уровень LDL-C составлял 187,3 мг/дл в группе аторвастатина, 194,2 мг/дл в группе эзетимиба и 191,1 мг/дл в группе mAb316P. Всего 89,5% рандомизированных пациентов включали в открытое расширенное исследование.

Результаты анализа конечных точек оценки эффективности двойного слепого периода эффективности в порядке статистического иерархического тестирования, как определяют в указанном выше протоколе, (с множественным тестированием, контролируемым при уровне значимости 0,05) указаны в табли-

це 12. Первичный и ключевые вторичные анализы эффективности проводили, сравнивая пациентов, получавших лечение mAb316P, с пациентами, получавшими лечение эзетимиба. Для ясности, анализ ITT определяли для пациентов в популяции ITT, и он включал все оценки конечных точек в окне анализа, независимо от статуса дозирования лечения в рамках исследования (т.е. включает оценки после лечения). Анализ во время лечения определяют для пациентов в популяции mITT, и он включает все оценки конечных точек от первого исследуемого лекарственного средства в двойном слепом режиме (капсула или инъекция в зависимости от того, что использовали) до 21 суток после последней инъекции исследуемого лекарственного средства в двойном слепом режиме или через 3 суток после последнего приема капсулы в зависимости от того, что наступит раньше (т.е. включает оценки эффективности периода лечения). Примечание: результат является статистически значимым, если значение p составляет  $\leq 0,05$  в порядке иерархического тестирования.

Таблица 12

Обобщение результатов анализа эффективности  
(процент изменения от исходного уровня)

Конечная точка/анализ	Результат эзетимиба	Результат mAb316P	Сравнение	Значение p
LDL-C при нед.24 - анализ ITT	среднее LS: -14,6%	LS среднего: -45,0%	различ.: -30,4%	<0,0001
LDL-C при нед.24 - анализ во время лечения	среднее LS: -17,1%	LS среднего: -52,2%	различ.: -35,1%	<0,0001
LDL-C при нед.12 - анализ ITT	среднее LS: -15,6%	LS среднего: -47,0%	различ.: -31,5%	<0,0001
LDL-C at WK12 - анализ во время лечения	среднее LS: -18,0%	LS среднего: -51,2%	различ.: -33,1%	<0,0001
Apo B при нед.24 - анализ ITT	среднее LS: -11,2%	LS среднего: -36,3%	различ.: -25,1%	<0,0001
Apo B при нед.24 - анализ во время лечения	среднее LS: -14,4%	LS среднего: -42,6%	различ.: -28,2%	<0,0001
Не-HDL-C при нед.24 - анализ ITT	среднее LS: -14,6%	LS среднего: -40,2%	различ.: -25,6%	<0,0001
Не-HDL-C при нед.24 - анализ во время лечения	среднее LS: -17,1%	LS среднего: -46,9%	различ.: -29,8%	<0,0001
Общий холестерин при нед.24 - анализ ITT	среднее LS: -10,9%	LS среднего: -31,8%	различ.: -20,8%	<0,0001
Apo B при нед.12 - анализ ITT	среднее LS: -11,6%	LS среднего: -36,1%	различ.: -24,5%	<0,0001
Не-HDL-C при нед.12 - анализ ITT	среднее LS: -15,8%	LS среднего: -25,7%	различ.: -25,7%	<0,0001
Общий холестерин при нед.12 - анализ ITT	среднее LS: -11,6%	LS среднего: -32,7%	различ.: -21,1%	<0,0001
Очень высокий CV LDL-C <70 мг/дл или средний/высокий CV LDL-C <100 мг/дл при нед.24 - анализ ITT	Доля=4,1%	Доля=41,3%	Отношение шансов=20,2	<0,0001
Очень высокий CV LDL-C <70 мг/дл или средний/высокий CV LDL-C <100 мг/дл при нед.24 - анализ во время лечения	Доля=4,2%	Доля=50,4%	Отношение шансов=33,9	<0,0001
LDL-C <70 мг/дл при нед.24 - анализ ITT	Доля=0,8%	Доля=32,5%	Отношение шансов=71,5	<0,0001
LDL-C <70 мг/дл при нед.24 - анализ во время лечения	Доля=0,8%	Доля=39,0%	Отношение шансов=109,8	<0,0001
Lp(a) при нед.24 - анализ ITT	среднее LS: -7,3%	LS среднего: -25,9%	различ.: -18,7%	<0,0001
HDL-C при нед.24 - анализ ITT	среднее LS: 6,8%	LS среднего: 7,7%	различ.: 0,9%	0,6997
Триглицериды натощак при нед.24 - анализ ITT	среднее LS: -3,5%	LS среднего: -9,2%	различ.: -5,6%	0,1678
Apo A-1 при нед.24 - анализ ITT	среднее LS: 2,9%	LS среднего: 4,8%	различ.: 1,9%	0,2768
Lp(a) при нед.12 - анализ ITT	среднее LS: -4,5%	LS среднего: -21,7%	различ.: -17,2%	<0,0001
HDL-C при нед.12 - анализ ITT	среднее LS: 7,6%	LS среднего: 9,0%	различ.: 1,4%	0,4148

Триглицериды натощак при нед.12 - анализ ГТТ	среднее LS: -9,4%	LS среднего: -8,1%	различ.: 1,3%	0,7152
Аpo A-1 при нед.12 - анализ ГТТ	среднее LS: 3,9%	LS среднего: 5,5%	различ.: 1,6%	0,2685

Для пациентов, получавших лечение mAb316P, LS среднего значения LDL-C на неделе 24 составлял 108,5 мг/дл, что представляет собой изменение уровня LDL-C от исходного уровня -84 мг/дл (например, -45,0%). В отличие от этого для пациентов, получавших лечение EZE, LS среднего значения LDL-C на неделе 24 составляло 159,9 мг/дл, что представляет собой изменение уровня LDL-C от исходного уровня -33 мг/дл (например, -14,6%). Различие % LS среднего уровня LDL-C на неделе 24 для пациентов, получавших лечение mAb316P, в сравнении с пациентами, получавшими лечение эзетимибом, составляло -30,4% (SE=3,1, p<0,0001).

У 52 пациентов mAb316P (41,9%) достигали целевого уровня LDL-C на неделе 24, тогда как только у 5 пациентов EZE (4,4%) достигали целевого уровня LDL-C на неделе 24 (значение p<0,0001). Для целей этого анализа целевой уровень LDL-C определяли как менее 70 мг/дл для пациентов с очень высоким риском и менее 100 мг/дл для пациентов со средним и высоким риском. Кроме того, у 54/109 пациентов mAb316P (49,5%) проводили повышение дозы от 75 мг каждые 2 недели до 150 мг каждые 2 недели на неделе 12 (на основании уровня LDL-C недели 8).

Обобщение снижений выбранных вторичных липидных параметров (не-HDL-C, ApoB и Lp(a)) на неделе 24 представлено в табл. 13.

Таблица 13

## Снижения вторичных липидных параметров на неделе 24

LS среднего процента изменений от исходного уровня к неделе 24 и LS среднего различия в сравнении с эзетимибом					
не-HDL-C		Apo B		Lp (a)	
mAb316P	EZE	mAb316P	EZE	mAb316P	EZE
-40,2* (1,7)	-14,6* (1,7)	-36,3* (1,7)	-11,2* (1,7)	-25,9* (2,4)	-7,3* (2,5)
-25,6 <sup>#</sup> (2,4)		-25,1 <sup>#</sup> (2,4)		-18,7 <sup>#</sup> (3,5)	
p<0,0001		p<0,0001		p<0,0001	

\* - LS (SE) среднего процента изменения от исходного уровня;

<sup>#</sup> - LS среднего различия (SE) в сравнении с эзетимибом.

Первичная конечная точка оценки эффективности и более чем две трети ключевых вторичных конечных точек оценки эффективности достигали статистически значимого преимущества в пользу получавших лечение mAb316P пациентов в соответствии с процедурой иерархического тестирования.

Результаты оценки безопасности.

Проводили рандомизацию всего 313 пациентов, и они получали по меньшей мере дробную дозу лечения в рамках двойного слепого исследования (популяция оценки безопасности) и 281 пациент получали лечение в рамках исследования OLE (популяция OLE). Во время лечения SAE возникали всего у 29 пациентов, конкретно, 7 (11,1%) пациентов в группе лечения аторвастатином, 10 (8,1%) пациентов в группе лечения эзетимибом и 12 (9,5%) пациентов в группе лечения mAb316P. Существовало не более 1 доклада в любом предпочтительном термине явления для каждой из трех групп с единственным исключением 4 (3,2%) пациентов, у которых описывали несердечную боль в груди в группе лечения эзетимибом.

Всего 70 (22,4%) пациентов досрочно завершали лечение в рамках исследования вследствие TEAE. В частности, 16 (25,4%) пациентов в группе лечения аторвастатином, 31 (25,0%) пациентов в группе лечения эзетимибом и 23 (18,3%) пациенты в группе лечения mAb316P прекращали лечение в рамках исследования раньше. Наиболее распространенные явления, вызывающие ранее прекращение, относились к поражению скелетно-мышечной и соединительной ткани SOC (14 [22,2%] пациентов в группе аторвастатина, 26 [21,0%] пациентов в группе эзетимиба и 20 [15,9%] пациентов в группе mAb316P), где наиболее часто описываемый предпочтительный термин представляет собой миалгии.

Не описывали случаев гибели пациентов во время промежуточного анализа.

TEAE возникали у 54 (85,7%) пациентов в группе лечения аторвастатином, у 100 (80,6%) пациентов в группе лечения эзетимибом и у 104 (82,5%) пациентов в группе лечения mAb316P. TEAE, которые возникали у ≥5% пациентов в любой группе лечения, представляли собой ринофарингит (3,2/8,1/6,3% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно); инфекцию верхних дыхательных путей (3,2/4,0/5,6% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно); головную боль (6,3/4,8/4,8% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно); парестезию (6,3/0/3,2% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно); артралгию (7,9/7,3/5,6% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно); боль в позвоночнике (7,9/5,6/4,0% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно); мышечные спазмы (11,1/7,3/4,0% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно); мышечную слабость (6,3/1,6/0,8% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно); миалгию (27/23,4/24,6% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно) и усталость (7,9/3,2/4,8% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P

соответственно).

SOC с частотой появления у пациентов  $\geq 5\%$  в группе mAb316P и более высокой частотой в группе mAb316P по сравнению с группами аторвастатина и EZE представляли собой "психические расстройства" возникали у 9 (7,1%) пациентов в группе лечения mAb316P в сравнении с 2 (3,2%) в группе лечения аторвастатином и 5 (4,0%) пациентами в группе лечения EZE. Наиболее распространенное явление представляло собой 5 (4,0%) сообщений о бессоннице в группе лечения mAb316P в сравнении с 1 (1,6%) таких явлений в группе лечения аторвастатином, в сравнении с 2 (1,6%) таких сообщений в группе лечения эзетимибом. "Нарушения со стороны органа слуха и равновесия" возникали у 8 (6,3%) пациентов в группе лечения mAb316P в сравнении с 1 (1,6%) пациентом в группе лечения аторвастатином и 4 (3,2%) пациентами в группе лечения EZE. Наиболее распространенное явление представляло собой 6 (4,8%) сообщений о вертиго в группе лечения mAb316P в сравнении с 1 (1,6%) таким сообщением в группе лечения аторвастатином в сравнении с 2 (1,6%) такими сообщениями в группе лечения эзетимибом. "Нарушения со стороны сердца" возникали у 10 (7,9%) пациентов в группе лечения mAb316P в сравнении с 2 (3,2%) пациентами в группе лечения аторвастатином и 6 (4,8%) пациентами в группе лечения EZE. Наиболее распространенное явление представляло собой 4 (3,2%) сообщения об учащенном сердцебиении в группе лечения mAb316P в сравнении с 0 таких сообщений в группе лечения аторвастатином, в сравнении с 2 (1,6%) такими сообщениями в группе лечения эзетимибом. "Исследования" возникали у 9 (7,1%) пациентов в группе лечения mAb316P в сравнении с 3 (4,8%) пациентами в группе лечения аторвастатином и 7 (5,6%) пациентами в группе лечения EZE. Единственное SOC с более высокой частотой в обеих группах лечения аторвастатина и EZE по сравнению с группой лечения mAb316P представляло собой поражение скелетно-мышечной и соединительной ткани.

Для ТЕАЕ, представляющих определенный интерес (AESI), результаты представлены предварительно определяемыми предпочтительными группировками терминов SMQ или CMQ: возникающие во время лечения реакции на участке инъекции (ISR) возникали у 1 (1,6%) пациента в группе лечения аторвастатином, у 6 (4,8%) пациентов в группе лечения эзетимибом и у 6 (4,8%) пациентов в группе лечения mAb316P. Общие аллергические ТЕАЕ, идентифицируемые посредством MedDRA SMQ "гиперчувствительность", возникали у 4 (6,3%) пациентов в группе лечения аторвастатином, у 9 (7,3%) пациентов в группе лечения эзетимибом и у 12 (9,5%) пациентов в группе лечения mAb316P. Возникающие во время лечения неврологические АЕ возникали у 8 (12,7%) пациентов в группе лечения аторвастатином, у 4 (3,2%) пациентов в группе лечения эзетимибом и у 11 (8,7%) пациентов в группе лечения mAb316P. Наиболее распространенные предпочтительные термины представляли собой парестезию (6,3/0/3,2% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно) и мышечную слабость (6,3/1,6/0,8% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно). Возникающие вовремя лечения нейрокогнитивные нарушения не отмечали у пациентов в группе лечения аторвастатином, возникали у 2 (1,6%) пациентов в группе лечения эзетимибом и у 3 (2,4%) пациентов в группе лечения mAb316P.

Для пациентов с сердечно-сосудистыми событиями, идентифицированными для экспертного заключения, у одного (0,8%) пациента положительно подтверждали МИ без смертельного исхода, и этот пациент находился в группе лечения mAb316P.

В отношении частоты возникновения у пациентов с 2 последовательно рассчитываемыми измерениями LDL-C ниже 25 мг/дл во всех трех группах лечения не наблюдали пациентов had an с возникновением явлений.

Связанные со скелетными мышцами ТЕАЕ определяют дважды для этого исследования, в частности для этих явлений, собранными в связанных со скелетными мышцами CRF и вновь CMQ (как определено в приложении протокола). Всего у 99 (31,6%) пациентов сообщали о предпочтительном термине CMQ, в частности у 25 (39,7%) пациентов в группе лечения аторвастатином, у 40 (32,3%) пациентов в группе лечения эзетимибом и у 34 (27,0%) пациентов в группе лечения mAb316P. Наиболее распространенные CMQ, определяемые предпочтительными терминами, вызывающее связанные со скелетными мышцами события, представляли собой миалгию (27/23,4/24,6% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно), мышечные спазмы (11,1/7,3/4,0% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно) и мышечную слабость (6,3/1,6/0,8% для аторвастатина/эзетимиба/mAb316P соответственно), которые все входили в нарушения скелетно-мышечной и соединительной тканей SOC.

Возникающие во время лечения связанные со скелетными мышцами события, приводящие к раннему прекращению лечению, описывали у 55 (17,6%) пациентов, в частности у 13 (20,6%) пациентов в группе лечения аторвастатином, у 23 (18,5%) пациентов в группе лечения эзетимибом и у 19 (15,1%) пациенты в группе лечения mAb316P. Не описывали ни одного возникающего во время лечения серьезных связанных со скелетными мышцами событий в любой группе лечения. Не описывали случаев гибели пациентов вследствие ТЕАЕ связанных со скелетными мышцами событий в любой группе лечения.

Заключения.

В настоящем исследовании оценивали пациентов с анамнезом непереносимости по меньшей мере двух различных статинов, включая один при минимальной дозе, вследствие связанных с мышцами симптомов. Проводили рандомизацию пациентов для получения mAb316P, эзетимиба или аторвастатина 20 мг (группа калибровочного стандарта). Пациенты, получавшие лечение в этом исследовании, имели

очень высокие уровни LDL-C, когда их сначала включали в испытание (в диапазоне 187-193,5 мг/дл в среднем). В клинической практике для 10-25% пациентов описывают непереносимость статинов.

В настоящем исследовании достигали первичной конечной точки оценки эффективности в популяции ИТТ статистически значимого снижения процента изменения от исходного уровня рассчитываемого LDL-C в группе пациентов, получавших лечение mAb316P (LS среднего=-45,0%), по сравнению с пациентами, получавшими лечение эзетимибом (LS среднего=-14,6%) с LS различия среднего между группами лечения -30,4%. Для более чем двух третей ключевых вторичных конечных точек оценки эффективности в этом исследовании получали статистически значимое преимущество в группе пациентов, получавших лечение mAb316P, по сравнению с пациентами, получавшими лечение эзетимибом. На основании доступных данных этого исследования подкожное введение mAb316P у пациентов с первичной гиперхолестеринемией (heFH и не-FH), которые плохо переносят статины, как правило, являлось безопасным и хорошо переносимым. Показатель связанных со скелетными мышцами АЕ для пациентов, получавших лечение mAb316P, являлся меньше в контрольной группе, и определяли, что это различие является статистически значимым у пациентов, получавших лечение 20 мг аторвастатина (как оценивали по времени первого связанного со скелетными мышцами АЕ,  $p=0,042$ ). Кроме того, показатель досрочного прекращения исследования связанных со скелетными мышцами АЕ для пациентов, получавших лечение mAb316P, составлял менее двух контрольных групп. В настоящем исследовании наблюдали аналогичный показатель АЕ между всеми группами лечения (mAb316P 2,5%, эзетимиб 81%, аторвастатин 86%). Наиболее распространенные АЕ представляли собой миалгию (25% mAb316P, 23% эзетимиб, 27% аторвастатин), ринофарингит (6% mAb316P, 8% эзетимиб, 3% аторвастатин), артралгию (6% mAb316P, 7% эзетимиб, 8% аторвастатин) и инфекцию верхних дыхательных путей (6% mAb316P, 4% эзетимиб, 3% аторвастатин).

Настоящее изобретение не является ограниченным в объеме конкретными вариантами осуществления, описываемыми в настоящем описании. Фактически, различные модификации по изобретению в дополнение к модификациям, описываемым в настоящем описании, станут понятны специалистам в данной области из указанного выше описания и сопровождающих фигур. Такие модификации предназначены входить в объем прилагаемой формулы изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения гиперхолестеринемии, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту фармацевтической композиции, содержащей 75 или 150 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который специфически связывает PCSK9 человека, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR тяжелой и легкой цепей, имеющих SEQ ID NOs : 2, 3, 4, 7, 8 и 10, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в отсутствие терапии статинами с частотой один раз каждые две или четыре недели в дозе 75 мг или один раз каждые две или четыре недели в дозе 150 мг, где пациент не переносит статины или имеет историю побочных реакций на терапию статинами.
2. Способ по п.1, где пациент ранее испытывал связанные со скелетными мышцами симптомы, которые начинались или усиливались, по меньшей мере, при приеме самой низкой дозы одного или более статинов.
3. Способ по п.1 или 2, где пациент ранее испытывал связанные со скелетными мышцами симптомы, которые начинались или усиливались по меньшей мере при двух отдельных ежесуточных терапевтических схемах лечения статинами.
4. Способ по п.3, где по меньшей мере одна из ежесуточных терапевтических схем лечения статинами представляет собой:
  - (a) самую низкую разрешенную дозу одного или более статинов, или
  - (b) выбранную из группы, состоящей из 5 мг розувастатина ежесуточно, 10 мг аторвастатина ежесуточно, 10 мг симвастатина ежесуточно, 20 мг ловастатина ежесуточно, 40 мг правастатина ежесуточно, 40 мг флувастатина ежесуточно и 2 мг питавастатина ежесуточно.
5. Способ по любому из пп.1-4, в котором у пациента до или во время введения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента проявляется гиперхолестеринемия, определяемая как уровень сывороточного холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) более примерно 70 мг/дл или более примерно 100 мг/дл.
6. Способ по любому из пп.1-5, в котором у пациента имеется гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (heFH) или форма гиперхолестеринемии, которая не является семейной гиперхолестеринемией (не-FH).
7. Способ по любому из пп.1-6, в котором пациент имеет умеренный, высокий или очень высокий риск сердечно-сосудистого заболевания.
8. Способ по п.7, где пациент до введения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента имел:
  - (a) умеренный риск сердечно-сосудистого заболевания, определяемого как рассчитываемая оценка риска сердечно-сосудистого заболевания со смертельным исходом в течение 10 лет, более или равная 1%

и менее 5%;

(b) высокий риск сердечно-сосудистого заболевания, определяемого как рассчитываемая оценка риска сердечно-сосудистого заболевания со смертельным исходом в течение 10 лет, более или равная 5%, наряду с одним или более из (i) умеренной хронической болезни почек, (ii) сахарного диабета 1 типа без поражения органа-мишени, (iii) сахарного диабета 2 типа без поражения органа-мишени и/или (iv) heFH; и/или подвергается очень высокому сердечно-сосудистому риску, определяемому как один или более из (i) подтвержденной ишемической болезни сердца; (ii) ишемического инсульта; (iii) периферического инсульта; (iv) поражения периферических артерий (PAD); (v) транзиторной ишемической атаки (ТИА); (vi) аневризмы брюшной аорты; (vii) окклюзии сонной артерии >50% без симптомов; (viii) каротидной эндартерэктомии; (ix) процедуры стентирования сонной артерии; (x) стеноза почечной артерии; (xi) процедуры стентирования почечной артерии; (xii) сахарного диабета 1 типа с поражением органа-мишени и/или (xiii) сахарного диабета 2 типа с поражением органа-мишени.

9. Способ по любому из пп.1-8, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и LCVR, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

10. Способ по любому из пп.1-9, в котором пять начальных доз фармацевтической композиции, содержащей 75 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, вводят каждые две недели, и где

(a) одну или несколько дополнительных доз фармацевтической композиции, содержащей 75 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, вводят каждые две недели, если уровень LDL-C у пациента после начальных доз ниже 70 мг/дл; или же

(b) одну или несколько дальнейших доз фармацевтической композиции, содержащей 150 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, вводят каждые две недели, если уровень LDL-C у пациента после начальных доз превышает или равен 70 мг/дл.

11. Способ по любому из пп.1-10, в котором фармацевтическая композиция улучшает сывороточные уровни одного или нескольких липидных компонентов, выбранных из группы, состоящей из:

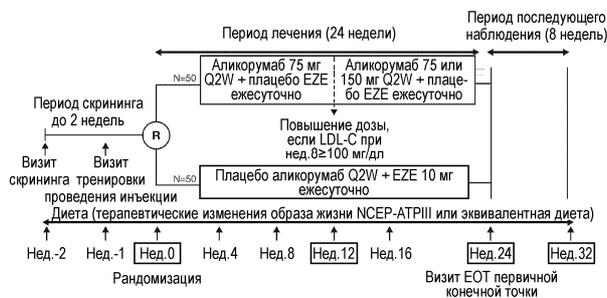
(a) снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) у пациента по меньшей мере на 35%;

(b) снижения аполипопротеина В пациента (ApoB) по крайней мере на 25%;

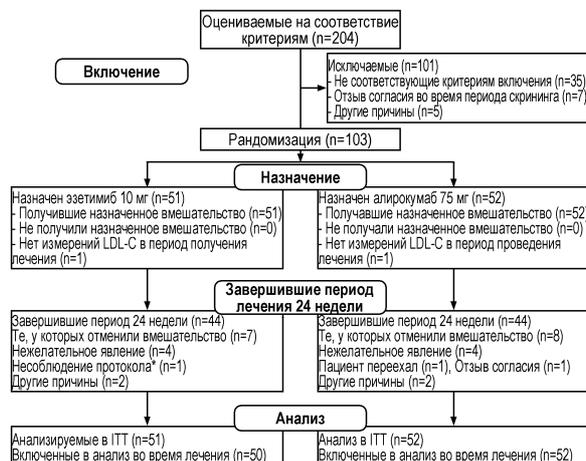
(c) снижения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (не-LDL-C) у пациента по меньшей мере на 30%;

(d) снижения общего холестерина у пациента по меньшей мере на 20% и

(e) снижения липопротеина А пациента (Lp(a)) по меньшей мере на 15%.

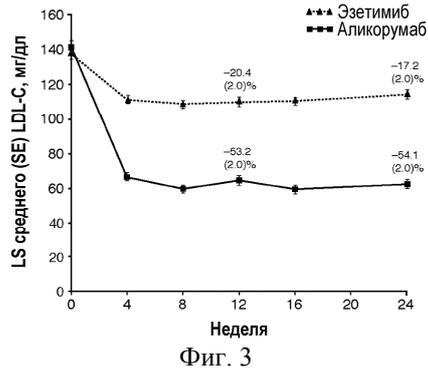


Фиг. 1

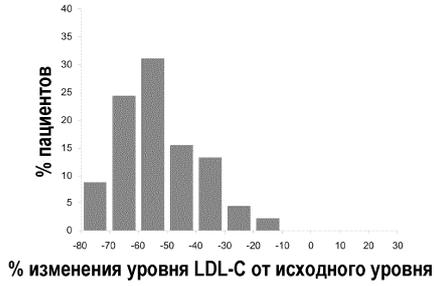


Фиг. 2

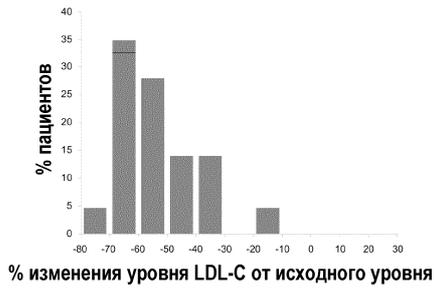
037526



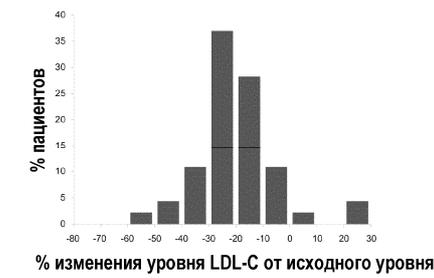
А. Неделя 12, аликорумаб



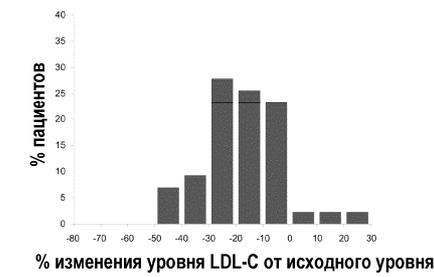
В. Неделя 24, аликорумаб



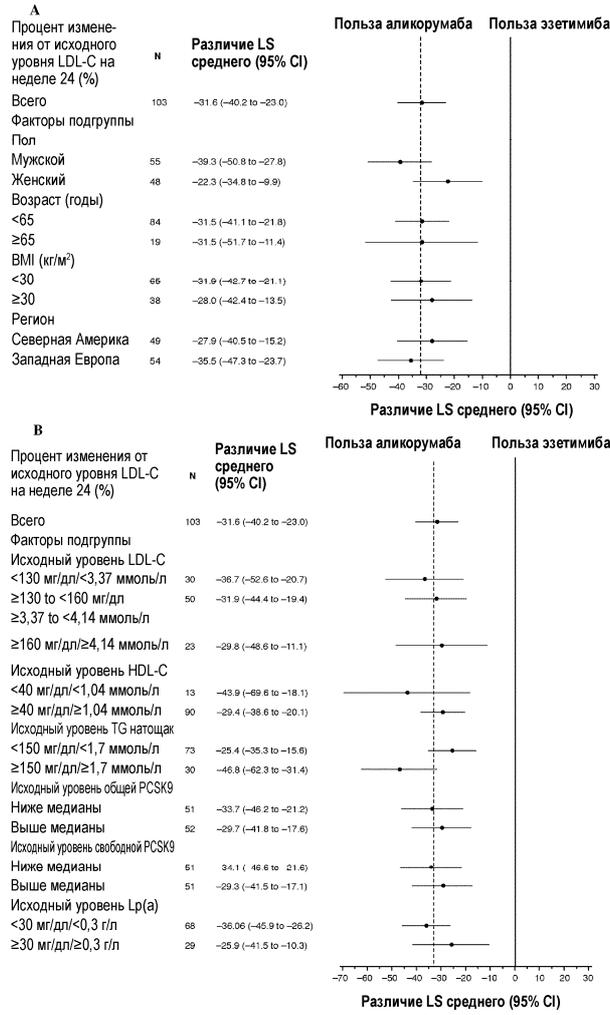
С. Неделя 12, эзетимиб



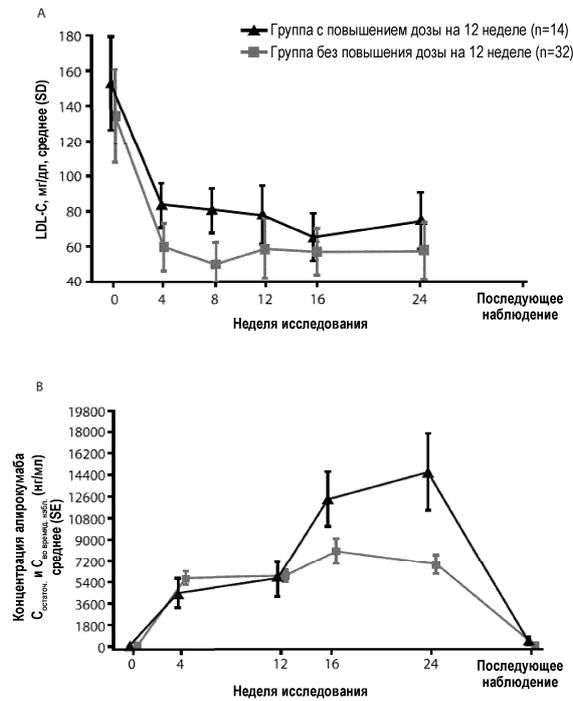
Д. Неделя 24, эзетимиб

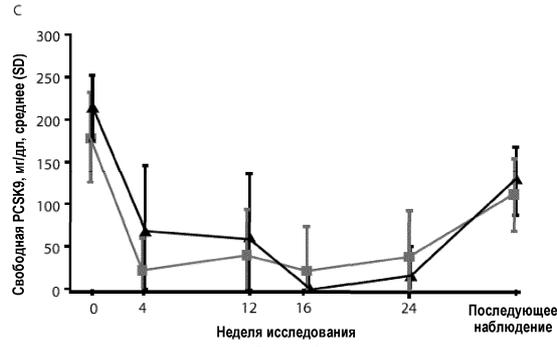


Фиг. 4



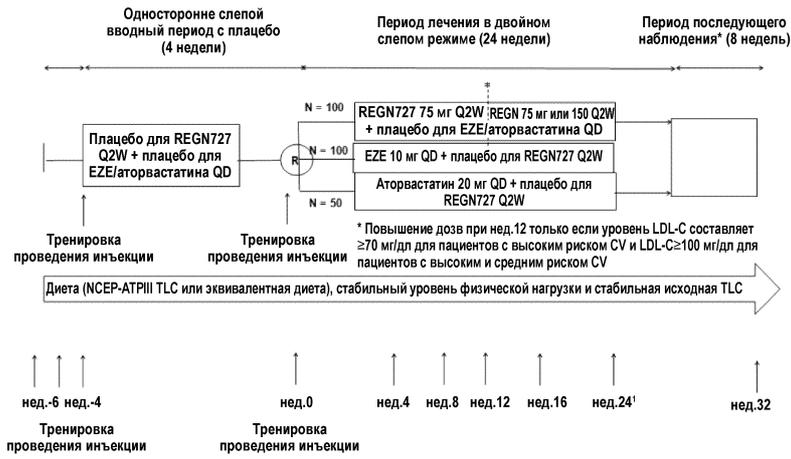
Фиг. 5





Фиг. 6

ГРАФИЧЕСКОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ



Фиг. 7

