

抗 PCSK9 抗体用于预防或治疗胆固醇相关疾病的方法

本申请要求 2019 年 9 月 19 日提交的中国专利申请 201910884902.9 和 2020 年 5 月 19 日提交的中国专利申请 202010424274.9 的权益，将其全被内容引入作为参考。

技术领域

本发明涉及抗体治疗领域，尤其涉及特异性结合前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 型 9 (Proprotein convertase subtilisin/kexin type9) (PCSK9) 的抗体(下称抗 PCSK9 抗体)和/或其抗体片段及包含其的药物制剂用于预防或治疗胆固醇相关疾病的方法。此外，本发明涉及用于预防或治疗所述疾病的抗 PCSK9 抗体或其液体制剂。

背景技术

中国冠状动脉粥样硬化性心脏病和其他粥样硬化性血管疾病的发病率和死亡率均保持不断上升趋势。高胆固醇血症是冠状动脉粥样硬化性心脏病的一种已知危险因素，越来越多的数据说明积极的高胆固醇血症治疗与冠状动脉粥样硬化性心血管终点事件的风险下降有关。在心血管事件风险很高的病人中，如冠心病病人中，这一关系尤其显著。

目前，降胆固醇治疗的基石是他汀类药物，在冠状动脉粥样硬化性心脏病的一级预防和二级预防中发挥重要作用。然而，目前的降脂治疗不能满足临床需求。尽管他汀类药物能够降低心血管死亡，但是他汀治疗存在一定的局限。首先，他汀类药物降低低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C、LDL-胆固醇) 的最大幅度为 40~55%，剂量加倍只能再降低 LDL-C 约 6%。此外，在中国人群中，安全性是使用高强度他汀需要关注的问题。越来越多的研究表明，高强度他汀治疗伴随着更高的肌病以及肝酶上升风险，而这在中国人群中更为突出。HPS2-THRIVE 研究表明使用中等强度他汀治疗时，中国患者肝脏不良反应发生率明显高于欧洲患者，肝酶升高率(>正常值上限 3 倍)超过欧洲患者 10 倍，而肌病风险也高于欧洲人群 10 倍[赵水平等.，中国成人血脂异常防治指南(2016 年修订版). 中国循环杂志 31(10):937-953, 2016.]。目前，尚无关于中国人群高强度他汀治疗的安全性数据。

因此，需要在他汀类药物的基础上继续开发新的有效的降胆固醇治疗，对于降低高危人群的心血管终点事件，具有重要的临床意义。目前已有多种作用机制的降低胆固醇的药物上市或在研，其中，抗 PCSK-9 的单克隆抗体因具备良好的安全性和疗效，受到广泛的关注[赵水平等.，中国成人血脂异常防治指南(2016 年修订版). 中国循环杂志 31(10):937-953, 2016.]。PCSK-9 单抗可抑制 PCSK-9，能够阻断血浆 PCSK-9 与低密度脂蛋白受体 (LDLR) 的结合，进而阻止 LDLR 的内吞和降解，增加细胞表面 LDLR 表达水平和数量，增加 LDLR 对 LDL-C 的重摄取，最终减少循环 LDL-C 水平，达到降血脂的直接作用。

PCSK-9 单克隆抗体疗效显著、安全性良好，皮下注射使用方便。然而当前的 PCSK-9 单克隆抗体给药周期为隔 2 周或 4 周一次用药。患者的依从性有待提高，临床上尚存在未满足的需求。

现在仍需要改进的治疗或预防胆固醇相关疾病的方法，其具有更长的给药间隔，从而更加方便患者给药，提高患者的依从性；和/或具有较少的副作用或更高的安全性；和/或更易于施用。

发明内容

一、预防或治疗方法

一方面，本发明涉及降低受试者的胆固醇水平的方法，所述方法包括向所述受试者以约
5 15mg-3500mg 的剂量施用抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

在另一方面中，本发明涉及预防或治疗受试者的与升高的 LDL-胆固醇水平相关的病症的方法，所述方法包括向所述受试者以约 15mg-3500mg 的剂量施用抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

在一方面中，本发明涉及预防或治疗胆固醇相关疾病例如高胆固醇血症和/或高脂血症的方法，所述方法包括向所述受试者以约 15mg-3500mg 的剂量施用抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

在上述方法的一些实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL，其中所述 VH 包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，其中 HCDR1 包含 SEQ ID NO 10 所示的氨基酸序列或由其组成；HCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列或由其组成；
15 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列或由其组成；所述 VL 包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的组合，其中 LCDR1 包含如 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列或由其组成；LCDR2 包含如 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列或由其组成；LCDR3 包含如 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列或由其组成。

在上述方法的一些实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL，其中，所述重链可变区 VH 包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列或由其组成；所述轻链可变区 VL 包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列或由其组成。

在上述方法的一些实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链，其中，所述重链包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列或由其组成；所述轻链包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列或由其组成。

25 在上述方法的一些实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段是 PCT 专利申请 PCT/CN2017/118050 中公开的 ADI-10087。

在上述方法的一些实施方案中，胆固醇是 LDL-胆固醇。

在上述方法的一些实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段以约 25mg 至约 3000mg、约 50mg 至约 2500mg、约 75mg 至约 2000mg、约 100 mg 至约 2000mg、约 200mg 至约
30 2000mg、约 250mg 至约 1500mg、约 300mg 至约 1000mg、约 450mg 至约 1000mg、约 600mg 至约 1000mg、约 350mg 至约 900mg、约 400mg 至约 800mg、约 450mg 至约 700 mg、约 300mg 至约 600mg 或约 450mg 至约 600mg 的剂量施用至受试者。

在一些实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段以约 25mg、约 50mg、约 75mg、约 100mg、约 125mg、约 140 mg、约 150mg、约 200mg、约 250mg、约 300mg、约 350mg、约
35 400mg、约 420 mg、约 450mg、约 500mg、约 550mg、约 600mg、约 650mg、约 700mg、约 750mg、约 800mg、约 900 mg、约 1000mg、约 1200mg、约 1500mg、约 2000mg、约 2500mg、约 3000mg 或约 3500mg 的剂量施用至受试者。

在上述方法的一些实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段是胃肠外方式施用的。

在上述方法的一些实施方案中, 所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段是皮下施用的。

在上述方法的一些实施方案中, 所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段是静脉内施用的。

在上述方法的一些实施方案中, 与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比, 在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月, 该受试者的 LDL-胆固醇水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

在上述方法的一些实施方案中, 与受试者的血清游离 PCSK-9 的给药前水平相比, 在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月, 该受试者的血清游离 PCSK-9 水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

在上述方法的一些实施方案中, 与受试者的总胆固醇的给药前水平相比, 在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月, 该受试者的总胆固醇水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

在上述方法的一些实施方案中, 与受试者的载脂蛋白 B 的给药前水平相比, 在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月, 该受试者的载脂蛋白 B 水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

在上述方法的一些实施方案中, 与受试者的非高密度脂蛋白胆固醇的给药前水平相比, 在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月, 该受试者的非高密度脂蛋白胆固醇水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

在上述方法的一些实施方案中, 与受试者的脂蛋白 a 的给药前水平相比, 在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月, 该受试者的脂蛋白 a 水平仍降低了>20%、>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

在上述方法的一些实施方案中, 与受试者载脂蛋白 B/载脂蛋白 A1 比值的给药前水平相比, 在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月, 该受试者的载脂蛋白 B/载脂蛋白 A1 比值水平仍降低了>20%、>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

在上述方法的一些实施方案中, 所述胆固醇或 LDL-胆固醇是血清 LDL-胆固醇。

在上述方法的一些实施方案中, 所述的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段以每四周或大于每四周一次(Q4W)的间隔施用, 例如以每五周一次(Q5W)、每六周一次(Q6W)、每七周一次(Q7W)、

每八周一次(Q8W)、每九周一次(Q9W)、每十周一次(Q10W)、每十一周一次(Q11W)、每十二周一次(Q12W)、每4个月一次、每5个月一次、每6个月一次、每7个月一次或每年一次。

在上述方法的一些实施方案中,在给药后,该受试者不发生严重不良事件,尤其与所述的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段相关的严重不良事件。

5 在上述方法的一些实施方案中,在给药后,该受试者的不良事件发生率与接受安慰剂的受试者相当。

在上述方法的一些实施方案中,所述受试者是人。

在上述方法的一些实施方案中,其中所述胆固醇相关疾病选自纯合子家族性高胆固醇血症、杂合子家族性高胆固醇血症和非家族性高胆固醇血症。

10 在上述方法的一些具体实施方案中,所述方法包括向所述受试者以约 300mg-1000 mg (例如约 300mg、约 350mg、约 400mg、约 420mg、约 450mg、约 500mg、约 550mg、约 600mg、约 650mg、约 700mg、约 750mg、约 800mg、约 900 mg 或约 1000mg)的剂量每四周或每六周一次皮下或静脉内施用 ADI-10087,与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比,给药后四周或六周,该受试者的 LDL-胆固醇水平仍降低了>50%。

15 在上述方法的一些具体实施方案中,所述方法包括向所述受试者以约 450mg-1000 mg (例如约 450mg、约 500mg、约 550mg、约 600mg、约 650mg、约 700mg、约 750mg、约 800mg、约 900 mg 或约 1000mg)的剂量每四周或每六周一次皮下或静脉内施用 ADI-10087,与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比,给药后四周或六周,该受试者的 LDL-胆固醇水平仍降低了>50%。

20 在上述方法的一些具体实施方案中,所述方法包括向所述受试者以约 600mg-1000 mg (例如约 600mg、约 650mg、约 700mg、约 750mg、约 800mg、约 900 mg 或约 1000mg)的剂量每六周或每八周一次皮下或静脉内施用 ADI-10087,与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比,给药后六周或八周,该受试者的 LDL-胆固醇水平仍降低了>50%。

25 在上述方法的一些具体实施方案中,所述方法包括向所述受试者以约 300mg-1000 mg (例如约 300mg、约 350mg、约 400mg、约 450mg、约 500mg、约 550mg、约 600mg、约 650mg、约 700mg、约 750mg、约 800mg、约 900 mg 或约 1000mg)的剂量每四周或每六周一次皮下或静脉内施用 ADI-10087,与受试者给药前相比,给药后四周或六周该受试者的 LDL-胆固醇水平仍降低了>50%,且给药后四周或六周血清游离 PCSK-9 水平仍下降 >60%。

30 在上述方法的一些具体实施方案中,所述方法包括向所述受试者以约 450mg-1000 mg (例如约 450mg、约 500mg、约 550mg、约 600mg、约 650mg、约 700mg、约 750mg、约 800mg、约 900 mg 或约 1000mg)的剂量每四周或每六周一次皮下或静脉内施用 ADI-10087,与受试者给药前相比,给药后四周或六周该受试者的 LDL-胆固醇水平仍降低了>50%,且给药后四周或六周血清游离 PCSK-9 水平仍下降 >80%。

35 在上述方法的一些具体实施方案中,所述方法包括向所述受试者以约 600mg-1000 mg (例如约 600mg、约 650mg、约 700mg、约 750mg、约 800mg、约 900 mg 或约 1000mg)的剂量每六周或每八周一次皮下或静脉内施用 ADI-10087,与受试者给药前相比,给药后六周或八周该受试者的 LDL-胆固醇水平仍降低了>50%,且给药后八周血清游离 PCSK-9 水平仍下降 >50%。

在上述方法的一些具体实施方案中,所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段由下文所述的制剂施用。

在上述方法的一些具体实施方案中,所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段由液体抗体制剂施用,所述液体抗体制剂包含

- i) 约 100 mg/mL 至约 200 mg/mL 的抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段;
- (ii) 约 0.2-10 mg/ml 组氨酸;
- 5 (iii) 约 1%-6% 山梨醇; 和
- (iv) 约 0.05-1 mg/ml 聚山梨醇酯-80 或聚山梨醇酯-20;

其中所述液体制剂的 pH 为约 5.0~6.0。

在上述方法的一些具体实施方案中,所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段由液体抗体制剂施用,所述液体抗体制剂包含

- 10 i) 约 100 mg/mL 至约 200 mg/mL 的抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段;
- (ii) 约 0.2-10 mg/ml 组氨酸;
- (iii) 约 1%-6% 山梨醇和约 50mmol/L~180mmol/L 精氨酸或精氨酸盐; 和
- (iv) 约 0.05-1 mg/ml 聚山梨醇酯-80 或聚山梨醇酯-20;

其中所述液体制剂的 pH 为约 5.0~6.0。

15 在上述方法的一些具体实施方案中,所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段由液体抗体制剂施用,所述液体抗体制剂以水为溶剂且具有下面组成:

抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段	150mg/ml
组氨酸	1.5 g/L
精氨酸	90 mmol/L
20 山梨醇	3%(w/v)
聚山梨酯 80	0.3 g/L

其中所述液体制剂的 pH 为约 5.5。

在一些具体实施方案中,所述液体抗体制剂以水为溶剂且具有下面组成:

ADI-10087	150mg/ml
25 组氨酸	1.5 g/L
精氨酸	90 mmol/L
山梨醇	3%(w/v)
聚山梨酯 80	0.3 g/L

其中所述液体制剂的 pH 为约 5.5。

30 应当指出的是,本发明中所用的抗体或其抗原结合片段、其序列、制备和生物活性等已经公开在本申请人的另一 PCT 专利申请 PCT/CN2017/118050(公布号 W02018/113781)中,将其内容整体引入本申请中作为参考。为了方便对应和参考,本文(包括序列表)中公开的序列和

其编号直接引自专利申请 PCT/CN2017/118050, 没有重新编号。

二、本发明的抗体制剂

5 本发明方法可使用在 201810450088.5 中记载的抗体制剂, 将其整体引入本申请作为参考。
在下面还对本发明中使用的抗 PCSK9 抗体制剂(以下简称为“本发明的抗体制剂”)进行了详细描述。

在上述方法的一些具体实施方案中, 所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段由下文所述的制剂施用。

10 一方面, 本发明可使用如下的液体抗体制剂(下文称为“本发明的液体抗体制剂”), 其包含

(i) 本文所定义的抗 PCSK-9 抗体或其片段(例如抗原结合片段);

(ii) 缓冲剂;

(iii) 减粘剂; 和

(iv) 表面活性剂。

15 在一些实施方案中, 所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL, 其中所述 VH 包含如 SEQ ID NO: 30 所示的 VH 中所含的三个互补决定区域(CDR); 所述 VL 包含如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL 中所含的三个互补决定区域(CDR)。

在上述方法的一些实施方案中, 所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL, 其中所述 VH 包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 的组合, 其中 HCDR1 包含 SEQ ID NO 10
20 所示的氨基酸序列或由其组成; HCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列或由其组成; HCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列或由其组成; 所述 VL 包含分别包含如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的氨基酸序列或分别由所述氨基酸序列组成的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的组合。

在上述方法的一些实施方案中, 所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL, 其中, 所述重链可变区 VH 包含 SEQ ID NO: 30 的氨基酸序列或由其组成;
25 所述轻链可变区 VL 包含 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列或由其组成。

在上述方法的一些实施方案中, 所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链, 其中所述重链包含 SEQ ID NO: 41 的氨基酸序列或由其组成; 所述轻链包含 SEQ ID NO: 35
的氨基酸序列或由其组成。

在上述方法的一些实施方案中, 所述抗 PCSK9 抗体是中国专利申请 PCT/CN2017/118050
30 中公开的 ADI-10087。

在一个实施方案中, 本发明的液体抗体制剂中的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段的浓度为约 50 至约 200 mg/mL。在另一个实施方案中, 本发明的液体抗体制剂中的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段的浓度为约 100 mg/mL 至约 200 mg/mL。在另一个实施方案中, 本发明的液体抗体制剂中的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段的浓度为约 100 mg/mL。在另一个实施方案中, 本发明的液体抗体制剂中的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段的浓度为约 125 mg/mL。在另一个实施方案中, 本发明的液体抗体制剂中的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段的浓度为约 150 mg/mL。在另一个实施方案中, 本发明的液体抗体制剂中的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段的浓度为约 175 mg/mL。在另一个实施方案中, 本发明的液体抗体制剂中的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段的浓度为约 200 mg/mL。

在一个实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体为任何结合 PCSK9 蛋白(例如人 PCSK9)的抗体，例如多克隆抗体、单克隆抗体或者两者的组合。优选地，在一个实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体为单克隆抗体。在一个实施方案中，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段为本文中定义的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

5 在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的缓冲剂的浓度为约 0.01-50 mg/ml。在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的缓冲剂的浓度为约 0.1-50 mg/ml。在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的缓冲剂的浓度为约 0.2-10 mg/ml。在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的缓冲剂的浓度为约 0.5-2.5 mg/ml。在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的缓冲剂的浓度为约 1.0-2.0 mg/ml。在一个实施方案中，本发明的液体
10 抗体制剂中的缓冲剂的浓度为约 1.5 mg/ml。

在一个实施方案中，所述缓冲剂选自组氨酸、谷氨酸盐、磷酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐和三羟甲基氨基甲烷。在一个实施方案中，所述缓冲剂为组氨酸。

在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的减粘剂的浓度为约 10 mmol/L- 1000 mmol/L。在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的减粘剂的浓度为约 20 mmol/L- 500 mmol/L。在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的减粘剂的浓度为约 50 mmol/L- 300 mmol/L。在一个实施方案中，本发明的液体抗体制剂中的减粘剂的浓度为约 50 mmol/L- 200 mmol/L。

在一个实施方案中，所述减粘剂选自：糖醇(例如山梨醇)、精氨酸、精氨酸盐酸盐、硫
15 氨酸钠、硫氨酸铵、硫酸铵、氯化铵、氯化钙、氯化锌、乙酸钠和其组合。在一个实施方案中，所述减粘剂是山梨醇。在一个实施方案中，所述减粘剂是山梨醇，其浓度为约 1%-6% (w/v)。在一个实施方案中，所述减粘剂是山梨醇，其浓度为约 1%-6% (w/v)，并且所述液体制剂不包含其它减粘剂。在一个实施方案中，所述减粘剂是山梨醇与精氨酸或精氨酸盐(优选精氨酸盐酸盐)的组合。在一个实施方案中，所述减粘剂是山梨醇与精氨酸或精氨酸盐(优选精氨酸盐酸盐)的组合，其中山梨醇的浓度为约 1%-6% (w/v)，优选约 2%-4% (w/v)，更优选约 3% (w/v)，
25 其中精氨酸或精氨酸盐(优选精氨酸盐酸盐)的浓度为约 50mmol/L~180mmol/L，优选约 70mmol/L~150 mmol/L，更优选约 90 mmol/L。在一个实施方案中，所述减粘剂是山梨醇与精氨酸或精氨酸盐(优选精氨酸盐酸盐)的组合，其中山梨醇的浓度为约 1%-6% (w/v)，优选约 2%-4% (w/v)，更优选约 3% (w/v)，其中精氨酸或精氨酸盐的浓度为约 50mmol/L~180mmol/L，优选约 70mmol/L~150 mmol/L，更优选约 90 mmol/L，并且所述液体制剂不包含其它减粘剂。

30 在一个实施方案中，所述表面活性剂的浓度为约 0.01-5 mg/ml。在一个实施方案中，所述表面活性剂的浓度为约 0.05-1 mg/ml。在一个实施方案中，所述表面活性剂的浓度为约 0.1-0.5 mg/ml。在一个实施方案中，所述表面活性剂的浓度为约 0.3 mg/ml。

在一个实施方案中，所述表面活性剂是非离子型表面活性剂。在一个实施方案中，所述表面活性剂例如是普洛尼克(pluronics)、聚山梨醇酯-80、聚山梨醇酯-60、聚山梨醇酯-40、
35 或聚山梨醇酯-20 等。

在一个实施方案中，本发明的液体制剂包含溶媒，优选地所述溶媒选自注射用水、注射用有机溶剂包括但不限于注射用油、乙醇、丙二醇等，或其组合。

在一个实施方案中，所述液体制剂的 pH 值为约 5.0~6.0。在一个实施方案中，所述液体制剂的 pH 值为约 5.2-5.8。在一个实施方案中，所述液体制剂的 pH 值为约 5.4-5.6。在一个
40 实施方案中，所述液体制剂的 pH 值为约 5.5。

在一个实施方案中，所述液体制剂在 25°C 的粘度为约 1.0 厘泊- 20 厘泊。在一个实施方案中，所述液体制剂在 25°C 的粘度为约 1.0 厘泊- 10 厘泊。在一个实施方案中，所述液体制剂在 25°C 的粘度为约 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 或 10.0 厘泊。在一个实施方案中，所述液体制剂在 25°C 的粘度为约 5.0 厘泊- 7.0 厘泊。在一个实施方案中，所述液体制剂在 25°C 的粘度为约 5.2 厘泊。在一个实施方案中，所述液体制剂在 25°C 的粘度为约 6.0 厘泊。

在一个实施方案中，所述液体制剂为药物制剂，优选为注射剂，更优选为皮下注射剂。

在一个优选实施方案中，本发明的液体抗体制剂包含

- (i) 约 100 mg/mL 至约 200 mg/mL 的抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段；
- (ii) 约 0.2-10 mg/ml 组氨酸；
- (iii) 约 1%-6% (w/v) 山梨醇；和
- (iv) 约 0.05-1 mg/ml 聚山梨醇酯-80 或聚山梨醇酯-20；

其中所述液体制剂的 pH 为约 5.0~6.0。

在一个更优选的实施方案中，本发明的液体抗体制剂还包含注射用水。

在一个优选实施方案中，本发明的液体抗体制剂包含

- (i) 约 100 mg/mL 至约 200 mg/mL 的抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段；
- (ii) 约 0.2-10 mg/ml 组氨酸；
- (iii) 约 1%-6% 山梨醇和约 50mmol/L~180mmol/L 精氨酸或精氨酸盐；和
- (iv) 约 0.05-1 mg/ml 聚山梨醇酯-80 或聚山梨醇酯-20；

其中所述液体制剂的 pH 为约 5.0~6.0。

在一个更优选的实施方案中，本发明的液体抗体制剂还包含注射用水。

在一些具体实施方案中，所述液体抗体制剂以水为溶剂且具有下面组成：

抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段	150mg/ml
组氨酸	1.5 g/L
精氨酸	90 mmol/L
山梨醇	3%(w/v)
聚山梨酯 80	0.3 g/L

其中所述液体制剂的 pH 为约 5.5。

在一些具体实施方案中，所述液体抗体制剂以水为溶剂且具有下面组成：

ADI-10087	150mg/ml
组氨酸	1.5 g/L
精氨酸	90 mmol/L
山梨醇	3%(w/v)
聚山梨酯 80	0.3 g/L

其中所述液体制剂的 pH 为约 5.5。

在一个更优选的实施方案中，本发明的液体抗体制剂还包含注射用水。

5 在一个实施方案中，本发明的包含抗 PCSK9 抗体的液体制剂在约-80°C至约 45°C，例如-80°C、约-30°C、约-20°C、约 0°C、约 5°C、约 25°C、约 35°C、约 37°C、约 42°C或约 45°C 的条件下储存至少 14 天、至少 28 天、至少 1 个月、至少 2 个月、至少 3 个月、至少 4 个月、至少 5 个月、至少 6 个月、至少 7 个月、至少 8 个月、至少 9 个月、至少 10 个月、至少 11 个月、至少 12 个月、至少 18 个月、至少 24 个月，至少 36 个月，或更长时间后，用 SEC-HPLC 法或非还原型 CE-SDS 法检测，抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段的纯度下降不超过 10%，例如不超过 5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%。

10 在一个实施方案中，本发明的包含抗 PCSK9 抗体的液体制剂在约-80°C至约 45°C，例如-80°C、约-30°C、约-20°C、约 0°C、约 5°C、约 25°C、约 35°C、约 37°C、约 42°C或约 45°C 的条件下储存至少 14 天、至少 28 天、至少 1 个月、至少 2 个月、至少 3 个月、至少 4 个月、至少 5 个月、至少 6 个月、至少 7 个月、至少 8 个月、至少 9 个月、至少 10 个月、至少 11 个月、至少 12 个月、至少 18 个月、至少 24 个月，至少 36 个月，或更长时间后，用 CEX-HPLC 法检测，抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段的电荷异质性变化不超过 10%，例如不超过 5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%。

本发明的制剂具有高的抗体浓度，同时其具有适合给药尤其皮下给药的低粘度，具有高的物理和化学稳定性，存放时不易产生聚集体和颗粒并且较不易发生电荷异质性变化。这些优点对于生产完全、有效、高一致性的临床药品是十分有益的。

20 本发明人惊奇地发现山梨醇可作为抗 PCSK9 抗体的液体制剂的减粘剂，在无需加入其它减粘剂的情况下，即可获得低粘度、高浓度抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段液体制剂，并且所述液体制剂具有高的稳定性。另外，本发明人惊奇地发现山梨醇和精氨酸的组合作为减粘剂能够更好地降低抗 PCSK9 抗体的液体制剂的粘度，并且使得能够使高浓度抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段液体制剂具有更低的便于皮下注射的粘度，并且所述 PCSK-9 抗体液体制剂具有提高的稳定性。

25 另一方面，本发明提供了由上面所述液体制剂冻干而获得的固体制剂。可在使用前，将该固体制剂重构于适当的溶媒中，形成本发明的液体制剂。

三、用于治疗或预防疾病的抗 PCSK9 抗体或其制剂

30 本发明涉及如上所述的抗 PCSK9 抗体或者其抗原结合片段或其液体抗体制剂，其用于上面所述的本发明的方法。

应当理解，当在上述涉及液体制剂的方案中，所述施用剂量指制剂中的抗 PCSK9 抗体的量。

四、单次药物剂量单元、成套药物包装盒或其制药用途

35 在另一方面，本发明涉及一种单次药物剂量单元，其特征在于，包括约 15mg-3500mg 的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段；优选地，包括约 25mg 至约 3000mg、约 50mg 至约 2500mg、约 75mg 至约 2000mg、约 100 mg 至约 2000mg、约 200mg 至约 2000mg、约 250mg 至约 1500mg、约 300mg 至约 1000mg、约 450mg 至约 1000mg、约 600mg 至约 1000mg、约 350mg 至约 900mg、约 400mg 至约 800mg、约 450mg 至约 700 mg、约 300mg 至约 600mg 或约 450mg 至约 600mg 的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL，其中

(a) 所述 VH 包含

5 (i) HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 的组合，其中 HCDR1 包含 SEQ ID NO 10 所示的氨基酸序列或由其组成；HCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列，或由其组成；HCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列或由其组成；或

(ii) 如 SEQ ID NO: 30 所示的 VH 中所含的三个互补决定区域(CDR)；

(b) 所述 VL 包含

10 (i) LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的组合，其中 LCDR1 包含如 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列或由其组成；LCDR2 包含如 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列或由其组成；LCDR3 包含如 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列或由其组成；或

(ii) 包含如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL 中所含的三个互补决定区域(CDR)。

15 在一些实施方案中，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL，其中，

(a) 重链可变区 VH 包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列或由其组成；

(b) 轻链可变区 VL 包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列或由其组成。

20 在一些实施方案中，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链，其中

(a) 重链包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列或由其组成；

(b) 轻链包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列或由其组成；

优选地，所述抗 PCSK9 抗体是 ADI-10087。

25 在另一方面，本发明涉及一种成套药物包装盒，其特征在于，包含有上面单次药物剂量单元实施方案中任意一项所述的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

在另一方面，本发明涉及如上所述的单次药物剂量单元或如上所述的成套药盒在制备降低受试者的胆固醇水平的药物中的用途。

30 在另一方面，本发明涉及如上所述的单次药物剂量单元或如上所述的成套药盒在制备预防或治疗受试者的与升高的 LDL-胆固醇水平相关的病症中的用途。

35 在另一方面，本发明涉及如上所述的单次药物剂量单元或如上所述的成套药盒在制备预防或治疗胆固醇相关疾病例如高胆固醇血症和/或高脂血症的药物中的用途。

应当理解，上面第一至三部分中记载的技术特征与上面第四部分中的技术方案的技术特征组合得到的技术方案也包括在本申请中。

附图说明：

40 图 1 显示了各剂量组受试者给予 ADI-10087 后 ADI-10087 平均游离浓度-时间曲线图。上图：线性坐标；下图：半对数坐标；误差条形图以均数±标准差表示，每个剂量组一条线。

图 2 显示了各剂量组受试者给予 ADI-10087 后 ADI-10087 平均总浓度-时间曲线图。上图：线性坐标；下图：半对数坐标；误差条形图以均数±标准差表示，每个剂量组一条线。

图 3 显示了受试者腹部皮下注射 25~600 mg ADI-10087 后总 ADI-10087 及游离 ADI-10087

$C_{\max}$ 分布情况。(散点图)图中折线为各剂量组的中位值;散点为个体值;实线为游离 ADI-10087 的相应参数;虚线为总 ADI-10087 的相应参数。

图 4 显示了受试者腹部皮下注射 25~600 mg ADI-10087 后总 ADI-10087 及游离 ADI-10087 $AUC_{0-\text{last}}$ 分布情况。(散点图)图中折线为各剂量组的中位值;散点为个体值;实线为游离 ADI-10087 的相应参数;虚线为总 ADI-10087 的相应参数。

图 5 显示了受试者腹部皮下注射 25~600 mg ADI-10087 后总 ADI-10087 及游离 ADI-10087 $AUC_{0-\infty}$ 分布情况。(散点图)图中折线为各剂量组的中位值;散点为个体值;实线为游离 ADI-10087 的相应参数;虚线为总 ADI-10087 的相应参数。

图 6 显示了单次给药后血清游离 PCSK-9 浓度相对基线的变化率(%)。

图 7 显示了单次给药后 LDL-C 相对基线变化的最小二乘均数的线图。

图 8 显示了单次给药后 LDL-C 的浓度平均相对基线变化的变化率。

图 9 显示了单次给药后 LDL-C 的平均浓度-时间图。

图 10 显示了单次给药后总胆固醇浓度相对基线的变化率。

图 11 显示了单次给药后 ApoB 浓度相对基线的变化率。

图 12 显示了单次给药后 Non-HDL-C 浓度相对基线的变化率。

图 13 显示了单次给药后脂蛋白 a (Lp(a)) 浓度相对基线的变化率。

图 14 显示了多次给药后血清游离 PCSK-9 浓度相对基线的变化率(%)。

图 15 显示了多次给药后 LDL-C 水平相对基线变化的变化率。

图 16 显示了多次给药后 LDL-C 水平相对基线变化值。

图 17 显示了多次给药后 Lp(a) 水平相对基线变化的变化率。

图 18 显示了多次给药 ApoB 水平相对基线的变化率。

图 19 显示了多次给药 non-HDL-C 水平相对基线的变化率。

图 20 显示了多次给药总胆固醇 TC 水平相对基线的变化率。

图 21 显示了多次给药 ApoB/ApoA1 水平相对基线的变化率。

具体实施方式

定义

本发明中所使用的术语具有如下所列定义。若本文没有定义,优选适用专利申请 PCT/CN2017/118050 中的定义。如果在两者中都没有给出定义,则本发明中所使用的术语具有本领域所通常理解的含义。

为了解释本说明书,将使用以下定义,并且只要适当,以单数形式使用的术语也可以包括复数,并且反之亦然。要理解,本文所用的术语仅是为了描述具体的实施方案,并且不意欲是限制性的。

如本文所用,术语“和/或”意指可选项中的任一项或可选项的两项或更多项。

如本文所用,术语“包含”或“包括”意指包括所述的要素、整数或步骤,但是不排除任意其他要素、整数或步骤。在本文中,当使用术语“包含”或“包括”时,除非另有指明,否则也涵盖由所述及的要素、整数或步骤组合的情形。例如,当提及“包含”某个具体序列

的抗体可变区时,也旨在涵盖由该具体序列组成的抗体可变区。

适用于本发明的“抗体或其抗原结合片段”包括但不限于多克隆、单克隆、单价、双特异性、异缀合物、多特异性、重组、异源、异源杂合、嵌合、人源化(特别是嫁接有 CDR 的)、去免疫的、或人的抗体、Fab 片段、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段、由 Fab 表达库产生的片段、Fd、
5 Fv、二硫化物连接的 Fv(dsFv)、单链抗体(例如 scFv)、双抗体或四抗体(Holliger P. 等 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 90(14), 6444-6448)、纳米抗体(nanobody)(也称为单域抗体)、抗独特型(抗 Id)抗体(包括例如针对本发明抗体的抗 Id 抗体)和上述任一种的表位结合片段。

“个体”或“受试者”包括哺乳动物。哺乳动物包括但不限于,家养动物(例如,牛,
10 羊,猫,狗和马),灵长类动物(例如,人和非人灵长类动物如猴),兔,以及啮齿类动物(例如,小鼠和大鼠)。在一些实施方案中,个体或受试者是人,包括儿童、青少年或成人。

术语“组合疗法”是指施用两种或更多种治疗剂以治疗如本公开所述的胆固醇相关疾病。这种施用包括以基本上同时的方式共同施用这些治疗剂,例如以具有固定比例的活性成分的单一胶囊。或者,这种施用包括对于各个活性成分在多种或在分开的容器(例如片剂、胶囊、
15 粉末和液体)中的共同施用。粉末和/或液体可以在施用前重构或稀释至所需剂量。此外,这种施用还包括以大致相同的时间或在不同的时间以顺序的方式使用每种类型的治疗剂。在任一情况下,治疗方案将提供药物组合在治疗本文所述的病症或病状中的有益作用。

用于本文时,“治疗”指减缓、中断、阻滞、缓解、停止、降低、或逆转已存在的症状、病症、病况或疾病的进展或严重性。

用于本文时,“预防”包括对疾病或病症或特定疾病或病症的症状的发生或发展的抑制。在一些实施方式中,具有家族病史的受试者是预防性方案的候选。通常,术语“预防”是指在病征或症状发生前,特别是在具有风险的受试者中发生前的药物施用。

术语“胆固醇相关疾病”包括以下中的任一种或多种:高胆固醇血症、高脂血症、心脏病、代谢综合征(metabolic syndrome)、糖尿病、冠状动脉心脏病(coronary heart disease)、
25 卒中(stroke)、心血管疾病(cardiovascular diseases)、阿尔茨海默病(Alzheimers disease)和一般性的异常脂血症(dyslipidemia)(其显示为例如提高的总血清胆固醇、提高的 LDL、提高的甘油三酯、提高的 VLDL 和/或低的 HDL)。可以使用抗 PCSK9 抗体(单独地或与一种或多种其他药物组合地)治疗的原发性和继发性异常脂血症的一些非限制性实例包括代谢综合征、糖尿病(diabetes mellitus)、家族性混合性高脂血症(familial combined hyperlipidemia)、
30 家族性高甘油三酯血症(familial hypertriglyceridemia)、家族性高胆固醇血症(familial hypercholesterolemias),包括杂合性高胆固醇血症(heterozygous hypercholesterolemia)、纯合性高胆固醇血症(homozygous hypercholesterolemia)、家族性缺陷性载脂蛋白(familial defective apolipoprotein)B-100;多基因性高胆固醇血症
35 (polygenic hypercholesterolemia);纯合子家族性高胆固醇血症、杂合子家族性高胆固醇血症、非家族性高胆固醇血症;残粒移去障碍病(remnant removal disease)、肝脂肪酶缺失(hepatic lipase deficiency);继发于以下任何的异常脂血症:饮食不慎(dietary indiscretion)、甲状腺机能障碍(hypothyroidism)、药物(包括雌激素和孕酮疗法、 β 阻断剂和噻嗪类利尿剂(thiazide diuretics));肾病综合征(nephrotic syndrome)、慢性
40 肾衰竭(chronic renal failure)、库欣综合征(Cushing's syndrome)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis)、糖原沉积病(glycogen storage diseases)、肝细胞瘤(hepatoma)、胆汁淤积(cholestasis)、肢端肥大症(acromegaly)、胰岛素瘤(insulinoma)、单纯性生长素缺乏症(isolated growth hormone deficiency)和酒精所致高甘油三酯血症(alcohol-induced hypertriglyceridemia)。

45 术语“高胆固醇血症”当用于本文中时是指其中胆固醇水平升高到一定水平以上的病症。

在一些实施方案中，LDL-胆固醇水平升高到一定水平以上。在一些实施方案中，血清 LDL-胆固醇水平升高到一定水平以上。

术语“载体”当在本文中使用时是指能够增殖与其相连的另一个核酸的核酸分子。该术语包括作为自我复制核酸结构的载体以及结合到已经引入其的宿主细胞的基因组中的载体。

5 一些载体能够指导与其可操作相连的核酸的表达。这样的载体在本文中被称为“表达载体”。

术语“有效量”指本发明的制剂、抗体或片段这样的量或剂量，其以单一或多次剂量施用患者后，在治疗的患者中产生预期效果。有效量可以由作为本领域技术人员的主治医师通过考虑以下多种因素来容易地确定：诸如哺乳动物的物种；它的大小、年龄和一般健康；涉及的具体疾病；疾病的程度或严重性；个体患者的应答；施用的具体抗体；施用模式；施用制剂的生物利用率特征；选择的给药方案；和任何伴随疗法的使用。

“治疗有效量”指以需要的剂量并持续需要的时间段，有效实现所需治疗结果的量。本发明的制剂、抗体或抗体片段或其缀合物或组合物的治疗有效量可以根据多种因素如疾病状态、个体的年龄、性别和重量和抗体或抗体部分在个体中激发所需反应的能力而变动。治疗有效量也是这样的一个量，其中制剂、抗体或抗体片段或其缀合物或组合物的任何有毒或有害作用不及治疗有益作用。

“预防有效量”指以需要的剂量并持续需要的时间段，有效实现所需预防结果的量。通常，由于预防性剂量在对象中在疾病较早阶段之前或在疾病较早阶段使用，故预防有效量将小于治疗有效量。

“单次药物剂量单元”表示在给药方案的时刻给予病人的单次药物剂型，包括注射液、药片以及冻干粉等。

如文中所用，术语“制剂”意指适合于向动物优选哺乳动物(包括人)施用的包含至少一种活性成分和至少一种非活性成分的组合物。“液体制剂”是指液体形式的制剂。本发明的液体制剂包含(i)抗 PCSK-9 抗体或其片段(优选抗原结合片段)；(ii)缓冲剂；(iii)减粘剂；(iv)表面活性剂；和(v)溶媒。本发明的制剂的组成可如上面液体制剂实施方案中所示。

25 本发明的液体制剂优选为注射液，更优选为皮下注射液。

如文中所用，“缓冲剂”是指 pH 缓冲剂。优选地，所述缓冲剂能够使本发明的液体制剂的 pH 保持在约 5.0~6.0，优选约 5.2-5.8，更优选约 5.4-5.6，最优选约 5.5。缓冲剂在液体制剂中的浓度为例如约 0.01-50 mg/m、约 0.1-50 mg/ml、约 0.2-10 mg/ml、约 0.5-2.5 mg/ml、约 1.0-2.0 mg/ml 或约 1.5 mg/ml。优选地，缓冲剂选自组氨酸、谷氨酸盐、磷酸盐、乙酸

30 盐、柠檬酸盐和三羟甲基氨基甲烷。

如文中所用，“减粘剂”是指能够降低抗 PCSK-9 抗体液体制剂的粘度的物质。减粘剂在液体制剂中的浓度为例如约 10 mmol/L-1000 mmol/L、约 20 mmol/L-500 mmol/L、约 50 mmol/L-300 mmol/L 或约 50 mmol/L-200 mmol/L。优选地，减粘剂选自：糖醇、精氨酸、精氨酸盐、硫酸铵、硫氰酸钠、硫氰酸铵、硫酸铵、氯化铵、氯化钙、氯化锌、乙酸钠和其组合。更优选地，减粘剂是山梨醇，或者减粘剂是山梨醇与精氨酸或精氨酸盐(优选精氨酸盐)的组合。

35 优选地，山梨醇在液体制剂中的浓度为约 1%-6% (w/v)；精氨酸或精氨酸盐(优选精氨酸盐)在液体制剂中的浓度为约 50mmol/L~180mmol/L，优选约 70mmol/L~150 mmol/L，更优选约 90 mmol/L。

如文中所述，“表面活性剂”是指加入少量后，能使溶液体系的界面状态发生明显变化的物质。表面活性剂在液体制剂中的浓度为例如约 0.01-5 mg/ml，约 0.05-1 mg/ml 或约 0.1-0.5 mg/ml，更优选为约 0.3 mg/ml。优选地，表面活性剂是非离子型表面活性剂，例如普洛尼克(pluronic)、聚山梨醇酯-80、聚山梨醇酯-60、聚山梨醇酯-40 或聚山梨醇酯-20 等。

如文中所用，术语“溶媒”是指用于溶解或悬浮活性成分和非活性成分以形成液体制剂的液体。可用于本发明的溶媒包括但不限于注射用水、注射用有机溶剂包括但不限于注射用

油、乙醇、丙二醇等，或其组合。

如文中所用，术语“糖醇”糖醇是单糖经催化氢化等还原反应而得到的相应多元醇。糖醇包括但不限于山梨糖醇、甘露糖醇、赤藓糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、木糖醇等。

术语“约”在与数字数值联合使用时意为涵盖具有比指定数字数值小 10%的下限和比指定数字数值大 10%的上限的范围内的数字数值。

如文中所用，“w/v”是指“重量/体积”，例如“1%w/v”即为 $1 \text{ g}/100 \text{ ml} = 0.01 \text{ g/ml} = 10 \text{ mg/ml}$ 。

在文中“施用”和“给药”可互换使用，但文中另有明确说明除外。

在文中成套药物包装盒也可称为成套药盒。

以下结合实施例进一步说明本发明，下列实施例不应被理解为对本发明的限制。

缩写的含义：

SEC-HPLC：体积排阻高效液相色谱

CE-SDS：十二烷基硫酸钠毛细管凝胶电泳

CZE：毛细管区带电泳

SC：皮下注射

IV：静脉内注射

PK：药代动力学

LDL-C：低密度脂蛋白胆固醇

实施例 1：抗 PCSK9 抗体液体制剂(制剂 A，即试验药)的制备

根据处方 A 配制浓度为 150mg/ml 的抗 PCSK9 液体制剂

处方 A

抗 PCSK9 抗体	150mg/ml
------------	----------

(ADI-10087)	
-------------	--

组氨酸	1.5 g/L
-----	---------

精氨酸	90 mmol/L
-----	-----------

山梨醇	3%(w/v)
-----	---------

聚山梨酯 80	0.3 g/L
---------	---------

pH	5.5
----	-----

将根据专利申请 PCT/CN2017/118050 获得的抗 PCSK9 抗体(ADI-10087)加入到超滤离心管中(截流分子量 30KD)，离心浓缩后加入无聚山梨酯 80 和抗 PCSK9 抗体的处方 A 水溶液(1.5 g/L 组氨酸，90 mmol/L 精氨酸，3%山梨醇，pH 5.5)稀释后继续浓缩，如此反复，直至置换完全。将置换后的蛋白调整到 150mg/ml 后加入 1/100 体积的聚山梨酯 80 水溶液(30 g/L)，使聚山梨酯 80 的终浓度为 0.3 g/L。将此半成品无菌过滤后分装至西林瓶中，加盖橡胶塞和铝塑盖，获得成品。

实施例 2：抗 PCSK9 抗体液体制剂的对比例(制剂 B)的制备

对比例：根据处方 B 配制浓度为 150mg/ml 的抗 PCSK9 液体制剂

处方 B

抗 PCSK9 抗体	150mg/ml
------------	----------

(ADI-10087)	
-------------	--

组氨酸	1.5 g/L
-----	---------

精氨酸	180 mmol/L
-----	------------

聚山梨酯 80 0.3 g/L
pH 5.5

将根据专利申请 PCT/CN2017/118050 获得的抗 PCSK9 抗体 (ADI-10087) 加入到超滤离心管中 (截流分子量 30KD), 离心浓缩后加入无聚山梨酯 80 和抗 PCSK9 抗体的处方 B 水溶液 (1.5 g/L 组氨酸, 180 mmol/L 精氨酸, pH 5.5) 稀释后继续浓缩, 如此反复, 直至置换完全。将置换后的蛋白调整到 150mg/ml 后加入 1/100 体积的聚山梨酯 80 水溶液 (30 g/L), 使聚山梨酯 80 的终浓度为 0.3 g/L。将此半成品无菌过滤后分装至西林瓶中, 加盖橡胶塞和铝塑盖, 获得成品。

实施例 3: 抗 PCSK9 抗体液体制剂的粘度测定

采用锥板粘度计 (Brookfield, CAP1000+/2000+, 详情见 http://www.sinoinstrument.com/product_details-4-83-401-60.html) 在室温 20~25°C 下进行粘度测定。选择转子和速度 (转子: cp-40; 转速: 25rpm)。将转子连接到连接螺母上, 调节位置, 加入样品。按下 Run 按键, 进行样品粘度测定。根据上面实验测得制剂 A 的粘度为 5.2 厘泊, 制剂 B 的粘度为 6.0 厘泊。令人惊奇的是, 制剂 A 的粘度明显小于制剂 B 的粘度, 表明精氨酸和山梨醇的组合更有利于降低高浓度抗体制剂的粘度。

实施例 4: 抗 PCSK9 抗体液体制剂的蛋白纯度变化

为了考查制剂 A 和制剂 B 的稳定性, 进行了加速稳定性实验。将分装至西林瓶中并加塞轧盖后的制剂 A 和制剂 B 成品置于在 40°C ± 2°C/60%RH ± 5%RH 条件下进行加速稳定性考察, 考察时间持续 2 个月。期间通过下述的 SEC-HPLC 法、非还原型 CE-SDS 法测定蛋白纯度的变化。

SEC-HPLC 法:

将样品浓度稀释至 2mg/ml, 用亲水硅胶体积排阻色谱柱 TSKG 3000 SWxl, 蛋白进样量 100 µg, 流动相为 20 mmol/L Na₂HPO₄•12 H₂O、150 mmol/L NaCl、200 mmol/L 精氨酸, pH 6.8, 流速 0.5 ml/分钟, 检测波长 280 nm, 柱温 25°C, 用面积归一化法计算。

CE-SDS 法:

取样品约 100 µg, 加 pH7.0 样品缓冲液使总体积为 95µl, 还原样品加 5 µl β-巯基乙醇, 非还原样品加 5 µl 250 mmol/L NEM, 混合后 70°C 加热 10 分钟, 进行检测。

在 SEC-HPLC 法中, 基于 SEC 主峰下降百分比, 测得蛋白纯度变化, 制剂 A 的蛋白纯度在 1 个月时下降 2.6%, 在 2 个月时下降 3.7%。而制剂 B 的蛋白纯度在 1 个月时下降 4.1%, 在 2 个月时下降 7.0%。基于非还原 CE-SDS 下降百分比, 测得蛋白纯度变化, 制剂 A 的蛋白纯度在 2 周时下降 0.4%, 在 1 个月时下降 2.0%。而制剂 B 的蛋白纯度在 2 周时下降 2.5%, 在 1 个月时下降 7.3%。可见, 制剂 A 的纯度变化速率显著慢于制剂 B。相对于制剂 B, 制剂 A 具有更高的稳定性。

实施例 5: 抗 PCSK9 抗体液体制剂的电荷异质性测定

在不同时间点, 从实施例 4 中进行加速稳定性实验的制剂 A 和制剂 B 取样, 进行电荷异质性检测。采用 Beckman Uncoated Capillary 毛细管, Beckman PA800 plus 毛细管电泳仪, 取样电压为 0.5 psi, 取样时间 10.0 s, 分离电压 30 kV, 分析时间 30 min。用面积归一化法计算酸性组分、碱性组分与主峰的峰面积占总峰面积的百分比。制剂 A 在 2 周时 CZE 主峰下降 0%, 在 1 个月时下降 2.9%。而制剂 B 在 2 周时 CZE 主峰下降 2.0%, 在 1 个月时下降 7.6%。

可以看到制剂 A 的电荷异质性变化速率显著慢于制剂 B, 可见精氨酸和山梨醇的组合使得制剂更少发生电荷异质性变化。

实施例 6: 安慰剂(对照药)的制备

根据处方 C 以水作为溶剂配制不含抗体的安慰剂。

处方 C

组氨酸	1.5 g/L
精氨酸	90 mmol/L
山梨醇	3% (w/v)
聚山梨酯 80	0.3 g/L
pH	5.5

实施例 7: ADI-10087 的药代动力学血样检测分析方法

(1) ADI-10087 总 PK 方法: ADI-10087 总 PK 是采用定量的电化学发光法检测人血清中总 ADI-10087。将 ADI-10087 的中和抗体包被在 MSD 板子上, 然后加入经酸化处理后进行中和的含 ADI-10087 的血清样品, 再用钆标记的抗 ADI-10087 的多克隆抗体进行检测。钆标记的抗 ADI-10087 的多克隆抗体与药物和板子上包被的 ADI-10087 的中和抗体形成免疫复合物。适当孵育后洗涤, 加入 Read Buffer, 将板置于 MSD 读板仪中, 触发电催化化学发光反应产生发光信号。化学发光信号的强弱与样品中 ADI-10087 含量呈正比。

(2) ADI-10087 游离 PK 方法: 基于 ELISA 原理, 将 ADI-10087 的中和抗体包被结合在酶标板上, 然后加入血清样品, 血清样品中的 ADI-10087 会与包被抗原特异性结合, 再加入生物素标记的 ADI-10087 中和抗体进行抓捕, 最后加入 SA-HRP 进行检测。再加入 HRP 酶的相应 TMB 底物, 其所呈现的颜色深浅与游离 ADI-10087 含量成正比, 通过用酶标仪 OD450nm/620nm 的值, 可用来检测临床血清中 ADI-10087 单克隆抗体的浓度。

实施例 8: ADI-10087 PCSK-9 检测方法

基于 ELISA 原理, 将 ADI-10087 包被结合在酶标板上, 然后加入血清样品, 血清样品中的 PCSK-9 会与包被的 ADI-10087 特异性结合, 再加入羊抗人的 PCSK-9 多克隆抗体, 最后加入 goat IgG HRP-conjugate Antibody 进行检测。再加入 HRP 酶的相应 TMB 底物, 其所呈现的颜色深浅与 PCSK-9 含量成正比, 通过用酶标仪 OD450nm/620nm 的值, 可用来检测临床血清中 PCSK-9 的浓度。

实施例 9: ADI-10087 抗药抗体检测方法

采用半定量的电化学发光法检测人血清中 ADI-10087 抗药抗体(ADA)。人血清样本经酸解后, 游离的 ADA 被包被在酶标板上的 ADI-10087 抓捕, 再次酸解, 洗脱后的 ADA 与生物素标记及钆标记 ADI-10087 混合孵育形成免疫复合物, 免疫复合物与包被有链霉亲和素的 MSD 板结合。适当孵育后洗涤, 加入 Read Buffer, 将板置于 MSD 读板仪中, 触发电催化化学发光反应产生发光信号。化学发光信号的强弱与样品中 ADA 含量正相关。

实施例 10: ADI-10087 中和抗体检测方法:

被确定为 ADA 阳性的样本, 采用电化学发光法确定是否为 ADI-10087 中和抗体(NAb)。人血清样本经酸解后, 游离的 NAb 被包被在酶标板上的 ADI-10087 抓捕, 再次酸解, 洗脱后的 NAb 与钆标记 ADI-10087 混合孵育形成免疫复合物, 然后再一起加入到预先包被的生物素标记的 PCSK-9 的链霉亲和素的 MSD 板中进行孵育。分析物中游离的钆标记药物与板上预先包被的生物素标记的 PCSK-9 结合。适当孵育后洗涤, 加入 Read Buffer, 将板置于 MSD 读板仪中, 触发电催化化学发光反应产生发光信号。化学发光信号的强弱与样品中 NAb 的含量负相关。

实施例 11：评估中国健康成年人类受试者接受 ADI-10087 单次给药的安全性和耐受性

试验的设计：

5 总计 58 例受试者将被分配到 8 个剂量递增队列 (25 mg SC, 75 mg SC, 75 mg IV, 150 mg SC, 300 mg SC, 450 mg SC, 450 mg IV, 600 mg SC)。25 mg SC 队列包括 2 例受试者，将接受 ADI-10087 的单次给药，完成这 2 例受试者的 14 天的安全评估后，进入后续剂量队列的临床试验。随后的 75 mg SC 至 600 mg SC 队列中，每个队列包括 8 名受试者，其中 75mg SC 队列的前 2 例受试者将开放标签接受 ADI-10087 75 mg SC，后 6 例受试者将按 2:1 的比例随机接受 ADI-10087 (N=4) 或安慰剂 (N=2)；其他 6 个队列的受试者将按 3:1 的比例随机接受 ADI-10087 (N=6) 或安慰剂 (N=2) 的单次给药。

25 mg SC 队列的 2 例受试者完成给药后 14 天的安全评估后，可进入 75 mg SC 队列的入组。75 mg SC 队列的所有受试者完成给药后 14 天的安全评估后，可进行 150 mg SC 队列的入组。150 mg SC 队列完成入组后可进入 75 mg IV 队列的入组。150 mg SC 队列的所有受试者完成 14 天的安全评估后，可进行 300 mg SC 队列的入组。300 mg SC 队列所有受试者完成给药后 14 天的安全评估后，可进行 450 mg SC 队列的入组。450 mg SC 队列的所有受试者完成给药后 14 天的安全评估后，可进行 600 mg SC 队列的入组。600 mg SC 队列完成入组后，可进入 450 mg IV 队列的入组。

20 对每个受试者将随访至研究第 85 天 (12 周)，评估用药的安全性、耐受性、PK/PD 及免疫原性。

受试者的人口学特征

安全性分析集 (SS) 集中，58 例受试者男性占 44 例 (75.9%)，平均年龄为 30.1 ± 5.74 岁，其中最小年龄 19 岁，最大年龄 44 岁；平均体重为 67.20 ± 9.419 kg，其中最小体重 50.9 kg，最大体重为 92.4 kg；平均身高为 169.12 ± 7.468 cm，最低的身高为 151.0 cm，最高的身高为 186.0 cm；平均 BMI 为 23.44 ± 2.309 kg/m²，其中最小 BMI 19.3 kg/m²，最大 BMI 27.4 kg/m²。57 例受试者为汉族 (98.3%)。ADI-10087 组 44 例受试者中，43 例 (97.7%) 受试者为汉族；平均年龄为 30.3 ± 5.71 岁；平均身高为 168.36 ± 6.992 cm，平均体重为 66.17 ± 8.289 kg，平均 BMI 为 23.31 ± 2.175 kg/m²。安慰剂组 14 例受试者中，14 例 (100%) 受试者为汉族，平均年龄为 29.8 ± 6.03 岁，平均身高为 171.50 ± 8.716 cm，平均体重为 70.43 ± 12.122 kg，平均 BMI 为 23.82 ± 2.741 kg/m²。受试者人口统计学特征均符合本研究的入选标准，两组受试者的人口统计学特征相似。

研究中所用的药物

35 研究中所用的试验药为实施例 1 所述制备的制剂；研究中所用的对照药为实施例 6 所述制备的安慰剂。

给药方法

队列 1~8 的受试者分别单次给予 25 mg SC、75 mg SC、75 mg IV、150 mg SC、300 mg

SC、450 mg SC、450 mg IV 或 600 mg SC 的 ADI-10087 或安慰剂。

皮下(SC)给药方法: 受试者接受腹部皮下注射试验药或安慰剂。研究者根据试验药物实际注射容积在单次给药时进行腹部注射, 每针皮下量为 1ml。25mg 组和 75mg 组用 1ml 针筒吸取药液(针头用 2ml), 排尽空气后换 1ml 针头注射。150mg 及以上组用 2ml 针筒吸取药液(针头 2ml), 排尽空气后换 1ml 针头注射。

静脉(IV)给药方法:

(1) 75 mg IV 组: 将 150mg 研究药物注射液(1ml)抽出, 加入标定后的 100ml 0.9%氯化钠无菌生理盐水静脉输注袋。静脉给药体积为 50ml, 滴注时间 30 分钟。

(2) 450 mg IV 组: 将 900mg 研究药物注射液(1ml)抽出, 加入标定后的 200ml 0.9%氯化钠无菌生理盐水静脉输注袋。静脉滴注体积为 100ml, 滴注时间 1 小时。

不良事件

记录上述研究期间出现的不良事件, 采用 MedDRA(21.0 版)对不良事件(AE)进行编码, 并将采用系统器官分类(SOC)和首选术语(PT)进行报告。药物相关不良事件包括“肯定相关”、“可能相关”和“无法判断”三类。若相关性数据缺失也将定义为药物相关不良事件。

根据 SOC 和 SOC 中的 PT 对 AE 按治疗组进行汇总和分类。在 SOC 之间和 SOC 内, 都将按照发生率的降序显示结果。在 AE 汇总中, AE 的发生率指的是报告 AE 的受试者人数, 而非报告的 AE 数。在计算受试者的人数和百分比时, 如果同样的 AE 在同一名受试者中多次出现, 则该 AE 只计算一次。

筛选期 AE 为第一次研究用药前发生的 AE。治疗期不良事件(TEAE)定义为从第一次研究用药到最后一次研究用药后的 12 周内(包括第 85 天)加重或发生的 AE。若因时间变量的缺失无法判断 AE 的发生阶段, 则都定义为 TEAE。

药物相关治疗期不良事件-SOC 和 PT 分类汇总见表 1。

表 1 按 SOC 和 PT 总结药物相关 TEAE-安全性分析集

系统器官 分类 (SOC)	25 mg SC (N=2)	75 mg SC (N=6)	75 mg IV (N=6)	150 mg SC (N=6)	300 mg SC (N=6)	450 mg SC (N=6)	450 mg IV (N=6)	600 mg SC (N=6)	试验药 合计 (N=44)	安慰剂 合计 (N=14)	合计 (N=58)
至少发生 一次药物 相关治疗 期不良事 件	1 (50.0%)	0	4 (66.7%)	3 (50.0%)	2 (33.3%)	0	3 (50.0%)	4 (66.7%)	17 (38.6%)	7 (50.0%)	24 (41.4%)
感染及侵 染类疾病	0	0	2 (33.3%)	2 (33.3%)	0	0	2 (33.3%)	3 (50.0%)	9 (20.5%)	2 (14.3%)	11 (19.0%)
上呼吸 道感染	0	0	2 (33.3%)	2 (33.3%)	0	0	2 (33.3%)	3 (50.0%)	9 (20.5%)	2 (14.3%)	11 (19.0%)

系统器官 分类 (SOC)	25 mg SC (N=2)	75 mg SC (N=6)	75 mg IV (N=6)	150 mg SC (N=6)	300 mg SC (N=6)	450 mg SC (N=6)	450 mg IV (N=6)	600 mg SC (N=6)	试验药 合计 (N=44)	安慰剂 合计 (N=14)	合计 (N=58)
术语 (PT)											
各类检查	1 (50.0%)	0	2 (33.3%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)	0	0	1 (16.7%)	6 (13.6%)	4 (28.6%)	10 (17.2%)
血肌酸 磷酸激酶 升高	0	0	1 (16.7%)	0	1 (16.7%)	0	0	1 (16.7%)	3 (6.8%)	0	3 (5.2%)
丙氨酸 氨基转移 酶升高	1 (50.0%)	0	0	0	0	0	0	0	1 (2.3%)	1 (7.1%)	2 (3.4%)
γ-谷 氨酰转移 酶升高	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	0	0	1 (2.3%)	1 (7.1%)	2 (3.4%)
天门冬 氨酸氨基 转移酶升 高	1 (50.0%)	0	0	0	0	0	0	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
血葡萄 糖升高	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (7.1%)	1 (1.7%)
尿白细 胞阳性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (7.1%)	1 (1.7%)
尿蛋白 检出	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
血液及淋 巴系统疾 病	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	1 (2.3%)	1 (7.1%)	2 (3.4%)
贫血	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	1 (2.3%)	1 (7.1%)	2 (3.4%)
各种肌肉 骨骼及结 缔组织疾 病	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	0	0	1 (2.3%)	1 (7.1%)	2 (3.4%)
骨痛	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	0	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
骨骼肌 肉疼痛	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (7.1%)	1 (1.7%)
皮肤及皮 下组织类 疾病	0	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	1 (2.3%)	1 (7.1%)	2 (3.4%)
过敏性 皮炎	0	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
丘疹	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (7.1%)	1 (1.7%)

系统器官 分类 (SOC)	25 mg SC (N=2)	75 mg SC (N=6)	75 mg IV (N=6)	150 mg SC (N=6)	300 mg SC (N=6)	450 mg SC (N=6)	450 mg IV (N=6)	600 mg SC (N=6)	试验药 合计 (N=44)	安慰剂 合计 (N=14)	合计 (N=58)
胃肠道系统 疾病	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
牙龈疾 病	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
口腔溃疡	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
全身性疾 病及给药 部位各种 反应	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
注射部 位红斑	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
呼吸系统、 胸及纵膈 疾病	1 (50.0%)	0	0	0	0	0	0	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)
咳嗽	1 (50.0%)	0	0	0	0	0	0	0	1 (2.3%)	0	1 (1.7%)

ADI-10087 组治疗期不良事件发生率为 52.3%，与药物相关的治疗期不良事件发生率为 38.6%；安慰剂组治疗期不良事件发生率为 57.1%，与药物相关的治疗期不良事件发生率为 50.0%。ADI-10087 和安慰剂组至少发生一次特别关注的不良事件(肝脏事件、肌肉事件、过敏反应、和注射部位反应)分别为 13.6%和 28.6%，未发生严重不良事件、与研究药物相关的严重不良事件、导致退出研究的不良事件和导致死亡的不良事件。ADI-10087 组最常见的药物相关的治疗期不良事件为上呼吸道感染(20.5%)、血肌酸磷酸激酶升高(6.8%)；安慰剂组最常见的药物相关治疗期不良事件为上呼吸道感染(14.3%)。

ADI-10087 组的与药物相关的不良事件皆为轻至中度，不需要特别处理或经过纠正治疗后好转。特别是在高达 450 mg 剂量的 SC 组没有不良事件发生。

免疫原性的评估

免疫原性评估基于免疫原性分析集(IS)，评价指标为抗 ADI-10087 抗体(ADA)及中和抗体(NAb)。汇总每个剂量组产生抗 ADI-10087 抗体及中和抗体(NAb)的受试者比例，并对于用药后 ADI-10087 抗体(ADA)/中性抗体(NAb)为阳性的受试者进行列表。

免疫原性测定血清中抗药抗体(ADA)及中和抗体(NAb)的产生情况。① 抗药抗体和中和抗体检测的采样时间点：给药前 1 小时、给药后 336 小时(第 15 天)、672 小时(第 29 天)、1344 小时(第 57 天)、2016 小时(85 天)

免疫原性采血点：给药前(1h 内)、给药后 336 h(±12h)(第 15 天)、672 h(±24h)(第 29 天)、1344 h(±48h)(第 57 天)、2016 h(±48h)(第 85 天)。

除基线时给药前安慰剂组有 1 例(1.7%)受试者抗 ADI-10087 抗体(ADA)为阳性外,用药后无受试者 ADA 检测为阳性。对该例受试者进行中和抗体(Nab)的检测,结果呈阴性。因此,给药后 ADI-10087 组及安慰剂组无 ADA 及 Nab 呈阳性,具有良好的安全性。

实施例 12: 评估中国健康成年人类受试者接受 ADI-10087 单次给药的药代动力学

在上面实施例 11 所述的研究中,在以下时间点采集 PK 血样:

给药前 1 小时、给药后 4 小时、注射给药后 24 小时(第 2 天)、48 小时(第 3 天)、72 小时(第 4 天)、96 小时(第 5 天)、144 小时(第 7 天)、168 小时(第 8 天)、240 小时(第 11 天)、336 小时(第 15 天)、504 小时(第 22 天)、672 小时(第 29 天)、840 小时(第 36 天)、1008 小时(第 43 天)、1344 小时(第 57 天)、1680 小时(第 71 天)、2016 小时(第 85 天)。

使用 WinNonlin Professional 软件采用非房室模型分析法(NCA),按实际采血时间计算总 ADI-10087 和游离 ADI-10087 的药代动力学参数,包括: T_{max} 、 C_{max} 、AUC、V、 $t_{1/2}$ 、CL,以全面反映药物在人体内分布和消除的特点,主要参数见下面的表 2 和 3。

表2健康受试者给予ADI-110087不同剂量后总ADI-110087 PK参数汇总表^a

剂量组	C _{max} (μg/mL)	T _{max} (h)	AUC _{0-8h} (μg·day/mL)	AUC _{0-8h} % ^b	AUC _{0-8h} (μg·day/mL)	λ _z (1/h)	CL(F) (mL/h)	V _d (F) (mL)	t _{1/2} (day)	V _s ^c (mL)
25mg SC ^b (n=2)	2.25	72.0 (72.0, 72.0)	25.2	3.99	26.2	0.006	40.2	7380.3	5.24	
75mg IV (n=6)	26.7±3.24	4.00 (0.500, 4.00)	185.0±40.5	0.433±0.213	185.8±40.4	0.007±0.001	17.3±2.85	2600.8±540.8	4.32±0.452	2960.3±299.0
75mg SC (n=6)	12.1% 7.59±1.99	119.9 (72.0, 167.8)	21.9% 106.7±23.7	49.2% 1.15±0.385	21.7% 107.9±23.9	7.75% 0.006±0.001	16.4% 30.2±6.81	20.8% 5298.7±1728.1	10.5% 5.01±0.608	10.1% 5.01±0.608
150mg SC (n=6)	17.9±3.18	96.0 (48.0, 144.9)	22.2% 274.4±84.4	33.5% 0.540±0.210	22.2% 275.9±84.8	12.9% 0.006±0.001	22.5% 24.0±5.11	32.6% 4159.2±677.5	12.2% 5.14±0.822	
300mg SC (n=6)	17.8% 29.1±11.6	120.1 (72.0, 335.4)	30.7% 661.2±227.2	38.9% 0.197±0.164	30.7% 662.3±226.9	18.2% 0.005±0.001	21.3% 21.4±9.30	16.3% 4034.6±1365.5	16.0% 5.64±1.06	
450mg IV (n=6) ^d	123.5±15.7	4.00 (4.00, 4.00)	33.4% 2068.3±689.8	0.175±0.205	33.6% 2073.1±696.4	22.6% 0.005±0.000	43.4% 9.81±2.95	33.8% 2138.2±568.7	18.8% 6.43±0.917	4306.8±731.1
450mg SC (n=6)	12.7% 48.6±14.0	143.6 (72.0, 168.1)	11.9% 1147.8±136.6	117.2% 0.126±0.041	11.9% 1149.3±136.8	9.32% 0.005±0.001	30.1% 16.5±2.19	26.6% 3499.2±886.8	14.3% 6.06±0.942	17.0% 6.06±0.942
600mg SC (n=6)	28.8% 64.9±15.9	96.0 (96.0, 337.9)	27.2% 2068.8±561.9	32.7% 0.468±0.449	27.2% 2079.8±569.9	15.6% 0.004±0.001	13.3% 13.0±4.57	25.3% 3223.9±1094.4	15.6% 7.22±1.01	
	24.4% (96.0, 337.9)			95.9% (96.0, 337.9)	27.4% (96.0, 337.9)	18.1% (96.0, 337.9)	35.0% (96.0, 337.9)	33.9% (96.0, 337.9)	14.0% (96.0, 337.9)	

C_{max}: 峰浓度; T_{max}: 达峰时间; AUC_{0-8h}: 从0时至最后可测浓度时间点的药-时曲线下面积; AUC_{0-8h}^{95%}: 外推的药-时曲线下面积百分比; AUC_{0-8h}^{95%}: 外推的药-时曲线下面积百分比; V_d(F): 清除率 (表现清除率); CL(F): 清除率 (表现清除率); t_{1/2}: 消除半衰期; V_s: 稳态分布容积; SC: 皮下给药; IV: 静脉给药。

^a: PK参数以算术均值±标准差 (变异系数%) 表示, T_{max} 除外, 以中位数 (最小值, 最大值) 表示。

^b: 由于样本量较小, 仅报告算术均值。

^c: V_s 仅在静脉给药时报告。

^d: 450 mg IV 组的受试者 01301 给药后 504 h 之后的数据均缺失, 未能计算 AUC_{0-8h} 及与 λ_z 相关的参数 (AUC_{0-8h}, CL, V_d, V_s, t_{1/2})。对于这些参数, n=5。

各剂量组中受试者给予 ADI-10087 后的 ADI-10087 平均总浓度-时间曲线图见图 2, 各剂量组中 ADI-10087 平均游离浓度-时间曲线图见图 1。

药代动力学评估基于药代动力学浓度集(PKCS), PKCS 集纳入 44 例受试者数据进行分析。单次腹部皮下注射 25~600 mg 剂量后, 总 ADI-10087 的平均表观分布容积($V_{z/F}$)约为 3.2~7.4 L, 平均表观清除率(CL/F)约为 13.0~40.2 mL/h, 平均 $t_{1/2}$ 约为 5~7 天; 游离 ADI-10087 的平均 $V_{z/F}$ 约为 4.0~8.6 L, 平均 CL/F 为 17.4~74.6 mL/h, 平均 $t_{1/2}$ 约为 3~7 天。随着剂量的增加, $V_{z/F}$ 和 CL/F 不断降低, $t_{1/2}$ 逐渐延长。

单次腹部皮下注射 25~600 mg ADI-10087 后, 血清中总 ADI-10087 的 T_{max} 约为 3~6 天, 游离 ADI-10087 的 T_{max} 约为 2.5~10 天。表明 ADI-10087 在腹部的吸收需要时间, 当剂量增加时, 需要更长的时间达到吸收峰值。

在单次给予 25~600 mg ADI-10087 剂量范围内, 总 ADI-10087 与游离 ADI-10087 的 C_{max} 、 AUC_{0-last} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的增加比例均大于剂量增加比例, 呈现非线性动力学特征。

单次静脉滴注 75 mg 和 450 mg 剂量后, 总 ADI-10087 的平均 V_z 分别约为 2.6 和 2.1 L, 平均 V_{ss} 分别约为 3.0 和 4.3 L, 平均 CL 分别为 17.3 和 9.81 mL/h, 平均 $t_{1/2}$ 分别约为 4 和 6 天; 游离 ADI-10087 的平均 V_z 分别约为 2.3 和 2.1 L, 平均 V_{ss} 分别约为 2.5 和 3.0 L, 平均 CL 分别为 24.1 和 9.41 mL/h, 平均 $t_{1/2}$ 分别约为 3 和 7 天。同样, 随着剂量的增加, CL 降低, $t_{1/2}$ 延长。在 75~450 mg 剂量范围内, ADI-10087 腹部皮下注射的绝对生物利用度约为 58% (基于总 ADI-10087)。

分别给予健康受试者 75 mg 和 450 mg ADI-10087 腹部皮下注射或静脉滴注后, 总 ADI-10087 和游离 ADI-10087 相应的 $AUC_{0-\infty}$ 几何均值及相应的皮下给药绝对生物利用度估算值参见表 4。

表 4 腹部皮下注射给予 75 mg 与 450 mg ADI-10087 的绝对生物利用度

剂量组	分析物	腹部皮下注射给药 AUC_{0-inf} 几何均值(几何 CV%) ($\mu g \cdot day/mL$) (N = 6)	静脉滴注给药 AUC_{0-inf} 几何均值(几何 CV%) ($\mu g \cdot day/mL$) (N = 5) ^a	皮下给药 绝对生物利 用度 (F)
75 mg	总 ADI-10087	105.7 (22.7%)	182.7 (19.2%)	57.8%
	游离 ADI-10087	44.5 (37.7)	131.7 (19.8%)	33.8%
450 mg	总 ADI-10087	1142.0 (12.6%)	1988.4 (32.6%)	57.5%
	游离 ADI-10087	1027.9 (12.8%)	2090.4 (36.0%)	49.2%

AUC_{0-inf} : 从 0 时推算到无穷大时间点的药-时曲线下面积。

可见,当基于总 ADI-10087 进行评估时,75 mg 和 450 mg 剂量下,健康受试者中皮下给药的绝对生物利用度相似,分别为 57.8%和 57.5%,结果表明在 75-450 mg 剂量范围内,皮下给药的绝对生物利用度基本一致。

当基于游离 ADI-10087 的评估时,75 mg 和 450 mg 剂量下,健康受试者中皮下给药的绝对生物利用度分别为 33.8%和 49.2%。略低于总 ADI-10087 的评估结果。

采用图示法对腹部皮下注射 25~600 mg 剂量组的 PK 参数(C_{max} 、 AUC_{0-last} 和 $AUC_{0-\infty}$)与剂量的相关性进行分析。

健康受试者腹部皮下注射 25~600 mg 剂量后的总 ADI-10087 及游离 ADI-10087 C_{max} 、 AUC_{0-last} 和 AUC_{0-inf} 随剂量变化的散点图分别见图 3-5。结果显示,在 25~600 mg 剂量范围内,总 ADI-10087 与游离 ADI-10087 的 C_{max} 和 AUC 随剂量的增加而增加,但增加比例均大于剂量增加比例,ADI-10087 呈现非线性动力学特征。例如,相对于 25~600 mg 剂量递增的倍数(1 : 3 : 6 : 12 : 18 : 24),总 ADI-10087 的平均 C_{max} 增加比例约为 1 : 3.4 : 8.0 : 13 : 22 : 29,平均 AUC_{0-last} 的增加比例约为 1 : 4.2 : 11 : 26 : 46 : 82。对于游离 ADI-10087,由于浓度较低,25 mg 组未能报告 PK 参数;在 75~600 mg 剂量范围内(递增的倍数为 1 : 2 : 4 : 6 : 8),游离 ADI-10087 的平均 C_{max} 增加比例约为 1 : 2.9 : 5.4 : 10 : 12,平均 AUC_{0-last} 的增加比例约为 1 : 3.9 : 12 : 21 : 34。

只有两个剂量以静脉滴注的方式进行了评估,75 mg 和 450 mg。当静脉滴注的剂量增加 6 倍时,总 ADI-10087 的平均 C_{max} 和 AUC_{0-last} 分别增加 4.6 和 11 倍;游离 ADI-10087 的平均 C_{max} 和 AUC_{0-last} 分别增加 6.1 和 17 倍。

实施例 13: 评估中国健康成年人类受试者接受 ADI-10087 单次给药的药效动力学

在上面实施例 11 所述的研究中,在以下时间点采集血样:给药前 1 小时、给药后 4 小时、注射给药后 24 小时(第 2 天)、48 小时(第 3 天)、72 小时(第 4 天)、96 小时(第 5 天)、144 小时(第 7 天)、168 小时(第 8 天)、240 小时(第 11 天)、336 小时(第 15 天)、504 小时(第 22 天)、672 小时(第 29 天)、840 小时(第 36 天)、1008 小时(第 43 天)、1344 小时(第 57 天)、1680 小时(第 71 天)、2016 小时(第 85 天)。根据本申请公开的方法或本领域众所周知的方法,测定 PCSK-9、LDL-C、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、脂蛋白 a(Lp(a))、极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)、非高密度脂蛋白胆固醇(non-HDL-C)、载脂蛋白 A1(ApoA1)及载脂蛋白 B(ApoB)等的水平,并绘制图表。

(1) 血清游离 PCSK-9 浓度相对基线的变化

中心实验室将按照指定的时间点,采集血样检验血清游离 PCSK-9 浓度。药效动力学评估将基于药效动力学分析集(PDS),分访视对受试者的血清游离 PCSK-9 浓度在各时间点的观测

值和相对基线的变化率(%)进行汇总和列表。基线被定义为给药前的 PCSK-9 浓度观测值。相对基线变化率(%)=100 x (给药后的浓度观测值 - 基线值)/基线值。个体血清游离 PCSK-9 浓度,各剂量组 PCSK-9 浓度平均值,相对基线变化率将按剂量组绘制药物浓度-时间曲线(包含线性浓度图和对数浓度图)。

5 血清游离 PCSK-9 浓度相对基线的变化率见图 6。结果显示:PCSK-9 下降的平均持续时间随着剂量的增大而延长。给药后 24 小时,各组 PCSK-9 最大下降平均幅度为 90%-100%;给药后 2 周,ADI-10087 75mg SC 组,剂量 150mg 及以上组 PCSK-9 平均下降 >70%;给药后 4 周,ADI-10087 剂量 300mg 及以上 SC 和 IV 组 PCSK-9 平均下降 >60%;给药后 6 周,ADI-10087 450mg SC, 450mg IV 以及 600mgSC 组 PCSK-9 平均下降 >80%;给药后 8 周,ADI-10087 600mgSC 组
10 PCSK-9 平均下降 >50%。

(2) LDL-C 相对基线变化值的最小二乘均数

在各评估时间点,每个试验药剂量组血清 LDL-C 相对基线变化与安慰剂组比较采用重复测量混合效应模型(MMRM)分析,分析结果包括变化值的最小二乘均值、组间差异均值及 95% 置信区间和 P 值。从模型分析结果看,用药后一个月内,大部分试验药剂量组与安慰剂组比
15 较的 P 值<0.05。并且随着时间推移,低剂量组与安慰剂组比较的 P 值变为>0.05。到“第 29 天”时,150mg 及以上剂量组与安慰剂组比较的 P 值<0.05;到“第 57 天”,只有 450mg 及以上剂量组与安慰剂组比较的 P 值<0.05;到“第 71 天”只有 600mg 剂量组与安慰剂组比较的 P 值<0.05;到“第 85 天”,所有试验药剂量组与安慰剂组比较, P 值皆>0.05。描绘各剂量组在每个疗效评估时间点的 LDL-C 相对基线变化值的最小二乘均数见图 7。

20 (3) LDL-C 的浓度平均相对基线变化的变化率

LDL-C 的浓度平均相对基线变化的变化率见图 8。结果显示:血清 LDL-C 下降的持续时间与 ADI-10087 呈剂量依赖性。LDL-C 下降接近最大值最早出现在第 5 天。第 15 天,各剂量组皆接近最大下降幅度。ADI-10087 皮下注射各组 LDL-C 最大下降平均幅度位于 51.7%-72.1% 之间。给药后 7 天,ADI-10087 75mg 组和 150mg 组 LDL-C 平均下降>50%,75mg 组 LDL-C 平均
25 下降>50%维持至 15 天,150mg 组可维持至 22 天。给药后 11 天,ADI-10087 剂量 300mg 及以上组 LDL-C 平均下降>50%,且可持续至至少第 43 天(第 6 周)。给药后 57 天(8 周),ADI-10087 600mg SC 组 LDL-C 平均下降>50%。给药后 71 天(10 周),ADI-10087 600mg SC 组 LDL-C 平均下降>30%。

以 Evolocumab 作为对照进行比较,发现相同剂量时,ADI-10087 的 LDL-C 下降最大幅
30 度与持续时间 > Evolocumab。

(4) LDL-C 水平曲线下面积

LDL-C 浓度平均值-时间图见图 9。

LDL-C 水平的曲线下面积采用梯形法计算。提前退出受试者的 LDL-C 曲线下面积同样采用梯形法根据退出前的浓度数据累计曲线下面积。LDL-C 水平曲线下面积试验药组合计的几何均值是 3522.433, 几何变异系数为 44.3; 安慰剂组合计几何均值是 5609.877, 几何变异系数为 20.1。试验药组中 75mg IV 的曲线下面积最大, 几何均值是 4709.056, 几何变异系数为 18.0; 450mg IV 的曲线下面积最小, 几何均值是 1978.572, 几何变异系数为 99.0。

(5) 总胆固醇(TC)的浓度相对基线的变化率

总胆固醇(TC)的浓度相对基线的变化率见图 10。结果显示: 总胆固醇的平均下降持续时间随着剂量的增大而延长, ADI-10087 75 mg 及以上剂量组, 总胆固醇最大下降平均幅度位于 37.9%-48.6%之间, 给药后 11 天, 接近最大降幅。

(6) 载脂蛋白 B(ApoB)的浓度相对基线的变化率

载脂蛋白 B(ApoB)的浓度相对基线的变化率见图 11。结果显示: ApoB 下降的持续时间随着剂量的增大而延长, ADI-10087 剂量 75 mg 及以上剂量组总胆固醇的最大下降平均幅度位于 52.1%-62.8%之间, 给药后 11 天, 接近最大降幅。

(7) 非高密度脂蛋白胆固醇(Non-HDL-C)的浓度相对基线的变化率

非高密度脂蛋白胆固醇(Non-HDL-C)的浓度相对基线的变化率见图 12。结果显示: Non-HDL-C 下降的持续时间随着剂量的增大而延长, ADI-10087 75 mg 及以上剂量组, 总胆固醇的最大下降平均幅度位于 56.8%-69.7%之间, 给药后 11 天, 接近最大降幅。

(8) 脂蛋白 a(LP(a))的平均浓度相对基线的变化率

脂蛋白 a(LP(a))的平均浓度相对基线的变化率见图 13。给药后 7 天, ADI-10087 各剂量组 Lp(a)均有下降, 各组最大下降平均幅度位于 24.9%-62.3%之间。

实施例 14: 评估 ADI-10087 多剂量重复给药在中国高胆固醇血症人群中的药代动力学

1. 研究人群的选择

入选的受试者必须同时符合下列所有标准:

- (1) 提供签名并注明日期的知情同意书。
- (2) 筛选时年龄 ≥ 18 , 且 ≤ 70 周岁的男性或女性。
- (3) BMI $> 18\text{kg/m}^2$, 且 $< 30\text{kg/m}^2$
- (4) 诊断为高脂血症, 并服用中等强度及以上剂量稳定的他汀类治疗至少 4 周 (具体请参考中国成人血脂异常防治指南 2016)
- (5) 筛选时空腹 LDL-C $\geq 100\text{ mg/dL}$ (2.6 mmol/L), 且 $\leq 220\text{ mg/dL}$ (5.7 mmol/L)。
- (6) 筛选时空腹甘油三酯 $\leq 400\text{ mg}$ (4.5 mmol/L)。和

(7) 受试者表明愿意并配合完成研究中所有步骤和研究干预周期。

2. 试验的设计

总计 60 例符合入选标准的患者，随机地平均分配进入下述不同剂量组，即分别接受：每 2 周 1 次皮下注射 ADI-10087 75 mg 或 140 mg 或安慰剂治疗；或每 4 周 1 次皮下注射 ADI-10087 300 mg 或 420 mg 或安慰剂治疗；或每 6 周 1 次皮下注射 ADI-10087 450 mg 或 600 mg 或安慰剂治疗。各剂量中 ADI-10087 与安慰剂按照 4: 1 随机化。治疗持续 12 周，之后分析结果。

3. 研究中所用的药物

研究中所用的试验药为实施例 1 所述制备的制剂；研究中所用的对照药为实施例 6 所述制备的安慰剂。

4. 给药方法

腹部皮下注射试验药或安慰剂

5. 标本采集和处理

PK/PD (PCSK9) 采血点：

- 75 mg Q2W、140 mg Q2W 给药方案：

第 1 次给药：给药前(1h 内)、给药后 4h(±10 min)、24h(±1h) (第 1 天)、48h(±2h) (第 2 天)、72h(±3h) (第 3 天)、96 h(±4h) (第 4 天)、144 h(±6h) (第 6 天)、168 h(±6h) (第 7 天)、240 h(±12h) (第 10 天)、288 h(±12h) (第 12 天)；

第 2/3/4/5 次给药：给药前(1h 内)；

第 6 次给药：给药前(1h 内)、给药后 4h(±10min)、24h(±1h) (第 1 天)、48h(±2h) (第 2 天)、72h(±3h) (第 3 天)、96 h(±4h) (第 4 天)、144 h(±6h) (第 6 天)、168 h(±6h) (第 7 天)、240 h(±12h) (第 10 天)、288 h(±12h) (第 12 天)、336 h(±12h) (第 14 天)；

如果受试者未能完成研究而提前终止退出研究，将在提前终止访视中采集 PK/PD (PCSK9) 血样；

安全性随访时进行 1 次 PK/PD (PCSK9)。

- 300 mg Q4W, 420 mg Q4W 给药方案：

第 1 次给药：给药前(1h 内)、给药后 4h(±10min)、24h(±1h) (第 1 天)、48h(±2h) (第 2 天)、72h(±3h) (第 3 天)、96 h(±4h) (第 4 天)、144 h(±6h) (第 6 天)、168 h(±6 h) (第 7 天)、240 h(±12 h) (第 10 天)、336 h(±12h) (第 14 天)、504 h(±24 h) (第 21 天)；

第 2 次给药前(1h 内)；

第 3 次给药：给药前(1h 内)、给药后 4h(±10min)、24h(±1h) (第 1 天)、48h(±2h) (第 2 天)、72h(±3h) (第 3 天)、96 h(±4h) (第 4 天)、144 h(±6h) (第 6 天)、168 h(±6h) (第 7 天)、240 h(±12h) (第 10 天)、336 h(±12h) (第 14 天)、504 h(±24h) (第 21 天)、672 h(±24h) (第 28 天)；

如果受试者未能完成研究而提前终止退出研究，将在提前终止访视中采集 PK/PD 血样；
安全性随访时进行 1 次 PK/PD 血样采集。

450 mg Q6W, 600 mg Q6W 给药方案：

第 1 次给药：给药前(1h 内)、给药后 4h(±10min)、24h(±1h) (第 1 天)、48h(±2h) (第
2 天)、72h(±3h) (第 3 天)、96 h(±4h) (第 4 天)、144 h(±6h) (第 6 天)、168 h(±6h) (第
7 天)、240 h(±12h) (第 10 天)、336 h(±12h) (第 14 天)、504 h(±24h) (第 21 天)、672 h(±
24h) (第 28 天)、840 h(±24h) (第 35 天)；

第 2 次给药：给药前(1h 内)、给药后 4h(±10min)、24h(±1h) (第 1 天)、48h(±2h) (第
2 天)、72h(±3h) (第 3 天)、96 h(±4h) (第 4 天)、144h(±6h) (第 6 天)、168 h(±6h) (第 7
天)、240 h(±12h) (第 10 天)、336 h(±12h) (第 14 天)、504 h(±24h) (第 21 天)、672 h(±
24h) (第 28 天)、840 h(±24h) (第 35 天)、1008 h(±48h) (第 42 天)；

600 mg 剂量组在第 2 次给药后 1344 h(±48h) (第 56 天)采集一次 PK/PD 血样。

如果受试者未能完成研究而提前终止退出研究，将在提前终止访视中采集 PK/PD 血样；
安全性随访时进行 1 次 PK/PD 血样采集。

PK/PD (PCSK9) 血样需在中心实验室检测。筛选期血脂在本地实验室检测，从基线期起在
血脂在中心实验室检测。

将采用促凝真空采血管采集 5 mL 全血，分离血清，分装冻存用于 PK/ PD (PCSK9) 分
析。

血脂检测采血参照上述进行。

6. 药代动力学结果

采用 Pkanalix 2019R2 (Lixoft, Antony, France) 软件，使用非房室模型分析法 (NCA)，
按照实际采血时间计算 ADI-10087 游离浓度的药代动力学参数。

高胆固醇血症患者皮下注射多次给予不同剂量 ADI-10087 后，ADI-10087 第一次给药和
稳态给药时各剂量组平均药代动力学参数汇总见表 5 和表 6。

表 5 高胆固醇血症患者第一次皮下注射给予 ADI-10087 后 ADI-10087 平均药代动力学参数

周期	剂量组	受试者 数量	C _{max}		T _{max}		AUC _{0-12h}		AUC _{0-∞}		CL/F		V _{Z/F}	
			ug/mL		h		μg·h/mL		μg·h/mL		L/h		L	
			mean	CV%	median	(min, max)	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%
1st	75mg, Q2W	8	1.80	80.7	70.7	(0, 143)	340	88.9	462	69.8	0.242	65.4	33.4	103
1st	140mg, Q2W	8	8.67	61.3	155	(71.0, 239)	2050	67.2	3060	53.3	0.0791	114	18.8	122
1st	300mg, Q4W	8	22.9	27.2	144	(95.0, 239)	8690	41.5	9740	55.8	0.0368	38.9	6.22	8.67
1st	420mg, Q4W	8	48.2	36.4	143	(142, 239)	20900	33.5	27600	39.9	0.0180	48.2	7.01	33.4
1st	450mg, Q4W	8	42.2	37.2	239	(143, 671)	22500	32.9	24200	39.5	0.0212	37.9	5.14	21.2
1st	600mg, Q4W	8	81.0	38.2	119	(47.2, 240)	36600	43.1	46200	60.5	0.0163	43.8	5.50	23.9

续表 5

周期	剂量组	受试者 数量	t _{1/2}		λ _z		AUC _{0-∞}		Req. adjusted		AUC _{0-∞}	
			h		1/h		μg·h/mL				%	
			mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%
1st	75mg, Q2W	8	88.6	38.6	0.00881	37.3	411	68.9	0.880	20.9	22.0	79.6
1st	140mg, Q2W	8	170	40.3	0.00513	65.4	1970	45.4	0.860	26.7	33.8	49.6
1st	300mg, Q4W	8	139	49.1	0.00575	34.7	8760	40.9	0.949	3.77	7.08	116
1st	420mg, Q4W	8	291	22.4	0.00250	23.3	20800	33.5	0.964	3.17	22.5	25.5
1st	450mg, Q4W	8	196	51.0	0.00431	45.7	22500	35.6	0.970	3.06	5.97	111
1st	600mg, Q4W	8	284	50.7	0.00321	67.3	38700	43.0	0.951	2.81	11.0	95.0

C_{max}: 峰浓度; T_{max}: 达峰时间; AUC_{0-∞}: 从0时至最后一个可测量浓度时间点的药-时曲线下面积; AUC_{0-t}: 从0时至t时间点的药-时曲线下面积; Q2W: 每2周给药一次; Q4W: 每4周给药一次; Req. adjusted: 调整后的要求; AUC_{0-∞}: 从0时至最后一个可测量浓度时间点的药-时曲线下面积; AUC_{0-t}: 从0时至t时间点的药-时曲线下面积; λ_z: 消除速率常数; V_d: 表观分布容积; t_{1/2}: 半衰期。mean: 均值, CV%: 变异系数, median: 中位数, min: 最小值, max: 最大值。

表 6 高胆固醇血症患者稳态皮下注射给予 ADI-10087 后 ADI-10087 平均药代动力学参数

周期	剂量组	受试者 数量	C _{max}		T _{max}		AUC _{0-12h}		AUC _{0-inf}		CL/F		Vz/F	
			ug/mL		h		μg·h/mL		μg·h/mL		L/h		L	
			mean	CV%	median	(min, max)	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%
6th	75mg, Q2W	8	3.44	77.0	95.1	(70.8, 144)	672	105	1200	78.0	0.0910	61.5	12.2	71.7
6th	140mg, Q2W	8	22.2	58.0	95.2	(46.1, 143)	5850	63.1	13300	86.1	0.0564	218	9.54	112
3rd	300mg, Q4W	8	32.0	30.3	143	(94.8, 168)	11800	48.3	14700	75.4	0.0276	49.0	6.14	25.3
3rd	420mg, Q4W	8	64.2	44.4	155	(94.0, 167)	27100	44.0	41000	38.8	0.0124	57.1	6.52	48.9
2nd	450mg, Q6W	8	43.8	37.5	155	(71.9, 336)	23100	37.2	25100	41.5	0.0206	37.1	5.93	26.1
2nd	600mg, Q6W	8	69.6	51.1	154	(95.2, 240)	45200	75.0	47000	74.1	0.0187	61.7	5.13	37.3

续表 6

周期	剂量组	受试者 数量	t _{1/2}		λ z		AUC _{0-∞}		Rsq adjusted		AUC _{0-1008h}	
			h		1/h		μg·h/mL				%	
			mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%	mean	CV%
6th	75mg, Q2W	8	98.6	44.1	0.00828	44.6	994	73.1	0.929	8.42	17.0	67.9
6th	140mg, Q2W	8	345	81.8	0.00381	92.6	5860	63.0	0.908	12.8	43.8	50.9
3rd	300mg, Q4W	8	194	61.7	0.00448	40.9	11800	48.3	0.932	4.73	11.0	122
3rd	420mg, Q4W	8	430	70.9	0.00213	46.2	27100	44.1	0.888	19.4	31.2	57.3
2nd	450mg, Q6W	8	218	38.8	0.00350	28.1	23100	37.0	0.938	6.64	6.59	94.2
2nd	600mg, Q6W	8	227	35.6	0.00344	38.6	40600	63.0	0.960	3.39	3.90	43.2

Q_{max}: 峰浓度; t_{1/2}: 达峰时间; AUC_{0-∞}: 从 0 时至最后一个可测量点及以后时间点的药-时曲线下面积; AUC_{0-1008h}: 从 0 时至 1008 小时药-时曲线下面积; Q2W 组 t 为 33.0h, Q4W 组 t 为 67.2h, Q6W 组 t 为 100.8h; AUC_{0-1008h}: 外推的药-时曲线下面积百分比; AUC_{0-∞}: 从 0 时到最后一个可测量点的药-时曲线下面积; λ z: 消除速率常数; DL/F: 表观清除率; V_d/F: 表观分布容积; t_{1/2}: 消除半衰期, mean 为算术平均值, CV% 为变异系数, median 为中位数, min 为最小值, max 为最大值。

在第 1 次给予 75~600 mg ADI-10087 剂量范围内, ADI-10087 的 C_{max} 、 AUC_{0-inf} 增加比例均大于剂量增加比例, 呈现非线性动力学特征。

第 1 周期和稳态周期 PK 研究, 不同给药间隔下腹部皮下注射 75~600 mg ADI-10087 后, ADI-10087 的中位达峰时间 (T_{max}) 为 70.7~239h (2.9~10 天), 稳态周期给药后, 不同给药间隔下腹部皮下注射 75~600 mg ADI-10087 后, ADI-10087 的中位达峰时间 (T_{max}) 为 95.1~155h (3.96~6.46 天), 结果显示 ADI-10087 在腹部吸收需要时间, 当剂量增加时, 需要更长时间达到吸收峰值。

第 1 周期腹部皮下注射 75~600 mg ADI-10087 后, ADI-10087 的平均 V_z/F 约为 5.14~33.4 L, 平均 CL/F 约为 0.0163~0.242 L/h, 平均 $t_{1/2}$ 约为 88.6~291 h (3.69~12.1 天); 稳态周期腹部皮下注射 75~600 mg ADI-10087 后, ADI-10087 的平均 V_z/F 约为 5.13~12.2 L, 平均 CL/F 约为 0.0124~0.091 L/h, 平均 $t_{1/2}$ 约为 98.6~430 h (4.10~17.9 天)。随着剂量的增加, V_z/F 和 CL/F 不断降低, $t_{1/2}$ 逐渐延长。

2 周一次给药时, 75 mg 和 140 mg 剂量组多次皮下注射给予 ADI-10087 后 336h 浓度 (C_{336h}) 的蓄积比均值分别为 3.44 和 3.83, AUC_{0-336h} 的蓄积比均值分别为 3.20 和 3.64;

4 周一次给药时, 300 mg 和 420 mg 剂量组多次皮下注射给予 ADI-10087 后 672h 浓度 (C_{672h}) 的蓄积比均值分别为 2.03 和 1.47, AUC_{0-672h} 的蓄积比均值分别为 1.34 和 1.28;

6 周一次给药时, 450 mg 和 600 mg 剂量组多次皮下注射给予 ADI-10087 后 1008h 浓度 (C_{1008h}) 的蓄积比均值分别为 1.18 和 0.983, $AUC_{0-1008h}$ 的蓄积比均值分别为 1.02 和 0.986。随着剂量增加, 给药周期间隔延长, ADI-10087 的蓄积比降低, 结果见表 7。

表 7 各给药间隔下皮下输注 ADI-10087 后 ADI-10087 的蓄积比均值 (AR)

剂量组	给药周期	AR_ C_{336h}	AR_ C_{672h}	AR_ C_{1008h}	AR_ AUC_{0-336h}	AR_ AUC_{0-672h}	AR_ $AUC_{0-1008h}$
75mg	Q2W	3.44	-	-	3.20	-	-
140mg	Q2W	3.83	-	-	3.64	-	-
300mg	Q4W	-	2.03	-	-	1.34	-
420mg	Q4W	-	1.47	-	-	1.28	-
450mg	Q6W	-	-	1.18	-	-	1.02
600mg	Q6W	-	-	0.983	-	-	0.986

实施例 15: 评估 ADI-10087 多剂量重复给药在中国高胆固醇血症人群中的药效动力学

研究人员的选择、试验的设计、研究中多用的药物、给药方法及标本采集和处理同实施例 14。

药效动力学结果

药效动力学评估基于药效动力学分析集 (PDS), 观察血清游离 PCSK9 浓度各次给药前相对基线的变化, 分访视对受试者的血清游离 PCSK9 浓度在各时间点的观测值和相对基线的变化

率(%)进行汇总。PDS 集纳入 60 例高胆固醇血症受试者(其中 ADI-10087 组 48 例,安慰剂组 12 例),在不同给药间隔下分别接受重复多次给予 ADI-10087 后血清中的 PCSK9 数据进行分析,PDS 集包括所有接受过至少一次研究药物,并有至少一个用药后有效的检测结果的患者人群。

5 1. 给药后血清游离 PCSK9 浓度相对基线的变化率

给药后血清游离 PCSK9 浓度相对基线的变化率见图 14。结果显示:安慰剂组 PCSK9 水平无明显变化。ADI-10087 组首次给予 ADI-10087 后:在 75~600mg 剂量组 PCSK9 基本上在约 24h 达到最大降幅,且达最大降幅时间在各剂量组中表现一致;首次给予 ADI-10087 后,75mg 剂量组 PCSK9 达到约 78%的最大降幅,140~600mg 剂量组中 PCSK9 最大降幅>90%,剂量越大 PCSK9 降幅越大,直至剂量达到 300 mg 及以上,PCSK9 被完全压制,最大降幅时间之后,PCSK9 开始反弹,剂量越大,反弹幅度越小。连续多次给予 ADI-10087 后,PCSK9 的水平能维持在一定的降幅水平上,对于 2 周给药间隔队列,75mg 剂量组 PCSK9 维持水平与基线相当,而 140mg 剂量组 PCSK9 水平则能维持约 80%的降幅,对于 4 周,6 周给药间隔队列,300~600mg 剂量组 PCSK9 都能维持 80%及以上的降幅。

15

2. 相同给药间隔 LDL-C 较基线变化百分比的比较

2 周给药间隔组:75 mg Q2W 组首次给药后 LDL-C 水平相较于基线出现明显下降,第 2 次给药前的最大降幅约为 51.09%(Day 11),末次给药后 4h~336h 无明显反弹,末次给药后 336h 仍能使 LDL-C 水平相比基线有较大降幅(-61.323%)。140 mg Q2W 组首次给药后 LDL-C 水平同样出现显著下降,第 2 次给药前的最大降幅约为 45.99%(Day 13)。末次给药后 4h~336h 虽然稍有反弹,但幅度较小,LDL-C 水平相较于基线仍有 54.296%~60.991%的降幅。

20

4 周给药间隔组:300 mg Q4W 组和 420 mg Q4W 组首次给药后 LDL-C 水平相较于基线均出现明显下降,D29 均达到第二次给药前的最大降幅,分别为 59.8%和 71.363%,各次给药前 420 mg Q4W 组 LDL-C 降幅均明显优于 300 mg Q4W 组,末次给药后两组均未见明显反弹,末次给药后 672h 450 mg Q4W 组 LDL-C 仍能维持 72.256%降幅(300 mg Q4W 组 60.136%)。

25

6 周给药间隔组:首次给药后,450 mg Q6W 组和 600 mg Q6W 组 LDL-C 水平相比基线均有明显下降,且 600 mg Q6W 下降幅度明显(最大降幅约 71.875%),第二次给药后(即末次给药后)600 mg Q6W LDL-C 下降幅度仍优于 450 mg Q6W,仅在第二次给药后 672h 稍有反弹,但幅度较小(约为 2.9%),第二次给药后 1008h 450 mg Q6W 组和 600 mg Q6W 组 LDL-C 水平相比基线仍有较好的降幅,分别为 62.883%和 56.516%。并且根据实施例 13 研究结果,剂量越大 LDL-C 下降持续时间以及 PCSK9 抑制持续时间越明显,同时观察到 600 mg 给药 8 周后(第二次给药后 1344h)LDL-C 水平相比基线仍有 43.455%的降幅。说明 ADI-10087 能够维持 4-8 周的长间隔给药。各次给药前后 LDL-C 的浓度相对基线变化的变化率见图 15。

30

3.6 周与 12 周、14 周时, LDL-C 水平相对基线的变化率

连续给药 6 周后, 与安慰剂组相比, ADI-10087 各剂量组 LDL-C 较基线均有明显的下降, 分别为: 75 mg Q2W 组: -52.385%; 140 mg Q2W 组: -52.523%; 450 mg Q6W 组: -60.353%; 600 mg Q6W 组: -62.175%, LDL-C 较基线的下降百分比呈剂量依赖性增加, 即剂量越大 LDL-C 平均降幅越明显。

连续给药 12 周后, ADI-10087 各剂量组 LDL-C 较基线的降幅相比给药后 6 周无明显反弹, 与安慰剂组相比, 各剂量组 LDL-C 较基线变化百分比分别为: 75 mg Q2W 组: -58.913%; 140 mg Q2W 组: -51.886%; 300 mg Q4W 组: -57.726%; 420 mg Q4W 组: -69.846%; 450 mg Q6W 组: -60.473%; 600 mg Q6W 组: -54.106%, 其中 420 mg Q4W 组 LDL-C 可达到-72.256%降幅 (安慰剂-2.410%)。

600 mg Q6W 给药 14 周后, 即第二次给药后 8 周 LDL-C 较基线仍有-43.455%降幅 (安慰剂 16.980%)。各次给药前后的 LDL-C 水平相对基线变化值见图 16。

4.6 周、12 周、14 周时 Lp(a) 水平相对基线的变化率(%)分析

连续给药 6 周后, 与安慰剂相比, ADI-10087 各剂量组 Lp(a) 较基线的平均降幅在 -8.720%~-22.436%, 其中 75 mg Q2W 组和 450 mg Q6W 组降低最明显, 分别为 -22.436%和 -21.914%。

连续给药 12 周后, ADI-10087 各剂量组相较于安慰剂组 Lp(a)较基线的平均降幅在 -2.088%~-28.638%, 其中 75 mg Q2W 组和 450 mg Q6W 组降低最明显, 分别为 -28.638%和 -27.362%, 但 600 mg Q6W 组和 420 mg Q4W Lp(a)降低幅度较小, 为 2%~7%降幅。

600 mg Q6W 组连续给药 14 周后 (第二次给药后 8 周), 相较于安慰剂组, Lp(a) 水平较基线下降率可达: -24.520%。各次给药前后 Lp(a) 水平相对基线的变化率见图 17。

5.6 周、12 周、14 周时 ApoB 水平相对基线的变化率(%)分析

连续给药 6 周后, 与安慰剂相比, ApoB 较基线有明显降幅。ADI-10087 各剂量组 ApoB 平均降幅在-57.118%~-61.414%之间, 相同给药间隔, 剂量越大 ApoB 降幅越大。

连续给药 12 周后, ADI-10087 各剂量组相较于安慰剂组 ApoB 较基线的平均降幅在 -53.761%~-69.573%之间, ApoB 下降幅度与 LDL-C 基本一致, 其中 420 mg Q4W 组 ApoB 较基线可下降将近 70%。

600 mg Q6W 组连续给药 14 周后 (第二次给药后 8 周), 相较于安慰剂组, ApoB 水平较基线下降率为-61.729%。各次给药前后 ApoB 水平相对基线的变化率见图 18。

6.12 周、14 周时 non-HDL-C 水平相对基线的变化率(%)分析

连续给药 12 周后, ADI-10087 各剂量组相较于安慰剂组 non-HDL-C 较基线的平均降幅在 55%以上, 最大降幅可达 75.394% (420 mg Q4W 组);

600 mg Q6W 组连续给药 14 周后 (第二次给药后 8 周), 相较于安慰剂组, non-HDL-C 水平较基线下降率为-61.958%。各次给药前后 non-HDL-C 水平相对基线的变化率见图 19。

5

7. 12 周、14 周时 TC 水平相对基线的变化率(%)分析

连续给药 12 周后, ADI-10087 各剂量组 TC 较基线的平均降幅在 40%~57%之间, 其中 420 mg Q4W 组降幅最大, 约 56%。安慰剂组 TC 较基线无明显变化 (升高了约 0.5%)。

600 mg Q6W 组连续给药 14 周后 (第二次给药后 8 周), TC 较基线的下降率为 36.184%, 而安慰剂组 TC 较基线升高了 10.635%。各次给药前后 TC 水平相对基线的变化率见图 20。

10

8. 12 周、14 周时 ApoB/ApoA1 水平相对基线的变化率(%)分析

连续给药 12 周后, ADI-10087 各剂量组相较于安慰剂组 ApoB/ApoA1 较基线的平均降幅在 50%以上, 最大降幅可达-68.476% (420 mg Q4W 组)。

600 mg Q6W 组连续给药 14 周后 (第二次给药后 8 周), 相较于安慰剂组, ApoB/ApoA1 水平较基线下降率为-53.656%。各次给药前后 ApoB/ApoA1 水平相对基线的变化率见图 21。

15

9. 疗效分析结论

安全性分析集中, ADI-10087 组 48 例受试者以及安慰剂组 12 例受试者纳入疗效分析。第 12 周, 各剂量组 LDL-C 平均浓度较基线下降率为 54.3%~72.26%。尤其是, 在 600 mg Q6W 队列中观察到 LDL-C 降低了 56.52%(-72.50%, -40.54%), 这种效应持续到第 14 周 (最后一次给药后第 8 周), 此时与基线相比仍有 43.46%(-60.96%, -25.96%) 的下降率。与基线相比, 第 12 周时, Lp(a) 的平均下降幅度在 24.04% 至 50.59%之间。与安慰剂组比, 各剂量组中其它脂类也有所下降。故 ADI-10087 的 PK/PD (LDL-C) 特征良好, 可满足 4~8 周的长间隔给药。

20

实施例 16 评估 ADI-10087 多剂量重复给药在中国高胆固醇血症人群中的安全性评价

结果显示: 本研究中多剂量重复皮下注射 ADI-10087 在中国高胆固醇血症人群中的安全性良好。ADI-10087 组治疗期不良事件 (TEAE) 发生率为 70.8%, 与研究药物相关的 TEAE 发生率为 31.3%; 安慰剂组 TEAE 发生率为 75.0%, 与研究药物相关的 TEAE 发生率为 41.7%。ADI-10087 和安慰剂组至少发生一次特别关注的不良事件 (过敏反应、注射部位反应、转氨酶升高、肝脏损害和肌肉事件) 分别为 10.4%和 25.0%, 未发生严重不良事件、与研究药物相关的严重不良事件、导致退出研究的不良事件和导致死亡的不良事件。ADI-10087 组的与药物相关的不良事件皆为轻至中度, 不需要特别处理或经过纠正治疗后好转, 具有良好的安全性。研究期间的不良事件汇总见下面的表 8。

25

30

表 8 所有不良事件汇总-安全性分析集

	75 mg Q2W (N=8)	140 mg Q2W (N=8)	300mg Q4W (N=8)	420 mg Q4W (N=8)	450 mg Q6W (N=8)
	例数(%)	事件数	例数(%)	事件数	例数(%)
不良事件	7 (87.5%)	18	7 (87.5%)	24	4 (50.0%)
与治疗期不良事件 ^①	2 (25.0%)	3	0	0	2 (25.0%)
治疗期不良事件 ^②	7 (87.5%)	15	7 (87.5%)	24	3 (37.5%)
药物相关治疗期不良事件	4 (50.0%)	7	3 (37.5%)	3	2 (25.0%)
治疗期严重不良事件	0	0	0	0	0
结局为死亡的不良事件	0	0	0	0	0
影响研究用药治疗期	0	0	0	0	0
不良事件 ^③	0	0	0	0	0
导致退出研究的治周期	0	0	0	0	0
不良事件	2 (25.0%)	2	0	1 (12.5%)	0
特别关注不良事件 ^④	2 (25.0%)	2	0	0	0
送检部位不良事件	0	0	0	0	0

表 8 (续) 所有不良事件汇总-安全性分析集

	600 mg Q6W (N=8)		试验药合计 (N=48)		安慰剂合计 (N=12)		合计 (N=60)	
	例数(%)	事件数	例数(%)	事件数	例数(%)	事件数	例数(%)	事件数
不良事件	6 (75.0%)	17	36 (75.0%)	104	9 (75.0%)	37	45 (75.0%)	141
与治疗不良事件 ^[1]	1 (12.5%)	1	5 (10.4%)	6	2 (16.7%)	3	7 (11.7%)	9
治疗期不良事件 ^[2]	5 (62.5%)	15	34 (70.8%)	97	9 (75.0%)	34	43 (71.7%)	131
药物相关治疗期不良事件	2 (25.0%)	5	13 (31.2%)	27	5 (41.7%)	12	20 (33.3%)	39
治疗期严重不良事件	0	0	0	0	0	0	0	0
治疗期死亡的不良事件	0	0	0	0	0	0	0	0
影响研究用药的治疗期不良事件 ^[3]	0	0	0	0	0	0	0	0
导致退出研究的治疗期不良事件	0	0	0	0	0	0	0	0
治疗期关注不良事件 ^[4]	2 (25.0%)	2	5 (10.4%)	5	3 (25.0%)	4	8 (13.3%)	9
注射部位不良事件	1 (12.5%)	1	3 (6.3%)	3	0	0	3 (5.0%)	3

[1]与治疗不良事件为从患者知情到第一次研究用药前发生的AE。

[2]治疗期不良事件 (TEAE) 定义为从第一次研究用药到最后一剂研究用药后的90天内 (包括第90天) 和重复发生的AE。

[3]影响研究用药包括停止给药、暂停给药、减小剂量。

[4]特别关注不良事件 (AESI) 为: 过敏反应、注射部位反应、转氨酶升高、肾脏损害和肌肉事件。

以上描述了本发明的示例性实施方案, 本领域技术人员应当理解的是, 这些公开内容仅
5 是示例性的, 在本发明的范围内可以进行各种其它替换、适应和修改。因此, 本发明不限于
文中列举的具体实施方案。

权 利 要 求

1. 一种降低受试者的胆固醇水平的方法，所述方法包括向所述受试者以约 15mg-3500mg 的剂量施用抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

2. 一种预防或治疗受试者的与升高的 LDL-胆固醇水平相关的病症的方法，所述方法包括向所述受试者以约 15mg-3500mg 的剂量施用抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

3. 一种预防或治疗胆固醇相关疾病例如高胆固醇血症和/或高脂血症的方法，所述方法包括向所述受试者以约 15mg-3500mg 的剂量施用抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

4. 权利要求 1-3 中任何一项所述的方法，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL，其中

(a) 所述 VH 包含

(i) HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 的组合，其中 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列或由其组成；HCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列，或由其组成；HCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列或由其组成；或

(ii) 如 SEQ ID NO: 30 所示的 VH 中所含的三个互补决定区域(CDR)；

(b) 所述 VL 包含

(i) LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的组合，其中 LCDR1 包含如 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列或由其组成；LCDR2 包含如 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列或由其组成；LCDR3 包含如 SEQ ID NO:6 所示的氨基酸序列或由其组成；或

(ii) 包含如 SEQ ID NO:24 所示的 VL 中所含的三个互补决定区域(CDR)。

5. 权利要求 1-4 中任何一项所述的方法，所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL，其中，

(a) 重链可变区 VH 包含 SEQ ID NO:30 所示的氨基酸序列或由其组成；

(b) 轻链可变区 VL 包含 SEQ ID NO:24 所示的氨基酸序列或由其组成。

6. 权利要求 1-5 中任何一项所述的方法，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链，其中

(a) 重链包含 SEQ ID NO:41 所示的氨基酸序列或由其组成；

(b) 轻链包含 SEQ ID NO:35 所示的氨基酸序列或由其组成；

优选地，所述抗 PCSK9 抗体是 ADI-10087。

7. 权利要求 1-6 中任何一项所述的方法，其中胆固醇是 LDL-胆固醇。

8. 权利要求 1-7 中任何一项所述的方法，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段以约 25mg 至约 3000mg、约 50mg 至约 2500mg、约 75mg 至约 2000mg、约 100 mg 至约 2000mg、约 200mg 至约 2000mg、约 250mg 至约 1500mg、约 300mg 至约 1000mg、约 450mg 至约 1000mg、约 600mg 至约 1000mg、约 350mg 至约 900mg、约 400mg 至约 800mg、约 450mg 至约 700 mg、约 300mg 至约 600mg 或约 450mg 至约 600mg 的剂量施用至受试者，所述剂量优选为 450mg 或 600mg。

9. 权利要求 1-8 中任何一项所述的方法，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段是胃

肠外方式施用的，例如皮下施用的或静脉内施用的。

5 10. 权利要求 1-9 中任何一项所述的方法，其中与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比，在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月时，该受试者的 LDL-胆固醇水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

10 11. 权利要求 1-10 中任何一项所述的方法，其中与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比，在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月时，所述受试者的血清游离 PCSK-9 的水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

15 12. 权利要求 1-11 中任何一项所述的方法，其中与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比，在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月时，所述受试者的总胆固醇的水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

20 13. 权利要求 1-12 中任何一项所述的方法，其中与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比，在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月时，所述受试者的载脂蛋白 B 的水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

25 14. 权利要求 1-13 中任何一项所述的方法，其中与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比，在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月时，所述受试者的非高密度脂蛋白胆固醇的水平仍降低了>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

30 15. 权利要求 1-14 中任何一项所述的方法，其中与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比，在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月时，所述受试者的脂蛋白 a 的水平仍降低了>20%、>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

35 16. 权利要求 1-15 中任何一项所述的方法，其中与受试者的 LDL-胆固醇的给药前水平相比，在给药后 4 周、给药后 5 周、给药后 6 周、给药后 7 周、给药后 8 周、给药后 9 周、给药后 10 周、给药后 3 个月、给药后 4 个月或给药后 5 个月时，所述受试者的 ApoB/ApoA1 的水平仍降低了>20%、>30%、>35%、>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%或>90%。

40 17. 权利要求 1-16 中任何一项所述的方法，其中所述胆固醇或 LDL-胆固醇是血清 LDL-

胆固醇。

18. 权利要求 1-17 中任何一项所述的方法, 其中所述的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段以等于或大于每四周一次(Q4W)的间隔施用, 例如每四周一次(Q4W)、每五周一次(Q5W)、每六周一次(Q6W)、每七周一次(Q7W)、每八周一次(Q8W)、每九周一次(Q9W)、每十周一次(Q10W)、每十一周一次(Q11W)、每十二周一次(Q12W)、每 4 个月一次、每 5 个月一次、每 6 个月一次、每 7 个月一次或每年一次施用; 优选地, 每四周一次(Q4W)、每六周一次(Q6W)、每八周一次(Q8W)施用。

19. 权利要求 1-18 中任何一项所述的方法, 其中在给药后, 该受试者不发生严重不良事件, 尤其与所述的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段相关的严重不良事件。

20. 权利要求 1-19 中任何一项所述的方法, 其中在给药后, 该受试者的不良事件发生率与接受安慰剂的受试者相当。

21. 权利要求 1-20 中任何一项所述的方法, 其中所述胆固醇相关疾病选自纯合子家族性高胆固醇血症、杂合子家族性高胆固醇血症和非家族性高胆固醇血症。

22. 权利要求 1-21 中任何一项所述的方法, 其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段由液体抗体制剂施用, 所述液体抗体制剂包含

- (i) 约 100 mg/mL 至约 200 mg/mL 的抗 PCSK-9 抗体或其抗原结合片段;
 - (ii) 约 0.2-10 mg/ml 组氨酸;
 - (iii) 约 1%-6% 山梨醇和/或约 50mmol/L~180mmol/L 精氨酸或精氨酸盐; 和
 - (iv) 约 0.05-1 mg/ml 聚山梨醇酯-80 或聚山梨醇酯-20;
- 其中所述液体试剂的 pH 为约 5.0~6.0。

23. 权利要求 1-22 中任何一项所述的方法, 其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段由液体抗体制剂施用, 所述液体抗体制剂以水为溶剂且具有下面组成:

抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段	150mg/ml
组氨酸	1.5 g/L
精氨酸	90 mmol/L
山梨醇	3%(w/v)
聚山梨酯 80	0.3 g/L;
其中所述液体试剂的 pH 为约 5.5。	

24. 一种单次药物剂量单元, 其特征在于, 包括约 15mg-3500mg 的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段; 优选地, 包括约 25mg 至约 3000mg、约 50mg 至约 2500mg、约 75mg 至约 2000mg、约 100 mg 至约 2000mg、约 200mg 至约 2000mg、约 250mg 至约 1500mg、约 300mg 至约 1000mg、约 450mg 至约 1000mg、约 600mg 至约 1000mg、约 350mg 至约 900mg、约 400mg 至约 800mg、约 450mg 至约 700 mg、约 300mg 至约 600mg 或约 450mg 至约 600mg 的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段; 更优选地, 包括 450mg、600mg 的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

25. 根据权利要求 24 所述的单次药物剂量单元, 其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL, 其中

(a) 所述 VH 包含

(i) HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 的组合，其中 HCDR1 包含 SEQ ID NO 10 所示的氨基酸序列或由其组成；HCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列，或由其组成；HCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列或由其组成；或

(ii) 如 SEQ ID NO: 30 所示的 VH 中所含的三个互补决定区域 (CDR)；

(b) 所述 VL 包含

(i) LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的组合，其中 LCDR1 包含如 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列或由其组成；LCDR2 包含如 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列或由其组成；LCDR3 包含如 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列或由其组成；或

(ii) 包含如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL 中所含的三个互补决定区域 (CDR)。

26. 根据权利要求 25 所述的单次药物剂量单元，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 VH 和轻链可变区 VL，其中，

(a) 重链可变区 VH 包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列或由其组成；

(b) 轻链可变区 VL 包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列或由其组成。

27. 根据权利要求 26 所述的单次药物剂量单元，其中所述抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链，其中

(a) 重链包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列或由其组成；

(b) 轻链包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列或由其组成；

优选地，所述抗 PCSK9 抗体是 ADI-10087。

28. 一种成套药物包装盒，其特征在于，包含有权利要求 24-27 任意一项所述的抗 PCSK9 抗体或其抗原结合片段。

29. 根据权利要求 24-27 任意一项所述的单次药物剂量单元或根据权利要求 28 所述的成套药盒在制备降低受试者的胆固醇水平的药物中的用途。

30. 根据权利要求 24-27 任意一项所述的单次药物剂量单元或根据权利要求 28 所述的成套药盒在制备预防或治疗受试者的与升高的 LDL-胆固醇水平相关的病症中的用途。

31. 根据权利要求 24-27 任意一项所述的单次药物剂量单元或根据权利要求 28 所述的成套药盒在制备预防或治疗胆固醇相关疾病例如高胆固醇血症和/或高脂血症的药物中的用途。