

Non-Clinical Trial Reports

1. Name of the medicinal product (number of registration certificate, if available):	VOXZOGO
1) type of the medicinal product, by which registration was conducted or planned	<p>Medicinal product with complete dossier (stand-alone dossier) Other medicinal product New active substance (AS) Original (innovator) medicinal product (molecule is not placed on the market of Ukraine) for treating rare diseases which was registered the European Medicines Agency (EMA) (centrally authorized) according to the item 10 (sub-item 10.1) of section V of the Procedure of Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 23.07.2015 No 460 The medicinal product has been designated as a medicinal product of limited use (orphan product)</p>
2) Trials conducted	<input checked="" type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no If not, substantiate
2. Pharmacology:	
1) primary pharmacodynamics	<p>In Vitro Studies <i>Cynomolgus Monkey NPR-A, -B, and -C Sequence and Homology Comparison with Human NPR-A, -B, and -C (Study BMN111-11-044)</i> Natriuretic peptide receptor (NPR)-A, -B and -C amino acid sequences were determined in the cynomolgus monkey and compared to the human NPR-A, -B, and -C sequences using multiple sequence alignment software CLUSTAL W2 and BOXSHADE 3.21. Monkey protein sequence of NPR-A and -B are 99% identical to human NPR-A and -B, and cynomolgus monkey protein sequence of NPR-C is 98% identical to human NPR-C. <i>Examination of cGMP Stimulation in Murine Fibroblasts (NIH-3T3) In Vitro Following Treatment with BMN 111 (Study BMN111-10-110)</i> Vosoritide (also known as BMN 111) and C-type natriuretic peptide (CNP)22 pharmacological activities in terms of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) production were assessed in NIH/3T3 immortalized embryonic mouse fibroblast cells. NIH/3T3 cells were incubated with various concentrations of vosoritide and CNP-22 (0.001 to 10 µM). cGMP production was measured in cell lysates using the Catch point Cyclic-GMP fluorescent assay kit. In conclusion, CNP-22 and vosoritide have comparable potencies. <i>Relative Affinity Determination of Vosoritide with NPR-A, NPR-B and NPR-C (Study BMN111-11-028)</i> A signaling competition assay was developed to evaluate the relative affinities (determined by 50% effective concentration [EC₅₀]) of vosoritide, CNP-22 and atrial natriuretic peptide ANP to the different NPRs (NPR-A, -B and -C). NPR-A, -B and -C overexpressing HEK293T cells (293T) were treated with various concentrations of CNP22, ANP or vosoritide alone or in the</p>

presence of NPR-C. cGMP production was measured in the cell lysates using the Catchpoint Cyclic GMP fluorescent assay kit.

In presence of NPR-C, both vosoritide and CNP-22 had 5 to 10-fold reduction in signaling. In contrast, ANP signaling through NPR-A is reduced nearly 100-fold. The results indicated that signaling characteristics of vosoritide and CNP-22 were indistinguishable with regards to activating NPR-B and in NPR-C signal competition.

Relative Affinity Determination and Potency of BMN 111 with NPR-B derived from Rat, Mouse, Rabbit, and Cynomolgus Monkey/Human (Study BMN111-18-002)

The purpose of this non-GLP study was to assess the similarity in affinity and potency of vosoritide to NPR-B from humans and the species evaluated in nonclinical pharmacology and toxicology studies of vosoritide: rat, mouse, rabbit, and cynomolgus monkey.

Potency was assessed in HEK293T cells expressing cynomolgus monkey/human, mouse, rat, and rabbit NPR-B, plated at 0.3 to 0.4×10^6 cells/well in 24 well plates. Cells were then incubated for 15 min with CNP-22 or vosoritide in the presence of phosphodiesterase inhibitor once optimal cell density was achieved. Reactions were stopped and cGMP production was determined by competitive ELISA.

Affinity was evaluated by performing binding saturation and labeled ligand dissociation assays.

In conclusion, vosoritide demonstrated potency across all species tested. Similar affinity for immobilized NPR-B from all species for vosoritide was also confirmed.

BMN 111 Activity in Human Primary Chondrocytes In Vitro (Study BMN111-11-004)

The objective of this study was to compare the ability of vosoritide and CNP-22 to activate human NPR-B receptors in primary human normal and achondroplastic articular chondrocytes by measuring cGMP, a downstream mediator of NPR-B.

Normal human articular chondrocytes isolated from a healthy donor were treated with vosoritide or CNP22 (0.001 to 10 .M dose range). cGMP levels were measured in cell lysates using the cGMP Enzyme Immunoassay Kit.

A dose-related increase in cGMP production was observed in the chondrocytes after CNP-22 or vosoritide treatments, thus confirming that vosoritide, like CNP-22, activated NPR-B in human articular chondrocytes.

Normal human articular chondrocytes were transfected with FGFR3^{G380R} to create a model of human achondroplasia (ACH) in vitro. Vosoritide activity (ERK phosphorylation and cGMP production) was FGFR3^{wt} comparable in and FGFR3^{G380R} human articular chondrocytes.

Evaluation of the Effects of BMN 111 on Immortalized or Primary Human Normal, Achondroplastic, or Thanatophoric Dysplasia Growth Plate Chondrocytes In Vitro (Study BMN111-10-086)

The objective of this non-GLP study was to evaluate the effect of vosoritide on the cellular activities of primary and immortalized growth plate chondrocytes isolated from normal, ACH, and thanatophoric dysplasia (TD) human fetuses. In particular, mitogen-activated protein kinase (MAPK) and extracellular signal-regulated kinases (ERKs) 1/2 were evaluated.

Two cell culture protocols were developed, one for the immortalized chondrocytes and one for the primary chondrocytes. The immortalized and primary chondrocytes were cultured in serum-free medium for 48 hours or 24 hours, respectively, then co-incubated with vosoritide (10^5 M) for 48 hours or 5 minutes, respectively, then washed and finally co-incubated with fibroblast growth factor (FGF) 2 or FGF18 (100 ng/mL) for 1 hour or 5 minutes, respectively.

Cells lysates were prepared for western blot analysis. Phosphorylated ERK1 and ERK2 were detected using the phospho- P42/44 MAPK (ERK1/2) antibody.

In conclusion, vosoritide pre-treatment of normal, ACH and TD chondrocytes from the human growth plate partially prevented FGF-mediated increases in MAPK phosphorylation (ERK1/2).

Evaluation of Dosing Frequency on Suppression of FGF2 Signaling and Restoration of Proliferation and Matrix Deposition by BMN 111 (Study RS19-001)

The purpose of this non-GLP study was to characterize the effect of vosoritide on FGF2-induced signaling and suppression of proliferation and matrix deposition in rat chondrosarcoma (RCS) cells.

The effects of continuous vs once daily vs twice daily dosing of BMN 111 on FGF2-signaling, proliferation and matrix deposition in RCS cells were evaluated. Each dosing paradigm significantly reversed the suppressive effects of FGF2-signaling. BMN 111 blocked FGF2-mediated ERK1/2 activation for up to 60 minutes. BMN 111-treated RCS cells restored the proliferation and matrix production suppressed by FGF2-signaling. There were no statistical differences between the dosing paradigms, indicating that a more frequent dosing of BMN 111 would not accelerate a proliferative response.

Ex Vivo Studies

Evaluation of Endochondral Bone Growth in Bone Explants from Embryonic (E16.5) FGFR3^{Y367C/+} (TD) Mice Administered BMN 111 In Vitro (Study BMN111-10-002)

The objective of this non-GLP study was to characterize the pharmacological activity of vosoritide in an ex vivo model of severe ACH (Fgfr3^{Y367C/+} [TD] mice).

On Day 1, femurs were isolated from both WT and TD embryos (embryonic age E16.5) and their lengths were measured. The femurs were then incubated for 6 days with vosoritide (left femur, 10^{-6} to 10^{-10} M) or with vehicle (right femur). At Day 7, the femurs were measured and then processed for histology.

Maximal effects for gain in femur length were observed for BMN 111 at both 10^{-6} M and 10^{-7} M when co-incubated with femurs for 6 days. BMN 111 co-incubation partially rescued the endochondral bone formation process of proximal bones with a severe achondroplastic phenotype by partially normalizing cell cycle and improving the size and architecture of the growth plate.

In Vivo Studies

Evaluation of Endochondral Bone Growth in FGFR3Y367C (TD) Mice Following Multiple Subcutaneous Administrations of BMN 111 (Study BMN111-10-046)

The objective of this non-GLP study was to evaluate the effects of once-daily subcutaneous administrations of vosoritide on overall development including skeletal growth when administered for 10 days to 7-day-old TD mice. Young, 7-day-old, TD (FgfrY367C/+ mutant) mice and their WT littermates were administered vehicle or vosoritide at 240 or 800 μ g/kg via subcutaneous injection once daily for 10 days. WT animals were only administered vehicle for use as a comparator for normal growth. The duration of the study was 10 days. The mice were euthanized on Study Day 11 (17 days of age), 1 day after the last vosoritide administration.

BMN 111 administration was well-tolerated in this study. Most animals administered BMN 111 at 800 μ g/kg were observed to have transient reduced motor activity after dosing through approximately 2 hours postdose for the first 5 days of treatment. Daily SC administration of BMN 111 for 10 days promoted growth of the axial and appendicular skeletons in a mouse model of severe achondroplasia. A partial restoration of the growth plate defect was observed. No exaggeration of the spinal stenosis was noted, and improvement in body disproportion was observed due to preferential growth of the appendicular skeleton over the axial skeleton.

A Pilot Study Evaluation of Overall Development and Endochondral Bone Growth in Fgfr3^{Y367C/+} (TD) Mice Administered Daily Subcutaneous Injections of BMN 111 for 20 Days (Study BMN111-11-045)

The objective of this non-GLP study was to evaluate the effects of once-daily subcutaneous administrations of vosoritide on overall development and bone growth when administered for 20 days to juvenile TD mice.

Seven-day-old TD mice were administered vehicle or vosoritide at 800 μ g/kg via subcutaneous injection in the back once daily for 20 days. WT (Fgfr3+/+) animals were only administered vehicle for use as a comparator for normal growth. This was a pilot study exploration to investigate a vosoritide dosing duration of 20 days, since the duration was only 10 days for a previous study with TD mice (Refer to Study BMN111-10-046).

BMN 111 administration was well-tolerated in this study. Most TD mice given BMN 111 at 800 μ g/kg/day showed transient reduced motor activity (hypoactivity) for approximately 5 to 10 minutes following drug administration on the first 4 to 5 days of the treatment regimen, and exaggerated pharmacological effects were observed on Study Day 21

relating to hindlimb motility, tail kinking, and curled paws. Once-daily SC administration of BMN 111 for 20 days promoted growth of the axial and appendicular skeletons in a mouse model of severe ACH. Notable improvement in phenotypic appearance was observed that included pronounced flattening of the skull with visible snout, reduced prognathism, larger paws and digits, and longer and straightened tibias and femurs along with a restoration of the growth plate defect. These findings were more dramatic compared to previous once-daily SC administration to TD mice for only 10 days.

Evaluation of Bone Growth in FGFR3^{ach} Mice Following Subcutaneous Administrations of BMN 111 for 36 days (Study BMN111-11-001)

The purpose of this non-GLP study was to evaluate the effects of vosoritide on FGFR3^{ach} mice, a murine model of ACH.

Three-week-old ACH male mice and their WT (FVB) littermates were given daily subcutaneous injections of vosoritide in the back at 20, 80, or 280 µg/kg or vehicle for 36 days.

Daily vosoritide subcutaneous administrations over 36 days, at the 20, 80 and 280 µg/kg dose levels, resulted in a dose-related growth of the axial and appendicular skeletons in ACH mice with no overt clinical signs attributable to CV effects. Normalization or over-correction of the dwarfism phenotype was observed at 280 µg/kg vosoritide. Clinical signs related to exaggerated pharmacology were only observed at the 280 µg/kg dose level and consisted of mild tail kinking.

Three *in vivo* non-GLP studies were conducted in WT FVB 3-week old mice to characterize vosoritide pharmacological activity on skeletal growth and overall development.

Evaluation of Endochondral Bone Growth in FVB Mice Following Multiple Subcutaneous Administrations of CNP Analogues at Varying Dose Levels (Study Report 0111-09-048)

This study evaluated the effects of several CNP analogues at varying dose levels on endochondral bone growth in FVB wild-type mice when administered as repeat subcutaneous injections over 36 days.

Animals treated with BMN111-C (200 nmol/kg), BMN111-B3 (20 nmol/kg), BMN111-B3 (70 nmol/kg), and BMN111-C (70 nmol/kg) showed statistically significant paw curvature by Day 21. Hindlimb movement for all groups, except CNP-A (E/D) (20 nmol/kg), and tail kinking for all groups attained statistical significance when compared to the vehicle treated group by Day 28. Hindlimb movement impairment reached significance in animals treated with BMN111-B3 (70 nmol/kg), BMN111-B3 (20 nmol/kg), BMN111-C (200 nmol/kg), and BMN111-C (70 nmol/kg).

Bone mineral content and density appear to be different in animals treated with CNP-A (E/D) (200 nmol/kg), BMN111-B2 (70 nmol/kg) or BMN111-B3 (70 nmol/kg) compared to the vehicle suggesting possible undermineralization.

Overall, treatment with BMN111-B2 and BMN111-B3 resulted in increased animal body, tail, and bone lengths when compared to vehicle-treated animals. CNP-A (E/D) (200 nmol/kg) and BMN111-C treated groups resulted in a similar pattern of changes, but statistical significance was not as consistent across all measurements.

All treatment groups, including the vehicle control, had evidence of mild pulmonary inflammation most commonly associated with blood vessels. No mineralization was discovered in the vehicle treated, von Kossa stained lung samples. Minimal mineralization was found in the majority of samples in all treatment groups.

Evaluation of Endochondral Bone Growth in FVB Mice Following Different Subcutaneous Administration Regimens of a Single CNP Analogue (Study Report BNM111-09-074)

The current study evaluated the effects of a CNP analogue (BNM111-B3) at varying dose levels and dosing regimens on endochondral bone growth in FVB wild-type mice when administered up to 9 weeks followed by a one week recovery period.

Doses were administered as shown in Table via subcutaneous injection.

Group	Dose level	Dose frequency
1 (Vehicle)	0	1x daily 9 weeks
2	80 µg/kg (20 nmol/kg)	1x daily for 1 week, then 3x weekly (Day 1, 3, and 5 of each week) for 8 weeks
3	80 µg/kg (20 nmol/kg)	1x daily in alternate weeks (week 1, 3, 5, 7, 9)
4	20 µg/kg (5 nmol/kg)	1x daily 9 weeks
5	20 µg/kg (5 nmol/kg)	1x daily 5 weeks

Significantly increased growth compared to vehicle treated animals was observed in all dose levels and regimens of BNM111-B3 tested. While all dose regimens of BNM111-B3 increased axial and appendicular growth parameters measured, daily dosing of BNM111-B3 appeared to preferentially promote appendicular growth at lower total dose levels compared to regimens with less frequent dosing. In Group 3 where BNM111-B3 was administered in alternating weeks, normal growth velocity resumed in the weeks where treatment was discontinued.

Evaluation of Endochondral Bone Growth in FVB Mice Following Multiple Subcutaneous Administrations of Final CNP Analogue Selection (Study Report BNM111-09-075)

The current study evaluated the effects of a CNP analogue, BMN111-B3, at varying dose levels on endochondral bone growth in FVB wild-type mice when administered as repeat subcutaneous injections over 36 days.

Animals treated with BMN111-B3 (20 nmol/kg) and BMN111-B3 (70 nmol/kg) showed statistically significant paw curvature by Day 20. Hindlimb movement, tail kinking, joint swelling, and hunched posture for

all groups attained statistical significance when compared to the vehicle treated group by Day 16. Body weights were significantly increased in animals treated with BMN111-B3 (70 nmol/kg) starting on Day 20. There were no statistical significances regarding histomorphometric calculations between the vehicle and BMN111-B3 (70 nmol/kg) groups.

Overall, treatment with BMN111-B3 resulted in increased animal body, tail, and bone lengths when compared to vehicle-treated animals.

Evaluation of Bone Growth Related Effects in Sprague Dawley Rats Following Subcutaneous Administrations of BMN 111 for 36 Days (Study Report BMN111-11-017)

The purpose of this non-GLP study was to evaluate the bone growth related effects of vosoritide on the growth of the axial and appendicular skeleton of 8-month-old male Sprague Dawley Rats.

Eight-month old male Sprague Dawley rats assigned to 4 groups of 10 animals were given daily subcutaneous injections of vosoritide (80, 240, 800 µg/kg) or vehicle in the back for 36 days.

Treatment of mature Sprague Dawley rats for 36 days with a CNP analogue at varying dose levels resulted in increased terminal naso-anal length measurements after treatment with 240 and 800 µg/kg BMN 111, increased tail length at Weeks 4, 5, and 6 after treatment with 240 µg/kg BMN 111 and increased right and left femoral length and combined left and right femoral length after treatment with 80, 240 or 800 µg/kg BMN 111.

These observations were correlated with histological changes in the regions associated with growth in bone length. There were no differences noted in animal body weight, bone mineral content, bone area or bone mineral density results in any of the groups. Plasma levels of BMN 111 confirmed exposure in this study.

A 6 Month Pilot Subcutaneous Injection Pharmacokinetic, Pharmacodynamic and Safety Study in Cynomolgus Monkeys (Study Report BMN111-09-072)

The purpose of this non-GLP study was to determine the PD and pharmacokinetic (PK) profile of the test article, vosoritide, and to preliminarily assess safety following daily subcutaneous injection administration to cynomolgus monkeys for 181 days. Animals were given vehicle or vosoritide (9 or 33 µg/kg) once daily by subcutaneous injection in the dorsal region.

Daily administration of BMN111-B3 via subcutaneous injection for 181 consecutive days to male cynomolgus monkeys at dose levels of 0, 9, and 33 µg/kg/day was well tolerated. BMN111-B3-related effects included a modest increase in bone growth, rate of bone growth, and promotion of growth plate size (width and volume) and activity (increase in the number/size of the chondrocytes of the hypertrophic zone) for animals given ≥ 9 µg/kg/day BMN111-B3. The average area of the foramen of vertebrae L2, 3, and 4 trended higher in the high dose BMN111-B3 group compared to controls. This was accompanied by a trend to increased total and bone-specific serum alkaline phosphatase. There was no effect on

	bone volume or turnover. No anti-BMN111-B3 antibodies were detected. No evidence of calcium deposition in the lungs was detected.
2) secondary pharmacodynamics	<p><i>SpectrumScreen®: Off-Target Activity of BMN 111 (Study Report BMN111-11-026)</i></p> <p>The purpose of this non-GLP study was to assess the off-target effects of vosoritide on a panel of in vitro receptor binding assays.</p> <p>Vosoritide (11.44 µM in aqueous 5 mM citrate buffer, pH 5.5) was incubated with 165 different receptor or channel-based cell systems including NPR-A. Receptors/channels with significant positive inhibition (defined as being ≥ 50%) were then incubated with vosoritide at 11.44, 1.144, 0.1144, and 0.01144 µM to determine IC₅₀ values. Eight receptors/channels (including NPR-A) were confirmed to have positive inhibition with IC₅₀ values ranging from 2.1 to 11.4 µM (8 to 46 µg/mL), but no off-target pharmacological activity is expected at the predicted clinical exposure, as a safety factor greater than 115,000x was calculated based on a predicted C_{max} in monkeys given 5 µg/kg subcutaneous vosoritide. This data also confirms the lack of affinity of vosoritide for NPR-A.</p>
3) safety pharmacology	<p>In Vitro Safety Pharmacology</p> <p><i>Effect of BMN 111 on Cloned hERG Potassium Channels Expressed in Human Embryonic Kidney Cells (Study Report BMN111-11-023)</i></p> <p>The objective of this GLP study was to examine the <i>in vitro</i> effects of vosoritide on the human Ether-à-go-go-Related Gene (hERG) channel current (a surrogate for I_{Kr}, the rapidly activating, delayed rectifier cardiac potassium current) at near-physiological temperature.</p> <p>HEK293 cells expressing the hERG channel were incubated at 33-35°C in triplicate in the presence of 0, 50, 300, 2500 and 5000 µg/mL vosoritide. Terfenadine was used as a positive control.</p> <p>Vosoritide inhibited hERG current by (Mean ± SEM) 1.8 ± 1.2% at 50 µg/mL, versus 1.4 ± 0.7% in control. hERG inhibition at 50 µg/mL was not statistically significant (P < 0.05) when compared to vehicle control values. The IC₅₀ for the inhibitory effect of vosoritide on hERG potassium current could not be calculated but was estimated to be greater than 50 µg/mL.</p> <p>In Vivo Safety Pharmacology</p> <p><i>A Cardiovascular Investigation in Anesthetized Male FVB Mice Examining the Effects of BMN111-B2, BMN111-C, BMN111-B3, BMN111-C2 and CNP-A (E/D) When Administered Subcutaneously (Study Report BMN111-09-060)</i></p> <p>The objective of the non-GLP study was to determine the cardiovascular (CV) active dose range and pilot toxicity of different CNP analogs following subcutaneous administration to anesthetized mice. Only data pertaining to vosoritide are presented in this summary.</p> <p>Male FVB mice were assigned to 5 groups according to vosoritide dose level: 0 (control), low, mid, high, and very high (80, 280, 800, and</p>

8000 µg/kg, respectively). Vosoritide or vehicle was administered subcutaneously in the lumbar region of the mouse.

No vosoritide-related clinical signs were observed. Vosoritide subcutaneous administration resulted in a dose-related decrease in mean arterial pressure (MAP). At the nadir, changes from baseline were -11%, -12%, -17% and -25% at the 80, 280, 800 and 8000 µg/kg dose levels, respectively.

Decrease in MAP was immediate after dose administration and lasted approximately 30 minutes. The extent of the compensatory changes in HR were generally limited due to the presence of the anesthesia, ranging from +3% at 80 µg/kg to +10% at 8000 µg/kg, apart from the 800 µg/kg dose level where HR increased by 15%.

There were no vosoritide-related changes in the respiratory rate or body temperature. There were no vosoritide-related macroscopic observations at necropsy.

Central Nervous System Safety Pharmacology Evaluation of BMN 111 following a Single Subcutaneous Administration to Rats (Study Report BMN111-11-021)

The purpose of this GLP study was to evaluate the neurological effects and determine the toxicokinetic (TK) parameters of vosoritide when administered as a single dose via subcutaneous injection to male and female rats. Neurological effects were evaluated using a modified Irwin assessment.

Animals were assigned to 8 groups based on body weight and administered vehicle or vosoritide at 30, 100, or 300 µg/kg via a single subcutaneous administration in the dorsal region.

Comparison of mean C_{max} and AUC_{0-t} values across dose levels demonstrated roughly dose proportional increases in exposure between 30 and 300 µg/kg of vosoritide after a single subcutaneous administration.

No vosoritide-related effects on mortality or clinical signs. No vosoritide-related effects of physiological concern on modified Irwin battery (central and peripheral nervous system tests).

Respiratory Safety Pharmacology Evaluation of BMN 111 Using Head-Out Plethysmography following a Single Subcutaneous Administration to Male Rats (Study Report BMN111-11-022)

The purpose of this GLP study was to evaluate the effects of vosoritide on the respiratory function as indicated by tidal volume, respiration rate, and minute volume when administered as a single dose via subcutaneous administration to male rats. Respiratory effects were evaluated using head-out plethysmography methodology.

Male Sprague Dawley rats were randomly assigned to 4 groups and administered vehicle or vosoritide at 30, 100, or 300 µg/kg via a single subcutaneous administration in the dorsal thoracic region.

Administration of vosoritide had no effect on mortality, clinical observations, or respiratory function assessed by measurements of tidal volume, respiration rate, and minute volume for up to 6 hours postdose.

Escalating Dose Range-Finding Study and 7-Day Repeat-Dose Hemodynamic, Toxicity and Toxicokinetic Study Following Subcutaneous Administration of BMN111-B3 in Telemeterized Monkeys (Phase I and II). (Study Report BMN111-09-067)

The objective of the non-GLP study was to determine the maximum tolerable single subcutaneous dose (MTD) of vosoritide with respect to CV function in both anesthetized and conscious cynomolgus monkeys (Phase I of the study), then to observe the effect of that MTD and of a dose 2.5 fold greater than the MTD when administered to conscious monkeys once daily for 7 consecutive days (Phase II of the study).

The data obtained in this study identified a treatment-associated decrease in arterial blood pressures with an increase in heart rate in anesthetized and conscious cynomolgus monkeys following administration of BMN111-B3 subcutaneously. Although there were variable effects between animals receiving the same dose, mild to moderate effects characterized by a decrease in blood pressure with a compensatory increase in heart rate were apparent in conscious monkeys at the 28 µg/kg (80 µg/kg nominal) dose and above. Likely because of a dampening of compensatory increase in heart rate, anesthetized animals were more sensitive to the hypotensive effects of BMN111-B3 with some decrease in blood pressure noted by 14 µg/kg (40 µg/kg nominal). These CV effects were transient, maximal at approximately 30 min post-dose and, completely reversible at all doses tested.

Subcutaneous administration of BMN111-B3 via surgically implanted remote-dosing catheters to conscious cynomolgus monkeys at doses of 28 and 70 µg/kg/day (80 and 200 µg/kg/day nominal) for 7 consecutive days resulted in a dose-related decrease in BP and increase in HR. These effects were rapid, transient, and less marked following subsequent treatments, implying a degree of desensitization.

Electrocardiograms showed two sporadic events that were thought to be due to the increased HR. No treatment-related effects were observed on hematology, clinical chemistry, or urinalysis parameters. No gross abnormalities or organ weight changes were noted in any animal at termination. No histological abnormalities were noted except for a minimal to mild widening of the epiphyseal growth plates, particularly the hypertrophic chondrocyte zone, of all animals who received BMN111-B3. Inflammation and some hemorrhage of the subcutis was noted at the injection sites and was more pronounced in BMN111-B3-treated animals.

A Pilot Cardiovascular Safety Pharmacology Evaluation of BMN 111 After Subcutaneous Administration to Telemetry Instrumented Conscious Cynomolgus Monkeys (Study Report BMN111-11-041)

The purpose of this non-GLP study was to determine a dosing schedule that could be used in future CV safety pharmacology studies with a Latin square design using the test article, vosoritide. Cardiovascular parameters were evaluated after a single subcutaneous dose at 250 µg/kg with varying washout periods of 1 to 7 days in length to cynomolgus monkeys. This

study determined the necessary window between 2 consecutive vosoritide administrations to restore a CV naïve-like response.

Eight male cynomolgus monkeys were administered vehicle (0 µg/kg) subcutaneous to establish baseline CV measurements and subsequently administered vosoritide at 250 µg/kg via subcutaneous administration on Days 1 and 11. Group 1 animals also received subcutaneous administrations on Days 8, 22, 24, and 25. Group 2 animals went on to receive subcutaneous administrations on Days 14, 16, and 17.

All animals survived the duration of the study. Decreased activity on Day 1 was observed in 5 of 8 monkeys following the first vosoritide dose administration 40 to 60 minutes post-dose. This was likely due to vosoritide-related decrease in blood pressure. No other changes in clinical condition were noted during the study.

Generally, decreases in MAP were observed starting at 30 minutes and lasting up to 120 minutes post-dose with a nadir observed between 30 and 60 minutes. An attenuation of the BP decrease was observed when vosoritide was administered on 2 consecutive days. A CV naïve-like response was observed when vosoritide administrations were conducted 2 days apart or for longer washout periods. Compensatory increases in HR were measured up to 90 minutes post-dose and no accommodation was seen. At approximately 100 minutes and 200 minutes post-dose while BP was returning to baseline values, an additional slight (~ 5 mmHg) and transient (< 30 minutes) decrease in BP was observed. In general, all hemodynamic changes returned to baseline by 360 minutes following vosoritide administration.

Cardiovascular Safety Pharmacology Evaluation of BMN 111 Administered by Rapid Subcutaneous Infusion to Male Telemetry Instrumented Conscious Nonhuman Primates (Study Report BMN111-11-040)

The purpose of this GLP study was to evaluate the potential CV effects of vosoritide in telemeterized male cynomolgus monkeys. Vosoritide was administered by rapid remote subcutaneous infusion to animals in a double Latin square dosing design (Phase I) and a 7-day repeat dose study design (Phase II).

Animals were assigned to a double Latin square design for Phase I of this study. Each animal received 1 of the 4 dosages (in a predetermined order) on Days 1, 4, 8, and 11. The 3-day washout period between dosing was determined in the Pilot CV study. Dose formulations were administered remotely via rapid subcutaneous infusion over 2 minutes. On each dosing day, animals were given the vehicle or vosoritide at a dose level of 10, 50, or 200 µg/kg.

For Phase II, all animals were transferred from Phase I and given vosoritide at 200 µg/kg daily for 7 days at a dose volume of 1 mL/kg.

In Phase I, there were no vosoritide-related mortality, morbidity, clinical observations, or effects on food consumption or body weight. Dose-dependent increases in HR and decreases in blood pressure were noted and were shown to recover with 19 hours post-dose. Little or no changes

	<p>in BP or HR were observed in the monkeys given 10 µg/kg vosoritide. Animals given 200 µg/kg had faster onset of hemodynamic effects that lasted longer in comparison to animals given 50 µg/kg. Maximal effects were reached within 15 to 30 minutes of dosing for animals given 200 µg/kg, and within 1.75 or 2 hours for animals given 50 or 10 µg/kg, respectively. At the nadir, BP decrease was 6.8% and 12.2% in animals given 50 and 200 µg/kg respectively. Maximum HR increase was ~ 37% and ~ 49% in animals given 50 and 200 µg/kg, respectively. All ECG parameters evaluated were considered qualitatively normal. Some intervals were shortened (e.g. PR, QT, and QTcB) but the QRS duration was not affected. These changes were considered secondary to the increase in HR and were not of physiological concern.</p> <p>In Phase II, vosoritide-related clinical observations were limited to idiosyncratic short and repeated bouts of sternal or lateral recumbency in 3/8 animals during the first hour post-dose in the repeat-dose portion of the study. This may be likely related to the hemodynamic effects of vosoritide, but it is unclear why the clinical observations of recumbency were only seen in Phase II. Vosoritide rapidly decreased arterial pressures and increased HR with similar timing and magnitude as seen in Phase I. Blood pressure effects on subsequent days were generally smaller in magnitude and appeared later, similar in pattern to effects of lower doses in Phase I. While blood pressures appeared less affected after the initial dose, they only minimally accommodated with daily dosing. No apparent accommodation was seen for HR.</p>
4) pharmacodynamic interactions	No pharmacodynamic drug interaction studies have been conducted.
3. Pharmacokinetics:	
1) analytical procedures and reports on their validation	<p>Analysis of vosoritide concentrations in formulated dosing solutions was performed with a validated high-pressure liquid chromatography (HPLC) method (Validation BMN111-11-005).</p> <p>Quantitative measurement of vosoritide plasma concentrations to support PK analyses in early rat studies and monkey studies was performed using validated enzyme linked immunosorbent assays (ELISAs; rat plasma ELISA validation BMN111-10-102; monkey plasma ELISA validation BMN111-10-103).</p> <p>Quantitative measurement of vosoritide plasma concentrations in later rat studies, one rabbit study, and one monkey study was performed using validated electrochemiluminescence assays (ECLAs) (rat plasma ECLA validation BMN111-14-063, rabbit plasma ECLA validation BMN111-14-059, monkey plasma ECLA validation BMN111-13-005).</p> <p>The rat plasma PK method was characterized for measurement of vosoritide in mouse plasma (characterization report BAS-GR-15-039) to support a non-GLP mouse PK study.</p> <p>The ECLA method in rat plasma was adapted for semi-quantitative measurement of vosoritide in rat milk (validation BMN111-18-106).</p> <p>Semi-quantitative measurement of total anti-vosoritide antibodies (Tab) in rat, monkey and rabbit serum supporting early and later rat studies,</p>

	<p>monkey studies and one rabbit study was performed with validated bridging ECLAs (rat assay method validation BMN111-10-104 and TNJR15-014; monkey assay method validation BMN111-10-105; rabbit assay method validation TNJR15-013).</p> <p>The rabbit assay method was transferred from Covance Labs in Trenton, NJ to Covance Labs in Indianapolis, IN to complete long-term stability assessments (validation report 8379-472) after completion of study sample testing.</p> <p>Measurement of cGMP in monkey plasma was performed using a characterized cGMP competitive ELISA kit (characterization report BAS-QR-09-005).</p> <p>Quantitative measurement of atrial natriuretic peptide (ANP) in monkey plasma was performed using a characterized ANP assay kit (characterization report BAS-QR-11-007).</p> <p>Measurement of C-terminal telopeptides of type II collagen (CTXII) in monkey serum, and in rat serum was performed using a characterized ELISA kit (characterization report BAS-QR-11-008).</p> <p>Covance Genomics Laboratory (CGL) validated gene expression assays for Monkey, Mouse, and Rat: <i>NPR-B (NPR2)</i> and <i>NPR-C (NPR3)</i>, <i>ACTB</i>, <i>B2M</i> and <i>GAPDH</i> based on acceptance criteria (validation report BMN111-17-051).</p>
2) absorption	<p><i>A Pharmacokinetic Study of BMN 111 by Subcutaneous Injection in Juvenile FGFR3^{ACH} and Wild-Type Mice (Study Report BMN111-15-100)</i></p> <p>The PK of BMN 111 was evaluated in juvenile male and female wild-type and FGFR3^{ACH} FVB mouse plasma following a single subcutaneous administration of BMN 111 at dose levels of 280 and 600 µg/kg from Postnatal Day (PND) 21 through 29.</p> <p>Peak BMN 111 concentrations were typically observed at 5 or 15 minutes postdose for both genotypes. Following maximal BMN 111 concentrations, BMN 111 concentrations decreased with T_{1/2} ranging from 15.0 to 17.4 minutes for the wild-type FVB mice and from 14.8 to 16.0 minutes for FGFR3^{ACH} FVB mice. The exposure to BMN 111 increased with increasing dose level for both genotypes. For males, the increase was close to dose proportional for the wild-type FVB mice, whereas for FGFR3^{ACH} FVB mice the increase was either greater than or close to dose proportional. For females, the increase in dose level was generally less than dose proportional for both genotypes. Overall, the PK profile observed between wild-type FVB and FGFR3^{ACH} FVB mice was similar at 280 and 600 µg/kg indicating that the ACH phenotype displays similar exposure and kinetics with the wild type for subcutaneous BMN 111 administration.</p> <p><i>A Pilot Single Dose Pharmacokinetics Study of BMN 111 Administered Subcutaneously to 7 Day-Old Rats (Study Report BMN111-15-072)</i></p> <p>The purpose of this pilot non-GLP study was to determine the exposure and PK of vosoritide when administered as a SC injection to female 7-</p>

day-old (infant) Sprague-Dawley rats. The SC dose was administered in the mid-scapular region; Target Dose Level was 180 and 360 µg/kg.

Following SC administration to 7-day-old rats, vosoritide was rapidly absorbed (C_{max} of 5.00 minutes) into and rapidly eliminated from plasma (half-life of 19.4 and 31.8 minutes for 180 and 360 µg/kg doses, respectively). Exposure to vosoritide increased with an increase in dose level, as measured by mean C_{max} and AUC_{0-t} , and the increases with dose was greater than proportional to the increase in dose. The apparent clearance and apparent volume of distribution for vosoritide were both categorized as being high.

A Single Dose Age Range Pharmacokinetic Study of BMN 111 Administered Subcutaneously to Rats (Study Report BMN111-15-076)

The purpose of this non-GLP study was to conduct an age range vosoritide PK to inform on age-related vosoritide dose-exposure relationships from neonate through adolescent age groups.

Rats ranging from 7-days old to 13-weeks old were subcutaneously administered a single dose of 360 µg/kg of vosoritide.

Following a single subcutaneous dose of 360 µg/kg, vosoritide was rapidly absorbed with a T_{max} of 5.0 to 15.0 minutes across all age groups. The plasma elimination half-life of vosoritide was generally consistent across all age groups ranging from 10.1 to 15.9 minutes.

Plasma exposure for the same dose level of vosoritide generally increased with age from 7 day-old through 13-week-old rats. Overall plasma exposure (AUC_{0-t}) in 13-week-old rats was ~ 13-fold higher as compared to 7-day-old animals, 3- to 4-fold higher as compared to the 21-day-old animals, and 2- to 3-fold higher as compared to the 45-day-old animals. The C_{max} for vosoritide was approximately 4-fold higher in the 12 to 13-week-old animals as compared to the 7-day-old animals and 2-fold higher as compared to the 21-day- and 45-day-old animals. Higher exposures by animal age are likely due to the weight-based dosing approach with a total clearance rate that does not markedly vary by age and the corresponding weight of the animal. This is further supported by the findings of weight normalized observed clearance (CL/F) decreasing from 1520 mL/min/kg in Group 1 (7-day-old, mean weight 15.6 gm) to 111 mL/min/kg in Group 4 (13-week-old, 271 gm).

There were no marked gender differences observed in plasma exposure, as assessed by mean C_{max} and AUC , within any of the age groups. Any gender difference expressed by mean C_{max} , AUC , or half-life was less than 2-fold.

Pharmacokinetics of BMN 111 after Intramuscular or Subcutaneous Administration to Rats (Study Report BMN111-17-048)

The purpose of this non-GLP study was to investigate the PK of vosoritide after a single intramuscular (IM) or subcutaneous (SC) administration to rats.

Male Sprague Dawley rats were administered a single dose of vosoritide either SC or IM at dose level 240 µg/kg. Target Dose Concentration of SC dose was 80, 240, and 800 µg/mL. After SC administration, vosoritide

	<p>was absorbed, with median Tmax values ranging from 5 to 15 minutes. After IM administration, vosoritide was absorbed, with a median Tmax value of 5 minutes. The mean t1/2 values ranged from 13.38 to 16.62 minutes after SC administration and was 17.04 minutes after IM administration.</p> <p>The ratio of vosoritide exposure following an IM administration when compared to a SC administration was 2.42 and 1.47 for Cmax and AUC0-3, respectively. These values indicate that relative bioavailability of vosoritide was greater after an IM administration compared to a SC administration.</p>
<p>3) distribution</p>	<p><i>cGMP Activation in Cartilage, Bone and Soft Tissues in Wild-Type Mice Following Single Subcutaneous Administrations of BMN 111 (Study BMN111-11-002)</i></p> <p>The objective of the pilot study was to determine the optimal time point for detection of cGMP and enable selection of time points for the main study. In the pilot study, male CD-1 mice, 8 to 10 weeks of age were administered a single SC dose of 800 µg/kg vosoritide or vehicle. Mice were terminated at 15, 30, 60, or 180 min post-dose and tissues were collected (plasma, lung, liver, heart, kidney, brain, tibias, femurs, and ear cartilage).</p> <p>The main study (non-GLP) was conducted to determine the effect of a single dose of vosoritide on tissue and circulating cGMP in mice as an indicator of vosoritide’s ability to activate the NPR-B receptor. Male CD-1 mice, 8 to 10 weeks of age, received a single SC administration of vehicle or 800 µg/kg vosoritide. Mice were terminated 15 minutes, 3 hr, 1, 2, or 3 days after post dose and tissues were collected (plasma, lung, kidney, brain, tibias, femurs, and ear cartilage).</p> <p>In conclusion, after a single SC injection of vosoritide at 800 µg/kg, cGMP was detected in cartilage-containing distal femur (including the growth plate cartilage and articular cartilage). Stimulation of cGMP production was also observed in cortical bone. The liver, heart, and brain did not respond to vosoritide with cGMP production within the time points tested. The cGMP signal was also detectable in the kidney and, to the lesser extent, in the lung. This study demonstrates vosoritide activity in the target tissues (growth plates, cartilage, and bone).</p> <p><i>cGMP Activation in Cartilage, Bone and Soft Tissues in Wild-Type Mice Following Multiple Subcutaneous Administrations of BMN 111 (Study Report BMN111-11-003)</i></p> <p>The objective of this non-GLP study was to determine the effect of multiple vosoritide dose administrations on cGMP production and CNP immunoreactivity in cartilage-containing tissues. CD-1 male mice, 8 to 10 weeks of age, received once daily SC administrations of vehicle or 800 µg/kg vosoritide for up to 8 days.</p> <p>This study was comprised of two sub-studies. In sub-study 1 (vosoritide-11-003-A), mice were injected subcutaneously with vehicle control or</p>

vosoritide of the appropriate concentration once daily on the appropriate days.

In sub-study 2 (vosoritide-11-003-B), mice were injected SC with vehicle or vosoritide at 800 µg/kg once daily for 7 days.

In conclusion, sustained cGMP production was observed in the growth plate after 8 daily treatments. On the contrary, repeated daily administrations resulted in reduction in the cGMP signal in the kidney, potentially reflecting receptor desensitization in this tissue.

Immunohistochemistry studies indicate increased CNP and/or vosoritide residence in the growth plate up to several days after the eighth daily dose. Nevertheless, no residual cGMP production was observed at the same time points.

Characterization of the Biodistribution of ¹²⁴I-BMN111 using PET Imaging in Sprague Dawley Rats (Study Report BMN111-17-027)

The objective of non-GLP study was to characterize the biodistribution of ¹²⁴I-vosoritide using PET imaging in Sprague Dawley rats when administered as a single SC injection of 90 µg/kg or a single intravenous (IV) injection of 50 µg/kg.

Both static and dynamic PET images were acquired to evaluate the distribution of BMN-111 over a 24-hour period. Following the conclusion of PET imaging, multiple tissues were collected for *ex vivo* gamma counting.

The SC injection route was only utilized for cohort 1 (90 µg/kg). With the SC injection, dynamic PET data showed a decrease in injection site activity with little, but increasing, activity detected in the brain tissue up to 60 minutes. Static PET scan data displayed decreases in all evaluated tissues over time, with the greatest activity noted in the stomach and injection site. Brain and testes demonstrated very low uptake of the material.

The IV injection route was utilized for cohorts 2-4 (50 µg/kg). Following IV injection, dynamic PET data showed a dramatic increase in bladder and stomach activity, with much smaller increases in testes, brain and knee joint activity (peak at 5–60 minutes post injection). Heart, liver and kidney all demonstrated decreasing activity following injection, with kidney activity spiking 20 minutes after injection. Static PET data closely resembled that of the SQ injected rats, with decreases in all evaluated tissues over time.

Biodistribution of ¹²⁴I-BMN111 after Subcutaneous Administration to Rats (Study BMN111-18-004)

The objective of the non-GLP study was to assess the biodistribution after a single SC administration of ¹²⁴I-BMN111 to Sprague Dawley rats.

Eight of the 9 male rats received a SC administration of ¹²⁴I-vosoritide at a target dose level of 90 µg/kg, equivalent to a radioactive dose level of 500 µCi/kg. One rat did not receive the intended dose and hence was excluded from data analysis. Blood was collected from 3 rats/time point at approximately 0.25, 0.5 (two rats only), and 1-hour post-dose and centrifuged to prepare plasma. At necropsy, animals were perfused and

	<p>selected tissues were collected. Blood and tissues were analyzed for radioactivity and the counts were corrected for radioisotope decay.</p> <p>Plasma concentrations of ¹²⁴I-vosoritide were highest at 1 hour, with a mean of 191 ng equivalents ¹²⁴I-vosoritide. Except for the injection site and stomach, concentrations were higher in plasma than in tissues.</p> <p>Test article-related radioactivity was detected in all tissues collected at the first time point (0.25 hours post-dose) and were maximal at 0.5 or 1-hour post-dose, except for the injection site. The highest concentrations (ng equivalents ¹²⁴I-vosoritide /g) were detected in the following order: injection site > kidneys > stomach > lungs > heart > spleen > small intestine > liver. Except for the injection site, the tissue:plasma concentration ratios were generally < 1 and indicated little test article-related radioactivity was associated with the off-target tissues. Target tissues, namely femur and tibia, had reasonable concentrations with maximal values at 0.5 or 1-hour post-dose.</p> <p>Following subcutaneous administration of ¹²⁴I-BMN111 at 90 µg/kg, mean plasma vosoritide concentration was highest at 15-minutes post-dose (5.97 ng/mL, standard deviation: 3.39 ng/mL) and rapidly cleared with a mean half-life of 10.5 minutes. Mean AUC_{0-t} and AUC_{0-∞} were 142 ng-min/mL and 147 ng-min/mL, respectively. Comparison between vosoritide concentrations and radioactivity in plasma indicates that an average of 7% or less of the radioactivity observed in plasma is from intact vosoritide through 1-hour post-dose.</p>
<p>4) metabolism</p>	<p><i>Assessment of BMN 111 Resistance to Recombinant Human NEP in Vitro (Study BMN111-10-109)</i></p> <p>The objective of this non-GLP study was to assess vosoritide resistance to neutral endopeptidase (NEP) in an in vitro assay using purified recombinant human NEP. Vosoritide was incubated in the presence of NEP in PBS buffer at 37°C for up to 160 min. Digestion products were separated by HPLC and monitored by UV and mass spectrometry detectors. CNP22 was treated in the same conditions and used as a control since it was known to be susceptible to cleavage by NEP. In presence of NEP, a time-dependent disappearance of intact CNP22 was observed while vosoritide remained intact. Vosoritide demonstrated resistance to cleavage by NEP. Further, this CNP analog retained complete biologic activity compared to CNP22 in the in vitro cell-based cGMP assay (Study BMN111-10-110).</p> <p><i>Targeted Gene Expression Analysis of NPR-B and NPR-C (Study BMN111-16-024)</i></p> <p>This non-GLP study evaluated NPR-B (NPR2) and NPR-C (NPR3) gene expression levels from monkey, mouse, and rat samples. Tissue samples from 45 monkeys (from tissue bank), 64 mice (from Study BMN111-15-100) and 112 rats (from Study BMN111-15-076) were analyzed for RNA. Semi-automated TaqMan® qRT-PCR of Total RNA protocol was used to evaluate targeted gene expression in adrenal gland, brain, heart, kidney, liver, lung, testis, and white adipose (mesenteric) tissues for monkey,</p>

	<p>mouse, and rat. Results were compared within each species as follows: male vs. females in naïve monkeys; wild-type (WT) vs. ACH mice; and 7-day old vs. 21-day old vs. 45-day old vs. 12-13 weeks old male rats.</p> <p>Overall, these data suggest similar levels of vosoritide target receptor gene (NPR2) and clearance receptor gene (NPR3) expression across male and female monkeys and across wild-type and ACH mice, and a potential reduction in expression in older rats.</p>
5) excretion	No excretion studies were conducted.
6) pharmacokinetic interactions (non-clinical)	No pharmacokinetic drug interaction studies were conducted.
7) other pharmacokinetic studies	No other PK studies were conducted.
4. Toxicology:	
1) Single dose toxicity	<p><i>Single-Dose Toxicity and Toxicokinetics Study by Subcutaneous or Intravenous Administration of BMN 111 in Sprague Dawley Rats (Study BMN111-11-015)</i></p> <p>The purpose of this study was to evaluate the toxicity and determine the TK of vosoritide when administered as a single dose via subcutaneous or intravenous injection to rats. After dosing, animals were observed for 7 days to assess the reversibility, persistence, or delayed occurrence of effects.</p> <p>Male and female rats were used in this study. Animals were assigned to 16 groups and were either given vehicle or vosoritide at 80, 240, or 800 µg/kg as a single subcutaneous injection (Groups 1 through 8 subcutaneous); or were given vehicle or vosoritide at 15, 50, or 150 µg/kg as a single intravenous injection (Groups 1 through 8 intravenous).</p> <p>Toxicity animals (Groups 1 through 4, subcutaneous and intravenous) were checked twice daily for mortality, abnormalities, and signs of pain or distress. Blood samples for TK analysis were collected at predose and 5, 15, 30, 60, 90, 120, and 180 minutes post-dose for rats receiving vosoritide by SC injection. Blood samples were collected at predose and 1, 5, 15, 30, 60, 120, and 180 minutes post-dose for rats receiving vosoritide by IV injection. Rats in the control group were bled at 30 minutes post-dose.</p> <p>Administration of BMN 111 to rats was well tolerated as a single SC injection at dose levels of 80, 240, and 800 µg/kg and as a single IV injection at dose levels of 15, 50, and 150 µg/kg. The only BMN 111-related, nonadverse finding was a minor increase in alkaline phosphatase activity observed in males given 800 µg/kg SC. At 800 µg/kg SC and 150 µg/kg IV dose levels, exposures in males were over 2-fold greater than in females. The no observed adverse effect level (NOAEL) for BMN 111 is greater than 800 µg/kg when administered via SC injection and the NOAEL is greater than 150 µg/kg when administered via IV injection. After given 800 µg/kg SC, in male rats C_{max} was 130000 pg/mL and AUC_{0-t} was 6367250 min•pg/mL and in female rats C_{max} was 77367 pg/mL and AUC_{0-t} was 2453883 min•pg/mL. After given</p>

	<p>150 µg/kg IV, in male rats C_{max} was 2035000 pg/mL and AUC_{0-t} was 16695267 min•pg/mL and in female rats C_{max} was 891000 pg/mL and AUC_{0-t} was 8388142 min•pg/mL.</p> <p><i>Single-Dose Toxicity and Toxicokinetics Study by Subcutaneous or Intravenous Administration of Vosoritide in Cynomolgus Monkeys (Study BMN111-11-006)</i></p> <p>The purpose of this study was to evaluate the toxicity and determine the TK of vosoritide when administered as a single dose via subcutaneous or intravenous injection to cynomolgus monkeys. After dosing, animals were observed for 7 days to assess the reversibility, persistence, or delayed occurrence of effects.</p> <p>Naïve male and female cynomolgus monkeys were assigned to 8 groups and were either given vehicle or vosoritide at 20, 60, or 200 µg/kg as a single subcutaneous injection (Groups 1 through 4); or were given vehicle or vosoritide at 2, 6, or 20 µg/kg as a single intravenous injection (Groups 5 through 8). Blood for TK analysis was collected from non-fasted animals on Day 1. For subcutaneous administration (Groups 1 through 4), blood was collected from each animal at pre-dose and approximately 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360, and 600 minutes post-dose. For intravenous administration (Groups 5 through 8), blood was collected from each animal at pre-dose and approximately 1, 5, 15, 30, 60, 120, 240, and 360 minutes post-dose.</p> <p>Administration of BMN 111 to cynomolgus monkeys was well tolerated as a single SC injection at a dose level of 20, 60, or 200 µg/kg and as a single IV injection at a dose level of 2, 6, or 20 µg/kg. The only potentially BMN 111-related, nonadverse finding was mildly to moderately increased urine volume in animals given 200 µg/kg SC. At 200 µg/kg SC and 20 µg/kg IV dose levels, exposures were comparable in males and females. The NOAEL for BMN 111 is greater than 200 µg/kg when administered via SC injection and the NOAEL is greater than 20 µg/kg when administered via IV injection. After given 200 µg/kg SC, the C_{max} was 51150 pg/mL and AUC_{0-t} was 1610675 min•pg/mL. After given 20 µg/kg IV, the C_{max} was 209000 pg/mL and AUC_{0-t} was 2889199 min•pg/mL.</p>
2) Repeated dose toxicity	<p><i>BMN 111 Pilot Feasibility Study in 7-Day-Old Rats (Study BMN111-11-053)</i></p> <p>The purpose of this study was to conduct a preliminary evaluation of the tolerability and feasibility of daily subcutaneous administration of 90 µg/kg/day vosoritide to 7 day old rats prior to initiating a chronic toxicology study in juvenile rats (Study BMN111-11-052).</p> <p>Male and female 7-days old rats were assigned to 2 groups and were dosed with vehicle or 90 µg/kg vosoritide once daily by SC injection for 21 days, from post-natal day (PND) 7 to 28.</p> <p>In conclusion, 90 µg/kg/day vosoritide was well-tolerated in 7-day-old rat pups when administered by daily subcutaneous injection for 3 weeks. Some differences in tail length were observed, indicating a possible pharmacologic effect at this dose level. As a result, this dose level was</p>

selected as the high dose for the GLP repeat-dose toxicity study in juvenile rats.

28-Day Repeat-Dose Subcutaneous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study of BMN 111 in Sprague Dawley Rats with a 7-Day Recovery (Study Report BMN111-11-029)

The purpose of this study was to evaluate the toxicity and determine the TK of vosoritide when administered daily via subcutaneous injection to rats for 28 days and to assess the reversibility, persistence, or delayed occurrence of any effects after a 7-day recovery.

Male and female rats were used in this study. Animals were assigned to 8 groups and were either given vehicle or vosoritide at 50, 150 or 500 µg/kg for 28 days as a single subcutaneous administration.

In conclusion, vosoritide-related findings included 1) the promotion of endochondral bone formation that led to skeletal-related findings reflective of severe exaggerated pharmacology and 2) the presence of total anti-vosoritide antibodies that appeared to have no toxicological significance. Some histological findings seemed to be more severe in males than the females. This could be attributed to the overall greater exposure in males in comparison to females. Findings were generally reversible, except for reduced hind limb mobility, swollen ankles and related macroscopic and microscopic observations in animals given 500 µg/kg vosoritide. The NOAEL for vosoritide was 150 µg/kg in this study based on persistent macroscopic and microscopic tarsal joint findings that limited the use of the hind limbs at the 500 µg/kg dose level. Daily subcutaneous administration of vosoritide to rats for 28 days at 150 µg/kg resulted in a mean C_{max} of 73,333 pg/mL and AUC_{0-t} of 3,381,317 pg*min/mL in males and a mean C_{max} of 36,633 pg/mL and AUC_{0-t} of 1,043,417 pg*min/mL in females.

26-Week Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study by Subcutaneous Administration of BMN 111 in Sprague Dawley Rats with a 28-Day Recovery (Study BMN111-11-036)

The purpose of this study was to evaluate the toxicity and determine the TK of the vosoritide, when administered daily via subcutaneous injection to sexually mature rats for at least 26 weeks and to assess the reversibility, persistence, or delayed occurrence of any effects after a 28-day recovery. Male and female rats were used. At study initiation, rats were at least 8 months of age. Animals were assigned to 8 groups and were either given vehicle control or BMN 111 at 50, 150 or 500 µg/kg daily for 26 weeks (183 doses total) as a single SC administration.

In conclusion, administration of BMN 111 to rats was tolerated as 26 weeks of daily SC injections at dose levels of 50, 150, and 500 µg/kg. BMN 111-related findings included 1) the promotion of endochondral bone formation that led to skeletal-related findings reflective of exaggerated pharmacology, 2) the decrease of the sperm count in males given >150 µg/kg, and 3) the presence of total anti-BMN 111 antibodies that appeared to have no toxicological significance. Some clinical observations and correlating macroscopic and microscopic findings

appeared more severe in males than the females. This could be attributed to the overall greater exposure in males in comparison to females. Based on the persistent bone and joint findings that altered ambulation and resulted in limited use of hind limbs and non-reversible decreased in sperm count in males at $>150 \mu\text{g}/\text{kg}$, the no observed adverse effect level (NOAEL) for BMN 111 is $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ when administered daily via SC injection for 26 weeks.

A 26-Week Subcutaneous Injection Toxicity Study of BMN 111 in the Juvenile Rats Followed by a 6-Week Recovery (Study BMN111-11-052)

The purpose of this study was to evaluate the toxicity and determine the TK of vosoritide on the PND of the rat, including skeletal and reproductive development, when administered daily for 26 weeks, from infancy to maturity, followed by a six-week recovery period to evaluate the reversibility or late onset of any toxic effects. Rats were administered BMN 111 from Days 7 to 188 post partum (young adult) followed by a 6-week recovery period. In addition, the toxicokinetic characteristics of BMN 111 were determined.

The pups were randomized to cross-fostered litters and treatment Groups 1 to 4 on Day 4 post partum (pp). Main, recovery and toxicokinetic (selected for blood collection on Day 188 pp) subset animals were treated once daily with vehicle or BMN 111 at 10, 30, or $90 \mu\text{g}/\text{kg}$ by SC administration from Days 7 to 188 pp, inclusively. Toxicokinetic animals selected for blood collection on Day 7 pp were treated on Day 7 pp only. Males and females from the reproductive subset C were treated once daily starting from Days 7 until 112 pp, inclusively, and were then kept untreated during the mating period until their necropsy.

In conclusion, treatment of juvenile rats from PND 7 to 188 by daily subcutaneous injection of 10, 30, or $90 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ led to a dose-related increase in bone lesions, reductions of bone minerality and density, and reduced biomechanics that corresponded to in vivo observations of reduced limb and joint function and abnormal appearance of joints due to swelling and displaced articular surfaces. These changes were not observed in vivo during early development, with increases in growth (crown-rump and tail length), reduction of BMD/BMC, and clinical signs related to bone overgrowth largely not appearing until rats reached adolescence to adulthood (approximately 8-15 weeks of age). There was a sex difference in incidence and severity of skeletal effects on study, which was likely due to higher vosoritide exposures in males. There were no apparent effects on the behavioral or sexual development of juvenile rats related to treatment with vosoritide.

The NOAEL for juvenile rats treated for 26 weeks was determined to be $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ due to the low prevalence and severity of findings at this dose level. This corresponds to a C_{max} of $680 \text{ pg}/\text{mL}$ and AUC_{0-t} of $22,842 \text{ pg}\cdot\text{min}/\text{mL}$ in males and a mean C_{max} of $527 \text{ pg}/\text{mL}$ and AUC_{0-t} of $10,133 \text{ pg}\cdot\text{min}/\text{mL}$ in females on PND 188.

28-Day Repeat-Dose Subcutaneous Injection Toxicity and Toxicokinetic Study of BMN 111 in Cynomolgus Monkeys with a 7-Day Recovery (Study BMN111-11-019)

The purpose of this study was to evaluate the toxicity and determine the TK of vosoritide when administered daily via subcutaneous injection to cynomolgus monkeys for 28 days and to assess the reversibility, persistence, or delayed occurrence of any effects after a 7-day recovery.

Male and female naïve cynomolgus monkeys were 2-3 years old at study initiation. Animals were assigned to 4 groups and administered vehicle control or vosoritide (20, 90 or 300 µg/kg). Animals were dosed once daily via subcutaneous injection for 28 days, after which period 3 animals/sex in Groups 1 and 4 entered a 7-day recovery phase.

In conclusion, administration of vosoritide to cynomolgus monkeys was well tolerated as 28 daily subcutaneous injections at dose levels of 20, 90, and 300 µg/kg. Vosoritide-related effects were expected and limited to 1) transient increase in heart rate only seen in animals given 300 µg/kg vosoritide, 2) promotion of endochondral bone formation in all vosoritide-treated animals and 3) presence of total anti-vosoritide antibodies in one female with decreased exposure. Males exhibited more pronounced histological effects in the femur than females that were consistent with the higher exposure observed in males. Growth plate observations in the sternum and femur were consistent with the mechanism of action of vosoritide and were partly reversed by the end of the recovery phase; therefore, these observations were not considered adverse. These histological changes were attributed to vosoritide exaggerated pharmacological activity in normal animals receiving high dose levels of vosoritide. As expected, cGMP and CTX-II levels increased in response to vosoritide administration. There were no changes in ANP levels.

No target organ toxicity was defined and the NOAEL for this study was 300 µg/kg when administered daily via subcutaneous injection for 28 days, which correlated with a C_{max} of 132,071 pg/mL and AUC_{0-600m} of 11,646,607 pg*min/mL in males, and a mean C_{max} of 144,357 pg/mL and AUC_{0-600m} of 10,673,021 pg*min/mL in females.

26-Week Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of Subcutaneous Administration of BMN 111 in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery (Study BMN111-11-035)

The purpose of this study was to evaluate the toxicity and determine the TK of vosoritide in juvenile/adolescent cynomolgus monkeys when administered daily for 26 weeks, followed by a 28-day recovery period to evaluate the reversibility or late onset of any toxic effects. This study was conducted in monkeys aged 2-3 years, which are sexually immature and have not reached the average age of growth plate closure of 57 months for males or 63 months for females. Animals were assigned to four groups and were dosed with vehicle or 20, 90, or 300 µg/kg vosoritide once daily for 26 weeks by subcutaneous injection.

In conclusion, daily subcutaneous administration of vosoritide at doses of 20, 90, or 300 µg/kg/day for 26 weeks was well-tolerated in

	<p>cynomolgus monkeys. Vosoritide-related effects were limited to those related to skeletal growth and subsequent functional changes. Clinically significant effects in males appeared to follow differences in exposure as assessed by individual animal C_{max} values on Day 85; this relationship was not apparent in the single affected female. Mild increases in reactogenicity at the injection site were attributed to daily treatment with vosoritide and likely related to or enhanced by immune responses to the test article. Due to the persistent bone and joint clinical effects observed in animals treated with 300 µg/kg, the NOAEL for daily chronic administration in cynomolgus monkeys is 90 µg/kg/day, which corresponds to a C_{max} of 10,984 pg/mL and an AUC_{0-600m} of 523,098 pg*min/mL on Day 176.</p> <p><i>44-Week Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetic Study Following Daily Subcutaneous Administration of BMN 111 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery (Study BMN111-11-043)</i></p> <p>The purpose of this study was to evaluate the toxicity and TK of vosoritide when administered daily via subcutaneous injection to cynomolgus monkeys for at least 44 weeks and to assess the reversibility, persistence, or delayed occurrence of any effects after a 13 week recovery.</p> <p>Male and female cynomolgus monkeys were 4 to 5 years old at study initiation. Animals were randomly assigned to four groups and were dosed with vehicle or 25, 75, or 250 µg/kg vosoritide once daily for 44 weeks by subcutaneous injection.</p> <p>In conclusion, administration of 25, 50, or 250 µg/kg once daily by subcutaneous injection for 44 weeks was tolerated in cynomolgus monkeys. Vosoritide-related effects were limited to expected pharmacologic effects on bone growth and growth plate closure and increased heart rate shortly after dose administration. Based on the persistent bone and joint findings that resulted in limited use of hips and abnormal bone shape, the NOAEL for vosoritide for 44 weeks of daily dosing in cynomolgus monkeys is 25 µg/kg/day, corresponding to a mean C_{max} of 1,170 pg/mL at the termination of the dosing phase.</p>
<p>3) Genotoxicity: in vitro</p>	<p>Genotoxicity studies of vosoritide have not been conducted.</p>
<p>in vivo (including additional assessment on toxicokinetics)</p>	<p>-</p>
<p>4) Carcinogenicity:</p>	<p>Carcinogenicity studies of vosoritide have not been conducted. A carcinogenicity risk assessment for vosoritide was conducted, in consideration of the ICH S1a guideline “The Need for Long-term Rodent Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals,” by (1) considering the mechanism of action of vosoritide; (2) evaluating the literature for the potential influence of vosoritide tumor formation, growth, or metastasis; (3) evaluating the nonclinical toxicology studies conducted with vosoritide for signs of cellular proliferation; and (4) considering the genotoxic potential of vosoritide.</p>

	<p>Using the weight-of-evidence approach, we have determined that conducting standard carcinogenicity studies in rodents with vosoritide is unlikely to provide additional clinically meaningful safety data to predict the potential carcinogenic risk of vosoritide beyond what is already known regarding the antagonism of FGFR3 pathway.</p> <ul style="list-style-type: none"> •There are few direct data on the impact of vosoritide or C-type natriuretic peptide (CNP) on carcinogenesis. The data that are available indicate that CNP (and, by extension, vosoritide) is a weak inhibitor of carcinogenesis (Vesely 2006; Vesely 2016; Zenitani 2016). •Vosoritide antagonizes the FGFR3 pathway, which is why it is an effective therapy for ACH patients, because they possess an FGFR3 gain-of-function mutation. Therefore, the administration of vosoritide is likely to have effects on carcinogenicity by the direct inhibition of the FGFR3 receptor. Therefore, vosoritide administration is likely to inhibit cancer cell growth. •Chronic toxicology studies with vosoritide in rats (6-month; BMN111-11-036, refer to Section 2.6.6.3.3; BMN111-11-052, refer to Section 2.6.6.3.4) and cynomolgus monkeys (6-month juvenile, BMN111-11-035, refer to Section 2.6.6.3.7; 10-month adult, BMN111-11-043, refer to Section 2.6.6.3.7) did not show compelling evidence of proliferative, preneoplastic, or neoplastic lesions by histopathology. •In the 5 years of clinical data available, there is no evidence that vosoritide is a carcinogenesis risk. •Due to the inability of normal animals to tolerate chronic administration of vosoritide, carcinogenicity testing in typical rodent models is unlikely to be feasible or relevant to ACH patients. <p>Given the weight of evidence, vosoritide is not expected to be carcinogenic. The carcinogenic potential of the CNP/FGFR3 axis has been investigated extensively, and there is no compelling reason to believe that vosoritide is carcinogenic. In fact, the available evidence suggests the opposite, that CNP and related peptides may have the potential to inhibit the growth of some tumor types. In addition, vosoritide is unlikely to be well tolerated for an extended time period in healthy animals. Furthermore, these results likely would not be relevant to ACH patients. Therefore, standard carcinogenicity studies in rodents at tolerated doses would not further inform the carcinogenicity risk assessment, are not feasible and are not scientifically warranted. The most clinically meaningful approach to address the potential human carcinogenicity risk of vosoritide, including potential risks that may be specific to the ACH patient population, is through rigorous clinical monitoring and post-marketing surveillance of human patients chronically administered vosoritide. To date (5-years exposure), there is no evidence that vosoritide increases the risk of carcinogenesis in patients.</p>
long-term studies	-
short-term studies or mid-term studies	-

additional studies	-
5) Reproductive and developmental toxicity:	
effects on fertility and early embryonic development	<p><i>Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation of BMN 111 Administered by Subcutaneous Injection in Rats (Study BMN111-14-060)</i></p> <p>The purpose of this study was to evaluate the toxicity and TK of vosoritide treatment in male and female rats before cohabitation, through mating, and implantation of the fertilized embryo. This study was designed to evaluate ICH S5(R3) Stages A and B of the reproductive process and detect potential impacts of vosoritide on the estrous cycle, tubal transport, implantation, and development of preimplantation embryos in females and permit detection of functional effects on male fertility and sexual performance that may not have been detected by histological examination in repeat-dose toxicology studies.</p> <p>Male and female SD rats were 71 days old (males) or 66 days old (females) upon arrival at the facility. Animals were randomly assigned to four treatment groups. Males were treated with vehicle control or vosoritide once daily starting 28 days before cohabitation, throughout the cohabitation period, through the day prior to euthanasia for a total of 50-52 doses of vehicle or vosoritide. Females were treated with vehicle control or vosoritide once daily starting 15 days before cohabitation, throughout the cohabitation period, until gestation day (GD) 7. If mating was not confirmed by the end of the 22-day cohabitation period, the last day of cohabitation was assigned as GD0. In both sexes, vehicle or vosoritide was administered by subcutaneous injection.</p> <p>In conclusion, daily subcutaneous injection of 90, 270, or 540 µg/kg/day vosoritide was tolerated in male rats when delivered prior to and throughout mating (50-52 total doses) and in female rats when delivered for two weeks prior to mating and early gestation. Paternal and maternal effects related to vosoritide pharmacologic effects on bone growth were observed at all dose levels and were considered adverse at doses ≥ 270 µg/kg. As a result, the NOAEL for maternal and paternal toxicity in rats was 90 µg/kg/day, corresponding in males to a Cmax of 13.6 ng/mL and AUC0-t of 411 min*ng/mL on Day 50 and a Cmax of 8.46 ng/mL and AUC0-t of 628 min*ng/mL in females on GD 7. Slightly increased time to mating, decreases in sperm count, and reductions in seminal vesicle weights were observed at 540 µg/kg, but were not considered adverse due to lack of impact on fertility index. The NOAEL for reproductive toxicity in rats was 540 µg/kg, corresponding to a Cmax of 86.1 ng/mL and AUC0-t of 4,510 in males on Day 50 and a Cmax of 45.0 ng/mL and AUC0-t of 3,280 min*ng/mL in females on GD 7.</p>
embryotoxicity	<p><i>An Embryo-Fetal Development Study of BMN 111 Administered by Subcutaneous Injection in Rats (Study BMN111-14-061)</i></p> <p>The purpose of this study was to evaluate the toxicity and TK of vosoritide treatment in pregnant female rats and assess any effects on</p>

development of the embryo and fetus from implantation to closure of the hard palate. This study was designed to evaluate ICH S5(R3) Stages C and D of the reproductive process.

Female SD rats were randomly assigned to four treatment groups. Females were treated with vehicle control or vosoritide (90, 270, 540 µg/kg) once daily starting on GD 6 through GD 17 for the main study and GD 6 through GD 18 for the toxicokinetic study. Vehicle or vosoritide were administered by subcutaneous injection.

In conclusion, daily subcutaneous administration of 0, 90, 270, or 540 µg/kg/day from GD 6 to 17 in pregnant female rats did not produce any maternal or developmental toxicity. The NOAEL for vosoritide for maternal and embryo-fetal development is 540 µg/kg/day, corresponding to a C_{max} of 64.5 ng/mL and $AUC_{(0-t)}$ of 3,950 min*ng/mL.

In conclusion, daily subcutaneous administration of 0, 90, 270, or 540 µg/kg/day from GD 6 to 17 in pregnant female rats did not produce any maternal or developmental toxicity. The NOAEL for vosoritide for maternal and embryo-fetal development is 540 µg/kg/day, corresponding to a C_{max} of 64.5 ng/mL and $AUC_{(0-t)}$ of 3,950 min*ng/mL.

Dose Range-Finding Embryo-Fetal Development Study of BMN 111 by Subcutaneous Injection in Rabbits (Study BMN111-14-055)

The objectives of this study were to provide a preliminary evaluation of the effects of BMN 111 administered subcutaneously on pregnancy and embryo-fetal development. This study was designed to evaluate ICH S5(R3) guideline stages C to D of the reproductive process.

Females were treated with vehicle control or vosoritide (45, 135, 240 µg/kg) once daily starting on GD 7 through GD 19 for the main study and GD 7 through GD 20 for the toxicokinetic study. Vehicle or vosoritide were administered by subcutaneous injection.

In conclusion, vosoritide was generally well tolerated at up to 240 µg/kg/day in pregnant female rabbits. Clinical effects were limited to observations of soft or liquid feces. Effects on embryo-fetal development were typical for effects observed with maternal toxicity to be evaluated further in a larger study. A dose of 240 µg/kg was selected for evaluation in the definitive GLP embryo-fetal toxicity study in rabbits (BMN111-14-081).

An Embryo-Fetal Development Study of BMN 111 by Subcutaneous Injection in Rabbits (Study Report BMN111-14-081)

The purpose of this study was to evaluate the toxicity and TK of vosoritide in pregnant female rabbits and effects on embryo-fetal development consequent to exposure of the dam from the time of implantation to closure of the hard palate. This study was designed to evaluate ICH S5(R3) guideline stages C to D of the reproductive process.

Females were treated with vehicle control or vosoritide (45, 135, 240 µg/kg) once daily starting on GD 7 through GD 19 for the main study and GD 7 through GD 20 for the toxicokinetic study. Vehicle or vosoritide were administered by subcutaneous injection.

	<p>In conclusion, daily subcutaneous administration of 45, 135, or 240 µg/kg/day of vosoritide was well-tolerated in pregnant female rabbits when delivered from GD 7 to 19. There were no effects on pregnancy or embryo-fetal development. As a result, the NOAEL for maternal toxicity and embryo-fetal developmental toxicity in rabbits was determined to be 240 µg/kg/day. This corresponds to a maternal C_{max} of 379 ng/mL and an AUC_(0-t) of 58,000 min*ng/mL on GD 19.</p>
<p>prenatal and postnatal toxicity</p>	<p><i>A Subcutaneous Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Toxicity Study of BMN 111 in Rats, Including Postnatal Behavioral/Functional Evaluation (Study BMN111-18-103)</i></p> <p>The purpose of this study was to evaluate the effects of vosoritide on development of offspring, from embryo-fetal development through sexual maturity, from female rats treated daily from implantation to weaning of offspring. This study was designed to evaluate ICH S5(R3) Stages C through F of the reproductive process, although a cesarean section and examination of fetuses was not conducted in this study.</p> <p>F0 generation female rats were administered the vosoritide (90, 270, 540 µg/kg) and/or the control article formulations by subcutaneous injection once daily on Day 6 of Gestation (DG 6) through Day 20 postpartum. F1 generation pups were not directly given the test article and/or the control article formulations, but were possibly exposed during maternal gestation (in utero exposure) or via maternal milk during the lactation period.</p> <p>In conclusion, daily subcutaneous administration of vosoritide at 90, 270, and 540 µg/kg was well-tolerated in pregnant and lactating female rats when delivered from GD 6 (implantation) to LD 20 (weaning). There were no effects on pre- or post-natal viability or development of offspring born-of and nursing from vosoritide-treated females. Low levels of vosoritide were detectable in milk of treated females, demonstrating possible post-natal exposure of the F1 generation, particularly at the higher dose levels, although drug was only detectable in a single pup that did not nurse prior to collection of plasma. The NOAEL for maternal toxicity and pre- and post-natal developmental toxicity in rats was 540 µg/kg/day, which corresponds to a plasma concentration range of 16.0 to 42.3 ng/mL at 30 minutes post-dose on LD 14.</p>
<p>studies in which medication is administered to the offspring (immature animals) and/or long-term effects are assessed</p>	<p>Studies of vosoritide in the juvenile rats and cynomolgus monkeys are described in clause “Repeated dose toxicity”.</p>
<p>6) local tolerance</p>	<p>Local tolerance was evaluated as part of the repeat-dose toxicity studies. No standalone local tolerance studies were conducted of vosoritide.</p>
<p>7) additional toxicity studies:</p>	<p>No additional toxicity studies were conducted of vosoritide.</p>
<p>antigenicity (antibody response)</p>	<p>-</p>
<p>immunotoxicity</p>	<p>-</p>

<p>study of the mechanisms of action</p>	<p>The series of in vitro studies confirmed the vosoritide molecular mechanism of action: 1) vosoritide binds to NPR-B and NPR-C but not to NPR-A and 2) vosoritide binding resulted in the production of intracellular cGMP and in the inhibition of FGF mediated increases in MAPK phosphorylation. Activity in human growth plate chondrocytes with a gain-of-function FGFR3 mutation was confirmed.</p>
<p>drug dependence</p>	<p>-</p>
<p>toxicity of metabolites</p>	<p>-</p>
<p>toxicity of impurities</p>	<p>-</p>
<p>other</p>	<p>-</p>
<p>5. Conclusions on non-clinical study</p>	<p>The pharmacologic activity of vosoritide was determined to be similar to CNP. Overall, the vosoritide PD and safety profile was related to the vosoritide activity on NPR-B signaling in the growth plate and vasculature. Like CNP, vosoritide promoted endochondral bone formation and altered the vascular tone.</p> <p>ACH is the most common form of short stature often clinically exhibited with disproportional growth manifested as a long narrow trunk and shortening of the proximal part of the arms and legs. The disproportionate short stature leads to functional limitations, having an impact on activities of daily living, and the abnormal bone growth is associated with multiple medical complications that cause considerable morbidity. Nonclinically, in mouse models of ACH, vosoritide has shown to dose dependently lengthen the proximal portions of the fore and hind limbs and rescue other components of the mouse phenotype. Additionally, in normal mice, rats and monkeys vosoritide has shown to dose dependently increase proximal bone and tail length. Cessation of the effect on skeletal growth was noted upon discontinuation of treatment with vosoritide. These effects on growth were at dose levels far below those inducing short-lived symptomatic cardiovascular effects in monkeys. Nonclinical PK characterization indicated that subcutaneous injection of vosoritide is rapidly absorbed and eliminated, with an observed $t_{1/2}$ of less than 20 min following the first dose in rats and monkeys that appears to increase after repeat dosing. Dose-based safety factors (from normal animals) ranged from 0.1x from longer term daily administration studies (greater than or equal to 26 weeks) to 9.5x in short term daily administration studies (28 days) These safety factors are dependent upon findings of exaggerated pharmacological effects in toxicology studies in normal animals, mainly affecting various aspects of bone morphology and development; no off-target effects were observed in nonclinical studies. Given the severity and unmet medical need of patients with ACH, the profound pharmacological effects in nonclinical models, short-lived exposure without accumulation, and well-characterized and pharmacology-related toxicological findings the nonclinical program supported and informed the clinical development of vosoritide and supports the licensure of vosoritide for the treatment of</p>

	treatment of achondroplasia (ACH) in patients whose epiphyses are not closed.
--	---

DocuSigned by:

Ayşe Demirtaş

Oct 24, 2025

5780476258E64F3...

Applicant
(Marketing Authorization Holder)

(signature)

___ Ayşe Demirtaş, Director, Regulatory Affairs International ___

(full name)

ЗВІТ
про доклінічні дослідження

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення)	ВОКСЗОГО
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	<p>Лікарський засіб за повним досьє (автономним досьє) Інший лікарський засіб Нова діюча речовина (ДР) Оригінальний (інноваційний) лікарський засіб (молекула не представлена на ринку України) для лікування рідкісних захворювань, що був зареєстрований Європейським агентством з медичних продуктів (ЕМА) (за централізованою процедурою), згідно пункту 10 (підпункту 10.1) розділу V Порядку наказу МОЗ України від 23 липня 2015 року № 460. Лікарський засіб визначений як препарат обмеженого застосування (препарат-сирота)</p>
2) проведені дослідження	<input checked="" type="checkbox"/> так <input type="checkbox"/> ні якщо ні, обґрунтувати
2. Фармакологія:	
1) первинна фармакодинаміка	<p>Дослідження <i>in vitro</i> <i>Послідовність NPR-A, -B та -C мавп циномолгус та порівняння гомологічності з NPR-A, -B та -C людини (дослідження BMN111-11-044)</i> Послідовності амінокислот у рецепторах натрійуретичного пептиду (NPR) типу А, В та С визначали у мавп циномолгус та порівнювали з послідовностями NPR-A, -B та -C людини за допомогою програмного забезпечення для багаторазового вирівнювання послідовностей CLUSTAL W2 та BOXSHADE 3.21. Послідовність у NPR-A та -B мавп на 99 % ідентична послідовності NPR-A та -B людини, а послідовність NPR-C мавп циномолгус на 98 % ідентична послідовності NPR-C людини. <i>Дослідження стимуляції цГМФ у фібробластах мишей (NIH-3T3) in vitro після обробки BMN 111 (дослідження BMN111-10-110)</i> Фармакологічна активність восоритиду (також відомого як BMN 111) та натрійуретичного пептиду типу С (CNP)22 щодо продукції циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ) була оцінена на іморталізованій лінії ембріональних фібробластів мишей NIH/3T3. Клітини NIH/3T3 інкубували з восоритидом та CNP-22 у різних концентраціях (від 0,001 до 10 мкМ). Продукцію цГМФ вимірювали в клітинних лізатах за допомогою набору для флуоресцентного аналізу Catch point Cyclic-GMP. Висновок: CNP-22 та восоритид мають порівнянну активність. <i>Визначення відносної афінності восоритиду до NPR-A, NPR-B та NPR-C (дослідження BMN111-11-028)</i></p>

Був розроблений конкурентний аналіз передачі сигналів для оцінки відносної афінності (визначеної за 50 % ефективною концентрацією [EC₅₀]) восоритиду, CNP-22 та передсердного натрійуретичного пептиду ANP до NPR різного типу (NPR-A, -B та -C).

Клітини HEK293T (293T) з гіперекспресією NPR-A, -B та -C обробляли різними концентраціями CNP22, ANP або восоритиду окремо або в присутності NPR-C. Продукцію цГМФ вимірювали в клітинних лізатах за допомогою набору для флуоресцентного аналізу Catchpoint Cyclic GMP.

У присутності NPR-C як восоритид, так і CNP-22 зменшували передачу сигналів у 5–10 разів. На відміну від цього, сигналізація ANP через NPR-A знижується майже в 100 разів. Результати свідчать, що характеристики сигналізації восоритиду та CNP-22 були не відрізняються щодо активації NPR-B та конкуренції сигналів NPR-C.

Визначення відносної афінності та активності BMN 111 до NPR-B щурів, мишей, кролів та мавп циномолгус/людини (дослідження BMN111-18-002)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було оцінити подібність афінності та активності восоритиду щодо NPR-B людини та видів тварин, оцінених у доклінічних фармакологічних та токсикологічних дослідженнях восоритиду: щурів, мишей, кролів та мавп циномолгус.

Активність оцінювали в клітинах HEK293T, що експресують NPR-B, мавп циномолгус/людини, мишей, щурів та кролів, поміщених у кількості $0,3\text{--}0,4 \times 10^6$ клітин/лунку в 24-лункових планшетах. Потім клітини інкубували протягом 15 хвилин з CNP-22 або восоритидом у присутності інгібітора фосфодіестерази після досягнення оптимальної щільності клітин. Реакції були зупинені, а продукція цГМФ було визначено методом конкурентного ELISA.

Афінність оцінювали шляхом проведення тестів на насичення зв'язування та дисоціацію міченого ліганду.

Висновок: восоритид продемонстрував активність у всіх досліджуваних видів. Також було підтверджено подібну афінність восоритиду до іммобілізованого NPR-B у всіх видів.

Активність BMN 111 в первинних хондроцитах людини in vitro (дослідження BMN111-11-004)

Метою цього дослідження було порівняння здатності восоритиду та CNP-22 активувати рецептори NPR-B людини в первинних нормальних та ахондропластичних суглобових хондроцитах людини шляхом вимірювання цГМФ, нисхідного медіатора NPR-B.

Нормальні суглобові хондроцити людини, виділені від здорового донора, обробляли восоритидом або CNP22 (в діапазоні доз від

0,001 до 10 мкМ). Рівні цГМФ вимірювали в клітинних лізатах за допомогою набору для імуноферментного аналізу цГМФ.

Після обробки CNP-22 або восоритидом у хондроцитах спостерігалось дозозалежне збільшення продукції цГМФ, що підтвердило, що восоритид, як і CNP-22, активував NPR-B у суглобових хондроцитах людини.

Нормальні суглобові хондроцити людини трансфікували рецептором 3 фактора росту фібробластів (FGFR3^{G380R}) для створення моделі ахондроплазії людини (ACH) *in vitro*. Активність восоритиду (фосфорилування позаклітинної сигнал-регульованої кінази [ERK] і продукція цГМФ) була порівнянною в суглобових хондроцитах людини FGFR3^{wt} і FGFR3^{G380R}.

Оцінка in vitro впливу BMN 111 на іморталізовані або первинні нормальні хондроцити та хондроцити ростової пластинки людини, уражені ахондроплазією або танатофорною дисплазією (дослідження BMN111-10-086)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було оцінити вплив восоритиду на клітинну активність первинних та іморталізованих хондроцитів ростових пластинок, виділених у здорових ембріонів людини та хворих на ACH або танатофорну дисплазію (TD). Зокрема, оцінювали мітоген-активовану протеїнкіназу (MAPK) та позаклітинні сигнал-регульовані кінази (ERK) 1/2.

Було розроблено два протоколи культивування клітин: один для іморталізованих хондроцитів, а другий для первинних хондроцитів. Іморталізовані та первинні хондроцити культивували в безсироватковому середовищі протягом 48 годин або 24 годин відповідно, потім інкубували разом з восоритидом (10⁵ M) протягом 48 годин або 5 хвилин відповідно, потім промивали і, нарешті, інкубували разом з фактором росту фібробластів (FGF) 2 або FGF18 (100 нг/мл) протягом 1 години або 5 хвилин відповідно.

Клітинні лізати були підготовлені для аналізу методом вестерн-блот. Фосфорильовані ERK1 і ERK2 були виявлені за допомогою антитіла фосфо-P42/44 MAPK (ERK1/2).

Висновок: попередня обробка восоритидом нормальних, ACH і TD хондроцитів з ростової пластинки людини частково запобігла опосередкованому FGF збільшенню фосфорилування MAPK (ERK1/2).

Оцінка частоти введення щодо пригнічення сигналізації FGF2 та відновлення проліферації і формування матриксу за допомогою BMN 111 (дослідження RS19-001)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було охарактеризувати вплив восоритиду на сигналізацію, індуковану FGF2, та пригнічення проліферації і відкладення матриксу в клітинах хондросаркоми щурів (RCS).

Оцінювали вплив безперервного, одноразового та дворазового щоденного введення BMN 111 на сигналізацію FGF2, проліферацію та формування матриксу в клітинах RCS. Кожна схема дозування мала значний оборотний вплив на супресивні ефекти сигналізації FGF2. BMN 111 блокував опосередковану FGF2 активацію ERK1/2 протягом 60 хвилин. Оброблені BMN 111 клітини RCS відновили проліферацію та утворення матриксу, пригнічені сигналом FGF2. Не було виявлено статистичних відмінностей між схемами дозування, що свідчить про те, що більш часте дозування BMN 111 не прискорює проліферативну реакцію.

Дослідження *ex vivo*

Оцінка ендохондрального росту кісток у кісткових експлантатах ембріонів (E16.5) мишей FGFR3^{Y367C/+} (TD), яким вводили BMN 111, in vitro (дослідження BMN111-10-002)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було охарактеризувати фармакологічну активність восоритиду в *ex vivo* моделі тяжкої АСН (миші Fgfr3^{Y367C/+} [TD]).

У 1-й день були виділені стегові кістки ембріонів «дикого» (немутованого) типу (WT) і уражених TD (ембріональний вік E16,5) і виміряно їх довжину. Потім стегові кістки інкубували протягом 6 днів з восоритидом (ліва стегова кістка, від 10⁻⁶ до 10⁻¹⁰ M) або з носієм лікарського засобу (права стегова кістка). На 7-й день стегові кістки виміряли і піддавали гістологічній обробці.

Максимальний ефект збільшення довжини стегової кістки спостерігався для BMN 111 як при 10⁻⁶M, так і при 10⁻⁷M при інкубуванні зі стеговими кістками протягом 6 днів. Інкубування разом із BMN 111 частково відновило процес ендохондрального формування проксимальних кісток з тяжким ахондропластичним фенотипом шляхом часткової нормалізації клітинного циклу та поліпшення розміру і архітектури ростової пластинки.

Дослідження *in vivo*

Оцінка ендохондрального росту кісток мишей FGFR3^{Y367C} (TD) після багаторазового підшкірного введення BMN 111 (дослідження BMN111-10-046)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, була оцінка впливу на загальний розвиток, включаючи ріст скелета, підшкірного введення восоритиду 1 раз на добу протягом 10 днів 7-денним мишам з TD. Молодим 7-денним мишам з TD (мутація FgfrY367C/+) та тваринам WT з того самого приплоду вводили носій лікарського засобу або восоритид у дозі 240 або 800 мкг/кг шляхом підшкірного введення 1 раз на добу протягом 10 днів. Тваринам WT вводили лише носій лікарського засобу для використання як порівняння з нормальним ростом. Тривалість дослідження становила 10 днів. Мишей піддавали евтаназії на 11-й день дослідження (у віці 17 днів), наступного дня після

останнього введення восоритиду.

Введення BMN 111 добре переносилося в цьому дослідженні. У більшості тварин, яким вводили BMN 111 у дозі 800 мкг/кг, спостерігалось тимчасове зниження рухової активності після введення препарату протягом приблизно 2 годин після введення у перші 5 днів лікування. Щоденне підшкірне введення BMN 111 протягом 10 днів сприяло зросту осьового та апендикулярного скелетів у мишачій моделі тяжкої ахондроплазії. Спостерігалось часткове відновлення дефекту ростової пластинки. Не було відмічено посилення стенозу хребта, а також спостерігалось зменшення диспропорції тіла завдяки переважному зростанню апендикулярного скелета порівняно з осьовим.

Пілотне дослідження з оцінки загального розвитку та ендохондрального росту кісток у мишей $Fgfr3^{Y367C/+}$ (TD), яким щодня протягом 20 днів підшкірно вводили BMN 111 (дослідження BMN111-11-045)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було оцінити вплив на загальний розвиток та ріст кісток восоритиду при щоденному підшкірному введенні протягом 20 днів нестатевозрілим мишам з TD.

Семиденним мишам з TD вводили носій лікарського засобу або восоритид у дозі 800 мкг/кг шляхом підшкірної ін'єкції в спину один раз на добу протягом 20 днів. Тваринам WT ($Fgfr3^{+/+}$) вводили лише носій для використання як порівняння з нормальним ростом. Це було пілотне дослідження з метою вивчення тривалості введення восоритиду протягом 20 днів, оскільки тривалість попереднього дослідження на мишах з TD становила лише 10 днів (див. дослідження BMN111-10-046).

Введення BMN 111 добре переносилося в цьому дослідженні. У більшості мишей з TD, яким вводили BMN 111 у дозі 800 мкг/кг/добу, спостерігалось тимчасове зниження рухової активності (гіпоактивність) протягом приблизно 5–10 хвилин після введення препарату в перші 4–5 днів лікування, а на 21-й день дослідження спостерігалися надмірні фармакологічні ефекти у вигляді рухливості задніх кінцівок, вигині хвоста та скручених лап. Підшкірне введення BMN 111 1 раз на добу протягом 20 днів сприяло зростанню осьового та апендикулярного скелетів у мишачій моделі тяжкої АСН. Спостерігалось значне поліпшення фенотипічного вигляду, що включало виражене сплюснення черепа з видимою мордою, зменшення прогнатії, збільшення лап і пальців, подовження і випрямлення великогомілкової та стегнової кісток, а також відновлення дефекту ростової пластинки. Ці результати були більш вражаючими порівняно з попереднім підшкірним введенням мишам з TD 1 раз на добу протягом лише 10 днів.

Оцінка росту кісток мишей $FGFR3^{ach}$ після підшкірного

введення BMN 111 протягом 36 днів (дослідження BMN111-11-001)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, була оцінка впливу восоритиду на мишей FGFR3^{ach}, мишачу модель АСН.

Тритижневим самцям мишей з АСН та тваринам WT (мишача модель Fgfr3^{G380R} [FVB]) з того самого приплоду щодня протягом 36 днів підшкірно вводили восоритид у дозі 20, 80 або 280 мкг/кг або носій лікарського засобу.

Щоденне підшкірне введення восоритиду протягом 36 днів у дозах 20, 80 і 280 мкг/кг призвело до дозозалежного росту осьового та апендикулярного скелетів у мишей з АСН без явних клінічних ознак з боку серцево-судинної системи. Нормалізація або надмірна корекція фенотипу карликовості спостерігалася при дозі восоритиду 280 мкг/кг. Клінічні ознаки, пов'язані з надмірним фармакологічним ефектом, спостерігалися лише при дозі 280 мкг/кг і полягали в легкому вигині хвоста.

Було проведено три дослідження *in vivo*, що не відповідають стандартам GLP, на 3-тижневих мишах WT FVB з метою характеристики фармакологічної дії восоритиду на ріст скелета та загальний розвиток.

Оцінка ендохондрального росту кісток мишей FVB після багаторазового підшкірного введення аналогів CNP у різних дозах (дослідження 0111-09-048)

У цьому дослідженні оцінювали вплив декількох аналогів CNP у різних дозах на ендохондральний ріст кісток мишей дикого типу FVB при багаторазовому підшкірному введенні протягом 36 днів.

У тварин, які отримували BMN111-C (200 нмоль/кг), BMN111-B3 (20 нмоль/кг), BMN111-B3 (70 нмоль/кг) та BMN111-C (70 нмоль/кг), на 21-й день виявили статистично значуще викривлення лап. На 28-й день рух задніх кінцівок у всіх групах, крім CNP-A (E/D) (20 нмоль/кг), та вигин хвоста у всіх групах досягли статистичної значущості порівняно з групою, яка отримувала носій лікарського засобу. Порушення руху задніх кінцівок досягло статистичної значущості у тварин, які отримували BMN111-B3 (70 нмоль/кг), BMN111-B3 (20 нмоль/кг), BMN111-C (200 нмоль/кг) та BMN111-C (70 нмоль/кг).

Мінеральний склад і щільність кісток відрізнялися у тварин, які отримували CNP-A (E/D) (200 нмоль/кг), BMN111-B2 (70 нмоль/кг) або BMN111-B3 (70 нмоль/кг), порівняно з групою, яка отримувала носій лікарського засобу, що свідчить про можливу недостатню мінералізацію.

Загалом, лікування BMN111-B2 та BMN111-B3 призвело до збільшення довжини тіла, хвоста та кісток тварин порівняно з тваринами, які отримували носій лікарського засобу. В групах, які

отримували CNP-A (E/D) (200 нмоль/кг) та BNM111-C, виявлено подібну картину змін, але статистична значущість не була однаковою для всіх вимірювань.

У всіх групах лікування, включаючи контрольну групу, були виявлені ознаки легкого запалення легенів, яке найчастіше асоціювалося з кровоносними судинами. У групі носія лікарського засобу в зразках легенів, забарвлених за методом фон Косса, мінералізації виявлено не було. У більшості зразків у всіх групах лікування була виявлена мінімальна мінералізація.

Оцінка ендохондрального росту кісток мишей FVB після різних схем підшкірного введення одного аналога CNP (дослідження BNM111-09-074)

У цьому дослідженні оцінювали вплив аналога CNP (BNM111-B3) у різних дозах та режимах введення на ендохондральний ріст кісток у мишей дикого типу FVB при введенні протягом 9 тижнів з подальшим однотижневим періодом відновлення.

Дози вводили шляхом підшкірної ін'єкції, як показано в таблиці.

Група	Рівень дози	Частота введення
1 (носій лікарського засобу)	0	1 раз на добу протягом 9 тижнів
2	80 мкг/кг (20 нмоль/кг)	1 раз на добу протягом 1 тижня, потім 3 рази на тиждень (день 1, 3 і 5 кожного тижня) протягом 8 тижнів
3	80 мкг/кг (20 нмоль/кг)	1 раз на добу через тиждень (тижні 1, 3, 5, 7, 9)
4	20 мкг/кг (5 нмоль/кг)	1 раз на добу 9 тижнів
5	20 мкг/кг (5 нмоль/кг)	1 раз на добу 5 тижнів

У всіх групах, які отримували BNM111-B3 у різних дозах та за різними схемами, спостерігався значно вищий ріст порівняно з тваринами, які отримували носій лікарського засобу. Хоча всі схеми дозування BNM111-B3 сприяли збільшенню вимірюваних показників осьового та апендикулярного росту, щоденне введення BNM111-B3 очевидно переважно сприяло апендикулярному росту при нижчому рівні загальної дози порівняно зі схемами з менш частим введенням. У групі 3, в якій BNM111-B3 вводили через тиждень, нормальна швидкість росту відновлювалася в тиждні, коли лікування призупинялось.

Оцінка ендохондрального росту кісток мишей FVB після багаторазового підшкірного введення відібраного готового

аналога CNP (дослідження BMN111-09-075)

У цьому дослідженні оцінювали вплив аналога CNP, BMN111-B3, у різних дозах на ендохондральний ріст кісток у мишей дикого типу FVB при багаторазовому підшкірному введенні протягом 36 днів.

У тварин, які отримували BMN111-B3 (20 нмоль/кг) та BMN111-B3 (70 нмоль/кг), на 20-й день виявлено статистично значуще викривлення лап. Рухи задніх кінцівок, вигин хвоста, набряк суглобів і згорблена поза у всіх групах досягли статистичної значущості порівняно з групою, що отримувала носій лікарського засобу, на 16-й день. Маса тіла тварин, які отримували BMN111-B3 (70 нмоль/кг), значно збільшилася, починаючи з 20-го дня. Не було виявлено статистично значущих відмінностей у гістоморфометричних показниках між групами, які отримували носій лікарського засобу та BMN111-B3 (70 нмоль/кг).

Загалом, лікування BMN111-B3 призвело до збільшення довжини тіла, хвоста та кісток тварин у порівнянні з тваринами, які отримували носій лікарського засобу.

Оцінка впливу, пов'язаного з ростом кісток, у щурів Sprague Dawley після підшкірного введення BMN 111 протягом 36 днів (дослідження BMN111-11-017)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, була оцінка пов'язаного із ростом кісток впливу восоритиду на ріст осевого та апендикулярного скелета 8-місячних самців щурів Sprague Dawley.

Восьмимісячним самцям щурів Sprague Dawley, розподіленим на 4 групи по 10 тварин, щодня протягом 36 днів підшкірно у спину вводили восоритид (80, 240, 800 мкг/кг) або носій лікарського засобу.

Лікування зрілих щурів Sprague Dawley протягом 36 днів аналогом CNP у різних дозах призвело до збільшення кінцевих показників носо-анальної довжини після введення 240 і 800 мкг/кг BMN 111, збільшення довжини хвоста на 4, 5 і 6 тижні після введення 240 мкг/кг BMN 111, а також збільшення довжини правої і лівої стегнової кістки та сумарної довжини лівої і правої стегнової кістки після введення 80, 240 або 800 мкг/кг BMN 111.

Ці спостереження корелювали з гістологічними змінами в ділянках, пов'язаних із ростом кісток. У жодній з груп не було виявлено відмінностей у масі тіла тварин, мінеральному складі кісток, площі кісток або мінеральній щільності кісток. Рівні BMN 111 у плазмі підтвердили експозицію в цьому дослідженні.

6-місячне пілотне дослідження фармакокінетики, фармакодинаміки та безпеки підшкірних ін'єкцій на мавпах циномогус (дослідження BMN111-09-072)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було визначення фармакокінетичного (ФК) та

	<p>фармакодинамічного (ФД) профілю досліджуваного препарату, восоритиду, а також попередня оцінка безпеки після щоденного підшкірного введення мавпам циномогус протягом 181 дня. Тваринам один раз на добу підшкірно вводили носій лікарського засобу або восоритид (9 або 33 мкг/кг) у ділянку спини.</p> <p>Щоденне введення BMN111-B3 шляхом підшкірної ін'єкції протягом 181 дня поспіль самцям мавп циномогус у дозах 0, 9 та 33 мкг/кг/добу добре переносилося. Ефекти, пов'язані з BMN111-B3, включали помірне збільшення росту кісток, швидкості росту кісток та збільшення розміру (ширини та об'єму) і активності (збільшення кількості/розміру хондроцитів гіпертрофічної зони) ростових пластинок у тварин, яким вводили ≥ 9 мкг/кг/день BMN111-B3. Середня площа отвору хребців L2, 3 та 4 мала тенденцію до збільшення в групі з високою дозою BMN111-B3 порівняно з контрольною групою. Це супроводжувалося тенденцією до збільшення загальної та кісткової лужної фосфатази в сироватці крові. Не було виявлено впливу на кістковий об'єм або метаболізм. Не було виявлено антитіл до BMN111-B3. Не було виявлено ознак відкладення кальцію в легенях.</p>
<p>2) вторинна фармакодинаміка</p>	<p><i>SpectrumScreen[®]: нецільова активність BMN 111 (дослідження BMN111-11-026)</i></p> <p>Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було оцінити нецільові ефекти восоритиду на панелі <i>in vitro</i> тестів зв'язування з рецепторами.</p> <p>Восоритид (11,44 мкМ у водному цитратному буфері 5 мМ, рН 5,5) інкубували з 165 різними рецепторами або каналозалежними клітинними системами, включаючи NPR-A. Рецептори/канали зі значним позитивним інгібуванням (визначеним як ≥ 50 %) потім інкубували з восоритидом у концентраціях 11,44, 1,144, 0,1144 та 0,01144 мкМ для визначення значень IC_{50}. Було підтверджено, що 8 рецепторів/каналів (включаючи NPR-A) мають позитивне інгібування зі значеннями IC_{50} в діапазоні від 2,1 до 11,4 мкМ (від 8 до 46 мкг/мл), але при прогнозованій клінічній експозиції не очікується нецільової фармакологічної активності, оскільки на основі прогнозованої C_{max} у мавп, яким підшкірно вводили 5 мкг/кг восоритиду, було розраховано коефіцієнт безпеки понад 115 000х. Ці дані також підтверджують відсутність афінності восоритиду до NPR-A.</p>
<p>3) фармакологія безпеки</p>	<p>Фармакологія безпеки <i>in vitro</i></p> <p><i>Вплив BMN 111 на клоновані калієві канали hERG, що експресуються в ембріональних клітинах нирок людини (дослідження BMN111-11-023)</i></p> <p>Метою цього дослідження за стандартами GLP було дослідження <i>in vitro</i> впливу восоритиду на потік у каналах hERG людини (замінник I_{Kr}, швидкоактивований, серцевий калієвий</p>

потік уповільненого випрямлення) при температурі, близькій до фізіологічної.

Клітини HEK293, що експресують канали hERG, інкубували при 33–35 °C з трьома повторами в присутності 0, 50, 300, 2500 та 5000 мкг/мл восоритиду. Терфенадин використовували як позитивний контроль.

Восоритид інгібував потік в hERG на (середнє ± СПС) $1,8 \pm 1,2$ % при 50 мкг/мл порівняно з $1,4 \pm 0,7$ % контрольної речовини. Інгібування hERG при 50 мкг/мл не було статистично значущим ($P < 0,05$) у порівнянні з контрольними значеннями носія лікарського засобу. IC_{50} для інгібуючого ефекту восоритиду на калієвий потік в каналах hERG не можна було обчислити, але його оцінили як більший за 50 мкг/мл.

Фармакологія безпеки *in vivo*

Кардіологічне дослідження на анестезованих самцях мишей FVB з вивчення впливу BMN111-B2, BMN111-C, BMN111-B3, BMN111-C2 та CNP-A (E/D) при підшкірному введенні (дослідження BMN111-09-060)

Метою дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було визначення діапазону доз, активних для серцево-судинної системи (ССС) та пілотне дослідження токсичності різних аналогів CNP після підшкірного введення анестезованим мишам. У цьому документі наведено лише дані, що стосуються восоритиду.

Самців мишей FVB було розподілено на 5 груп відповідно до рівня дози восоритиду: 0 (контроль), низька, середня, висока та дуже висока (80, 280, 800 та 8000 мкг/кг відповідно). Восоритид або носій лікарського засобу вводили підшкірно в поперекову ділянку миші.

Клінічних ознак, пов'язаних з восоритидом, не спостерігалось. Підшкірне введення восоритиду призвело до дозозалежного зниження середнього артеріального тиску (САТ). У найнижчій точці зміни від вихідного рівня становили -11 %, -12 %, -17 % та -25 % при дозах 80, 280, 800 та 8000 мкг/кг відповідно.

Зниження САТ відбувалося зразу після введення дози і тривало приблизно 30 хвилин. Ступінь компенсаторних змін ЧСС був загалом обмеженим через наявність анестезії і становив від +3 % при 80 мкг/кг до +10 % при 8000 мкг/кг, за винятком дози 800 мкг/кг, при якій ЧСС збільшилася на 15 %.

Не було виявлено змін частоти дихання або температури тіла, пов'язаних з восоритидом. При аутопсії не було виявлено макроскопічних змін, пов'язаних з восоритидом.

Оцінка фармакології безпеки BMN 111 щодо центральної нервової системи після одноразового підшкірного введення шурам (дослідження BMN111-11-021)

Метою цього дослідження за стандартами GLP було оцінити неврологічні ефекти та визначити токсикокінетичні (ТК)

параметри восоритиду при одноразовому підшкірному введенні самцям і самкам щурів. Неврологічні ефекти оцінювали за допомогою модифікованої оцінки Ірвіна.

Тварин розподілили на 8 груп залежно від маси тіла та вводили носій лікарського засобу або восоритид у дозі 30, 100 або 300 мкг/кг шляхом одноразової підшкірної ін'єкції в дорсальну ділянку.

Порівняння середніх значень C_{max} та AUC_{0-t} для різних доз продемонструвало приблизно пропорційне до дози збільшення експозиції між 30 та 300 мкг/кг восоритиду після одноразового підшкірного введення.

Не було виявлено впливу восоритиду на смертність або клінічні ознаки. Не було виявлено впливу восоритиду на модифіковану оцінку Ірвіна (тести функціонування центральної та периферичної нервової системи), що викликає фізіологічні проблеми.

Оцінка фармакології безпеки BMN 111 щодо респіраторної системи за допомогою плетизмографії тіла після одноразового підшкірного введення самцям щурів (дослідження BMN111-11-022)

Метою цього дослідження за стандартами GLP було оцінити вплив восоритиду на респіраторну функцію, що визначалося за дихальним об'ємом, частотою дихання та хвилинним об'ємом, при одноразовому підшкірному введенні самцям щурів. Вплив на дихальну систему оцінювали за допомогою методу плетизмографії тіла.

Самців щурів породи Sprague Dawley рандомно розподілили на 4 групи та вводили носій лікарського засобу або восоритид у дозах 30, 100 або 300 мкг/кг одноразово підшкірно в дорсальну грудну ділянку.

Введення восоритиду не впливало на смертність, клінічні ознаки або респіраторну функцію, оцінену за вимірюванням дихального об'єму, частоти дихання та хвилинного об'єму протягом 6 годин після введення дози.

Дослідження з визначення діапазону підвищення доз та 7-денне дослідження гемодинаміки, токсичності та токсикокінетики після багаторазового підшкірного введення BMN111-B3 мавпам з телеметричним моніторингом (фаза I та II). (дослідження BMN111-09-067)

Метою дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було визначення максимальної переносимої дози (МПД) восоритиду щодо серцево-судинної функції при одноразовому підшкірному введенні анестезованим та активним мавпам циномоглус (фаза I дослідження), а потім спостереження за впливом цієї МПД та дози, що в 2,5 рази перевищувала МПД, при введенні активним мавпам 1 раз на добу протягом 7 днів поспіль (фаза II дослідження).

Дані, отримані в цьому дослідженні, виявили пов'язане з

лікуванням зниження артеріального тиску (АТ) з підвищенням ЧСС у анестезованих і активних мавп циномолгус після підшкірного введення VMN111-B3. Хоча ефекти у тварин, які отримували однакову дозу, були різними, у активних мавп при дозі 28 мкг/кг (номінальна доза 80 мкг/кг) і вище спостерігалися легкі або помірні ефекти, що характеризувалися зниженням АТ з компенсаторним збільшенням ЧСС. Ймовірно, через ослаблення компенсаторного збільшення ЧСС, анестезовані тварини були більш чутливими до гіпотензивного ефекту VMN111-B3, причому деяке зниження АТ було відзначено при дозі 14 мкг/кг (номінальна доза 40 мкг/кг). Ці ефекти з боку ССС були тимчасовими, досягали максимуму приблизно через 30 хвилин після введення дози і були повністю оборотними при всіх випробуваних дозах.

Підшкірне введення VMN111-B3 через хірургічно імплантовані катетери для дистанційного дозування кативним мавпам циномолгус у дозах 28 і 70 мкг/кг/день (номінальні дози 80 і 200 мкг/кг/день) протягом 7 днів поспіль призвело до дозозалежного зниження АТ і підвищення ЧСС. Ці ефекти були швидкими, мінущими і менш вираженими після наступних введень препарату, що свідчить про певний ступінь десенсибілізації.

Електрокардіограми показали два спорадичні випадки, які вважалися пов'язаними з підвищенням ЧСС. Не було виявлено будь-якого пов'язаного з лікуванням впливу на гематологічні, біохімічні параметри або показники аналізу сечі. При аутопсії у жодної тварини не було виявлено грубих аномалій або змін маси органів. Не було виявлено гістологічних аномалій, за винятком від мінімального до помірного розширення епіфізарних ростових пластинок, особливо гіпертрофічної зони хондроцитів, у всіх тварин, які отримували VMN111-B3. У місцях ін'єкцій було виявлено запалення та незначні крововиливи в підшкірній клітковині, які були більш вираженими у тварин, які отримували VMN111-B3.

Пілотне дослідження з оцінки фармакології безпеки VMN 111 щодо ССС після підшкірного введення активним мавпам циномолгус з телеметричним моніторингом (дослідження VMN111-11-041)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було визначення схеми дозування, яка могла б бути використана в майбутніх дослідженнях фармакології безпеки щодо ССС з дизайном латинського квадрата з використанням досліджуваного препарату восоритид. Параметри серцево-судинної функції оцінювали після одноразового підшкірного введення мавпам циномолгус дози 250 мкг/кг з різними періодами відмивання від 1 до 7 днів. Це дослідження визначило необхідний проміжок часу («вікно») між 2 послідовними введеннями восоритиду для

відновлення реакції ССС, подібної до реакції у тварин, які не отримували препарат.

Вісім самців мавп циномолгус отримали підшкірне введення носія лікарського засобу (0 мкг/кг) для встановлення вихідних показників серцево-судинної функції, а потім отримали восоритид у дозі 250 мкг/кг шляхом підшкірного введення на 1-й і 11-й дні. Тварини групи 1 також отримали підшкірні введення на 8-й, 22-й, 24-й і 25-й дні. Тварини групи 2 продовжували отримувати підшкірні введення в 14, 16 і 17 дні.

Всі тварини вижили протягом дослідження. Зниження активності в 1-й день спостерігалось у 5 з 8 мавп після введення першої дози восоритиду через 40–60 хвилин після введення. Це, ймовірно, було пов'язано зі зниженням АТ, спричиненим восоритидом. Інших змін у клінічному стані протягом дослідження не відзначалося.

Як правило, зниження САТ спостерігалось починаючи з 30-ї хвилини і тривало до 120 хвилин після введення дози, причому мінімальне значення спостерігалось від 30 до 60 хвилини. При введенні восоритиду протягом 2 днів поспіль спостерігалось послаблення зниження АТ. При введенні восоритиду з інтервалом у 2 дні або при більш тривалих періодах відмивання спостерігалась реакція з боку ССС, подібна до такої у тварин, які не отримували препарат. Компенсаторне підвищення ЧСС вимірювалося до 90 хвилин після введення, і адаптації не спостерігалось. Приблизно через 100 і 200 хвилин після введення, коли АТ поверталось до вихідних значень, спостерігалось додаткове незначне (~ 5 мм рт. ст.) і тимчасове (< 30 хвилин) зниження АТ. Загалом, всі гемодинамічні зміни поверталися до вихідних значень через 360 хвилин після введення восоритиду.

Оцінка фармакології безпеки VMN 111 щодо ССС при введенні шляхом швидкої підшкірної інфузії активним самцям людиноподібних приматів з телеметричним моніторингом (дослідження VMN111-11-040)

Метою цього дослідження за стандартами GLP було оцінити потенційний вплив восоритиду на ССС самців мавп циномолгус за допомогою телеметричного моніторингу. Восоритид вводили тваринам шляхом швидкої дистанційної підшкірної інфузії за схемою подвійного латинського квадрата (фаза I) та за схемою 7-денного дослідження з повторним введенням дози (фаза II).

Тварин розподілили за схемою подвійного латинського квадрата для фази I цього дослідження. Кожна тварина отримувала 1 з 4 доз (у заздалегідь визначеному порядку) на 1, 4, 8 та 11 день. 3-денний період вимивання між введеннями був визначений у пілотному дослідженні. Препарат вводили дистанційно шляхом швидкої підшкірної інфузії протягом 2 хвилин. Кожен день введення дози тваринам вводили носій лікарського засобу або восоритид у дозі

	<p>10, 50 або 200 мкг/кг.</p> <p>Для фази II всі тварини були переведені з фази I і отримували восоритид у дозі 200 мкг/кг щодня протягом 7 днів у об'ємі 1 мл/кг.</p> <p>У фазі I не було зафіксовано пов'язаних з восоритидом смертності, захворюваності, клінічних ознак або впливу на споживання їжі чи масу тіла. Було відмічено залежне від дози підвищення ЧСС та зниження АТ, які відновлювалися через 19 годин після введення дози. Незначні зміни АТ або ЧСС чи їх відсутність спостерігалися у мавп, яким вводили 10 мкг/кг восоритиду. У тварин, яким вводили 200 мкг/кг, гемодинамічні ефекти наставали швидше і тривали довше, ніж у тварин, яким вводили 50 мкг/кг. Максимальний ефект досягався протягом 15–30 хвилин після введення дози у тварин, яким вводили 200 мкг/кг, і протягом 1,75 або 2 годин у тварин, яким вводили 50 або 10 мкг/кг відповідно. У найнижчій точці зниження АТ становило 6,8 % та 12,2 % у тварин, яким вводили 50 та 200 мкг/кг відповідно. Максимальне підвищення ЧСС становило ~ 37 % та ~ 49 % у тварин, яким вводили 50 та 200 мкг/кг відповідно. Всі оцінені параметри ЕКГ були визнані якісно нормальними. Деякі інтервали були скорочені (наприклад, PR, QT і QTcB), але тривалість QRS не змінилася. Ці зміни були визнані вторинними щодо збільшення ЧСС і не становили фізіологічних проблем.</p> <p>У фазі II пов'язані з восоритидом клінічні ознаки обмежувалися ідіосинкразичними короткими та повторюваними епізодами лежання на грудині або на боку у 3/8 тварин протягом першої години після введення в частині дослідження з повторним введенням дози. Це, ймовірно, може бути пов'язано з гемодинамічними ефектами восоритиду, але незрозуміло, чому клінічні спостереження лежання були виявлені тільки у фазі II. Восоритид швидко знижував АТ і підвищував ЧСС з аналогічним часом і величиною, як і у фазі I. Вплив на АТ у наступні дні був загалом меншим за величиною і з'являвся пізніше, що було схоже на вплив нижчих доз у фазі I. Хоча АТ менше змінювався після початкової дози, спостерігалася лише мінімальна адаптація до щоденного прийому. Не було виявлено очевидної адаптації ЧСС.</p>
4) фармакодинамічні взаємодії	Дослідження фармакодинамічної взаємодії не проводились.
3. Фармакокінетика:	
1) аналітичні методики та звіти щодо їх валідації	<p>Аналіз концентрацій восоритиду в розчинах препарату проводився за допомогою валідованого методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) (звіт щодо валідації BMN111-11-005).</p> <p>Кількісне вимірювання концентрацій восоритиду в плазмі крові для підтримки аналізів ФК у ранніх дослідженнях на щурах та дослідженнях на мавпах було проведено за допомогою</p>

	<p>валідованого імуноферментного аналізу (ELISA; валідація ELISA плазми крові щурів BMN111-10-102; валідація ELISA плазми крові мавп BMN111-10-103).</p> <p>Кількісне вимірювання концентрацій восоритиду в плазмі крові в пізніших дослідженнях на щурах, одному дослідженні на кролях та одному дослідженні на мавпах було проведено за допомогою валідованого електрохемилюмінесцентного аналізу (ECLA) (валідація ECLA для плазми крові щурів BMN111-14-063, валідація ECLA для плазми крові кролів BMN111-14-059, валідація ECLA для плазми крові мавп BMN111-13-005).</p> <p>Метод оцінки ФК в плазмі крові щурів був охарактеризований для вимірювання восоритиду в плазмі крові мишей (звіт з характеристики BAS-GR-15-039) для підтримки дослідження ФК у мишей, що не відповідає стандартам GLP.</p> <p>Метод ECLA в плазмі крові щурів був адаптований для напівкількісного вимірювання восоритиду в молоці щурів (звіт щодо валідації BMN111-18-106).</p> <p>Напівкількісне вимірювання загального рівня антитіл до восоритиду (Tab) в сироватці крові щурів, мавп і кролів на підтримку ранніх і пізніших досліджень на щурах, дослідження на мавпах та одного дослідження на кролях було проведено з використанням валідованого перехідного ECLA (валідація методу аналізу на щурах BMN111-10-104 та TNJR15-014; валідація методу аналізу на мавпах BMN111-10-105; валідація методу аналізу на кролях TNJR15-013).</p> <p>Метод аналізу на кролях був переданий з Covance Labs у Трентоні, штат Нью-Джерсі, до Covance Labs в Індіанapolisі, штат Індіана, для завершення оцінки довгострокової стабільності (звіт щодо валідації 8379-472) після завершення тестування зразків дослідження.</p> <p>Вимірювання цГМФ у плазмі крові мавп проводилося за допомогою охарактеризованого конкурентного набору ELISA для цГМФ (звіт про характеристику BAS-QR-09-005).</p> <p>Кількісне вимірювання атріального натрійуретичного пептиду (ANP) у плазмі крові мавп проводилося за допомогою охарактеризованого набору для аналізу ANP (звіт про характеристику BAS-QR-11-007).</p> <p>Вимірювання С-кінцевих телопептидів колагену II типу (CTXII) у сироватці крові мавп та щурів було проведено за допомогою охарактеризованого набору ELISA (звіт про характеристику BAS-QR-11-008).</p> <p>Лабораторія Covance Genomics Laboratory (CGL) валідувала аналізи експресії генів для мавп, мишей і щурів: <i>NPR-B (NPR2)</i> і <i>NPR-C (NPR3)</i>, <i>ACTB</i>, <i>B2M</i> і <i>GAPDH</i> на основі критеріїв прийнятності (звіт щодо валідації BMN111-17-051).</p>
2) всмоктування	Дослідження фармакокінетики BMN 111, введеного шляхом

підшкірної ін'єкції статевонезрілим мишам FGFR3^{ACH} та мишам дикого типу (дослідження BMN111-15-100)

Фармакокінетику BMN 111 оцінювали в плазмі крові статевонезрілих самців і самок мишей WT та мишей FGFR3^{ACH} FVB після одноразового підшкірного введення BMN 111 у дозах 280 і 600 мкг/кг з 21-го по 29-й день після народження (PND).

Пікові концентрації BMN 111 зазвичай спостерігалися через 5 або 15 хвилин після введення дози для обох генотипів. Після досягнення максимальних концентрацій BMN 111 концентрації BMN 111 знижувалися з $T_{1/2}$ в діапазоні від 15,0 до 17,4 хвилини для мишей WT FVB і від 14,8 до 16,0 хвилин для мишей FGFR3^{ACH} FVB. Експозиція BMN 111 збільшувалася із збільшенням рівня дози для обох генотипів. У самців збільшення було приблизно пропорційним до дози у мишей WT FVB, тоді як у мишей FGFR3^{ACH} FVB збільшення було більшим або близьким до пропорційного дозі. У самок збільшення рівня дози було загалом меншим, ніж пропорційне дозі для обох генотипів. Загалом, фармакокінетичний профіль був подібним у мишей WT FVB і FGFR3^{ACH} FVB при 280 і 600 мкг/кг, що свідчить про те, що фенотип ACH має експозицію та кінетику подібну до дикого типу при підшкірному введенні BMN 111.

Пілотне дослідження фармакокінетики одноразової дози BMN 111, введеної підшкірно 7-денним щурам (дослідження BMN111-15-072)

Метою цього пілотного дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було визначення експозиції та фармакокінетики восоритиду при підшкірному введенні 7-денним (молодим) самкам щурів породи Sprague-Dawley.

Підшкірна доза вводилася в середню лопаткову ділянку; цільовий рівень дози становив 180 і 360 мкг/кг.

Після підшкірного введення 7-денним щурам восоритид швидко всмоктувався (C_{max} через 5,00 хвилин) і швидко виводився з плазми крові (період напіввиведення 19,4 і 31,8 хвилини для 180 і 360 мкг/кг відповідно). Експозиція восоритиду збільшувалася із збільшенням рівня дози, що вимірювалося за середніми C_{max} та AUC_{0-t} , і збільшення із дозою було більшим, ніж пропорційне до збільшення дози. Очевидний кліренс та очевидний об'єм розподілу восоритиду були класифіковані як високі.

Дослідження фармакокінетики одноразової дози введеного підшкірно BMN 111 на щурах різних вікових груп (дослідження BMN111-15-076)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було проведення дослідження ФК восоритиду в різних вікових групах з метою отримання інформації про залежність експозиції восоритиду від дози у різних вікових групах, від новонароджених до підлітків.

	<p>Щурам віком від 7 днів до 13 тижнів підшкірно вводили одноразову дозу 360 мкг/кг восоритиду.</p> <p>Після одноразового підшкірного введення дози 360 мкг/кг восоритид швидко всмоктувався з T_{max} 5,0–15,0 хвилин у всіх вікових групах. Період напіввиведення восоритиду з плазми крові був загалом однаковим у всіх вікових групах і становив від 10,1 до 15,9 хвилини.</p> <p>Експозиція восоритиду в плазмі крові при однаковому рівні дози збільшувалася з віком щурів від 7 днів до 13 тижнів. Загальна експозиція в плазмі крові (AUC_{0-t}) у 13-тижневих щурів була приблизно в 13 разів вищою порівняно з 7-денними тваринами, в 3–4 рази вищою порівняно з 21-денними тваринами та в 2–3 рази вищою порівняно з 45-денними тваринами. C_{max} восоритиду була приблизно в 4 рази вищою у 12–13-тижневих тварин порівняно з 7-денними тваринами і в 2 рази вищою порівняно з 21-денними і 45-денними тваринами. Вищі експозиції залежно від віку тварин, ймовірно, обумовлені дозуванням на основі маси тіла при загальній швидкості кліренсу, яка не змінюється істотно залежно від віку та відповідної маси тварини. Це підтверджується результатами визначення нормалізованого за масою кліренсу (CL/F), який зменшувався від 1520 мл/хв/кг у групі 1 (7-денні, середня маса 15,6 г) до 111 мл/хв/кг у групі 4 (13-тижневі, 271 г).</p> <p>Не було виявлено значних статевих відмінностей у плазмовій експозиції, оціненій за середніми C_{max} та AUC, у жодній з вікових груп. Будь-які статеві відмінності, виражені середніми C_{max}, AUC або періодом напіввиведення, були меншими ніж у 2 рази.</p> <p><i>Фармакокінетика BMN 111 після внутрішньом'язового або підшкірного введення щурам (дослідження BMN111-17-048)</i></p> <p>Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було вивчення ФК восоритиду після одноразового внутрішньом'язового (в/м) або підшкірного (п/ш) введення щурам.</p> <p>Самцям щурів породи Sprague Dawley вводили одноразову дозу 240 мкг/кг восоритиду п/ш або в/м. Концентрація цільової дози при п/ш введенні становила 80, 240 та 800 мкг/мл. Після п/ш введення восоритид абсорбувався з середніми значеннями T_{max} від 5 до 15 хвилин. Після в/м введення восоритид абсорбувався з середнім значенням T_{max} 5 хвилин. Середні значення $t_{1/2}$ коливалися від 13,38 до 16,62 хвилини після п/ш введення і становили 17,04 хвилини після в/м введення.</p> <p>Співвідношення експозиції восоритиду після в/м введення порівняно з п/ш введенням становило 2,42 та 1,47 для C_{max} та AUC_{0-3} відповідно. Ці значення свідчать, що відносна біодоступність восоритиду є більшою при в/м введенні порівняно з п/ш введенням.</p>
3) розподіл	<i>Активация цГМФ у хрящах, кістках та м'яких тканинах мишей</i>

дикого типу після одноразового підшкірного введення VMN 111 (дослідження VMN111-11-002)

Метою пілотного дослідження було визначення оптимального часу для виявлення цГМФ та вибір часових точок для проведення основного дослідження. У пілотному дослідженні самцям мишей CD-1 віком від 8 до 10 тижнів вводили одноразово підшкірно 800 мкг/кг восоритиду або носій лікарського засобу. Мишей умертвляли через 15, 30, 60 або 180 хвилин після введення дози і збирали тканини (плазму, легені, печінку, серце, нирки, мозок, гомілкові та стегнові кістки та хрящі вух).

Основне дослідження (не відповідає стандартам GLP) було проведено з метою визначення впливу одноразової дози восоритиду на тканини та циркулюючий цГМФ у мишей як показника здатності восоритиду активувати рецептор NPR-B. Самцям мишей CD-1 віком від 8 до 10 тижнів вводили одноразово підшкірно носій або 800 мкг/кг восоритиду. Мишей умертвили через 15 хвилин, 3 години, 1, 2 або 3 дні після введення дози і збрали тканини (плазму, легені, нирки, мозок, гомілкові та стегнові кістки та хрящі вух).

Висновок: після одноразової підшкірної ін'єкції восоритиду в дозі 800 мкг/кг, цГМФ виявили в дистальній частині стегнової кістки, що містить хрящ (включаючи хрящ ростової пластинки та суглобовий хрящ). Стимуляція продукції цГМФ також спостерігалася в кортикальному шарі кістки. Печінка, серце та мозок не реагували на восоритид виробленням цГМФ протягом досліджуваних часових точок. Сигнал цГМФ також був виявлений у нирках і, в меншій мірі, у легенях. Це дослідження свідчить про активність восоритиду в тканинах-мішенях (зони росту, хрящі та кістки).

Активация цГМФ у хрящах, кістках та м'яких тканинах мишей дикого типу після багаторазового підшкірного введення VMN 111 (дослідження VMN111-11-003)

Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було визначення впливу багаторазового введення восоритиду на продукцію цГМФ та імунореактивність CNP у тканинах, що містять хрящ. Самцям мишей CD-1 віком від 8 до 10 тижнів 1 раз на добу підшкірно вводили носій лікарського засобу або 800 мкг/кг восоритиду протягом 8 днів.

Це дослідження складалося з двох піддосліджень. У піддослідженні 1 (восоритид-11-003-А) мишам підшкірно вводили носій лікарського засобу як контроль або восоритид у відповідній концентрації 1 раз на добу у відповідні дні.

У піддослідженні 2 (vosoritide-11-003-В) мишам вводили підшкірно носій лікарського засобу або восоритид у дозі 800 мкг/кг 1 раз на добу протягом 7 днів.

Висновок: стійка продукція цГМФ спостерігалася в ростовій

пластинці після 8 щоденних введень препарату. На противагу цьому, щоденне повторне введення призводило до зниження сигналу цГМФ у нирках, що, ймовірно, відображало десенсибілізацію рецепторів у цій тканині.

Імуногістохімічні дослідження свідчили про збільшення вмісту CNP та/або восоритиду в ростовій пластинці протягом декількох днів після восьмого введення. Проте в ці ж часові точки не було виявлено залишкової продукції цГМФ.

Характеристика біорозподілу ^{124}I -VMN111 у щурів породи Sprague Dawley за допомогою ПЕТ (дослідження VMN111-17-027)

Метою дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було з допомогою позитронно-емісійної томографії (ПЕТ) охарактеризувати біорозподіл ^{124}I -восоритиду у щурів Sprague Dawley при введенні одноразової п/ш ін'єкції 90 мкг/кг або одноразової внутрішньовенної (в/в) ін'єкції 50 мкг/кг.

Для оцінки розподілу VMN-111 протягом 24-годинного періоду були зроблені статичні і динамічні ПЕТ-зображення. Після завершення ПЕТ було зібрано кілька тканин для гамма-радіометрії *ex vivo*.

Підшкірний шлях введення використовували тільки для когорти 1 (90 мкг/кг). При п/ш введенні дані динамічної ПЕТ показали зниження активності в місці введення з невеликим, але зростаючим рівнем активності у тканині мозку протягом 60 хвилин. Дані статичної ПЕТ показали зниження активності у всіх досліджуваних тканинах з часом, причому найбільша активність була відзначена в шлунку та в місці введення. Мозок і яєчка продемонстрували дуже низьке поглинання речовини.

Шлях в/в введення використовували для когорт 2–4 (50 мкг/кг). Після в/в введення дані динамічної ПЕТ показали різке збільшення активності у сечовому міхурі і шлунку, з набагато меншим збільшенням активності в яєчках, мозку і колінному суглобі (пік через 5–60 хвилин після введення). У серці, печінці та нирках спостерігалось зниження активності після ін'єкції, причому активність у нирках досягла піку через 20 хвилин після ін'єкції. Дані статичної ПЕТ були дуже схожими на дані для щурів, яким вводили препарат підшкірно, зі зменшенням у всіх досліджуваних тканинах з часом.

Біорозподіл ^{124}I -VMN111 після підшкірного введення щурам (дослідження VMN111-18-004)

Метою дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було оцінити біорозподіл після одноразового підшкірного введення ^{124}I -VMN111 щурам породи Sprague Dawley.

Вісім із 9 самців щурів отримали п/ш введення ^{124}I -восоритиду в цільовій дозі 90 мкг/кг, що еквівалентно радіоактивній дозі 500 мкКі/кг. Один щур не отримав потрібну дозу і тому був виключений з аналізу даних. Кров була зібрана у 3 щурів/часову

	<p>точку приблизно через 0,25, 0,5 (тільки два щури) і 1 годину після введення дози і відцентрифугована для отримання плазми. Під час аутопсії тварин було проведено перфузію та відібрано окремі тканини. Кров і тканини було досліджено на радіоактивність, а результати було скориговано з урахуванням розпаду радіоізоотопів.</p> <p>Концентрації ^{124}I-восоритиду в плазмі крові були найвищими через 1 годину, із середнім значенням 191 нг еквівалентів ^{124}I-восоритиду. Концентрації в плазмі крові були вищими, ніж у тканинах, за винятком місця ін'єкції та шлунку.</p> <p>Радіоактивність, пов'язана з досліджуваним препаратом, була виявлена у всіх тканинах, зібраних у першій часовій точці (через 0,25 години після введення дози), і була максимальною через 0,5 або 1 годину після введення дози, за винятком місця ін'єкції. Найвищі концентрації (нг еквівалентів ^{124}I-восоритиду/г) були виявлені в такому порядку: місце ін'єкції > нирки > шлунок > легені > серце > селезінка > тонкий кишечник > печінка. За винятком місця ін'єкції, співвідношення концентрації в тканинах і плазмі крові загалом було < 1, що вказувало на незначну радіоактивність, пов'язану з досліджуваним препаратом, у нецільових тканинах. У тканинах-мішенях, а саме в стегновій і великогомілковій кістках, були виявлені прийнятні концентрації з максимальними значеннями через 0,5 або 1 годину після введення препарату.</p> <p>Після п/ш введення ^{124}I-BMN111 у дозі 90 мкг/кг середня концентрація восоритиду в плазмі крові була найвищою через 15 хвилин (5,97 нг/мл, стандартне відхилення: 3,39 нг/мл) і швидко виводилася із середнім періодом напіввиведення 10,5 хвилини. Середні значення AUC_{0-t} та $\text{AUC}_{0-\infty}$ становили відповідно 142 нг-хв/мл та 147 нг-хв/мл. Порівняння концентрацій восоритиду та радіоактивності в плазмі крові показує, що в середньому 7 % або менше радіоактивності, що спостерігається в плазмі крові, походить від інтактного восоритиду протягом 1 години після введення дози.</p>
4) метаболізм	<p><i>Оцінка in vitro резистентності BMN 111 до рекомбінантної NEP людини (дослідження BMN111-10-109)</i></p> <p>Метою цього дослідження, що не відповідає стандартам GLP, було оцінити резистентність восоритиду до нейтральної ендопептидази (NEP) шляхом аналізу <i>in vitro</i> з використанням очищеної рекомбінантної NEP людини. Восоритид інкубували в присутності NEP у буфері PBS при 37 °C протягом 160 хвилин. Продукти розщеплення розділяли за допомогою ВЕРХ і спостерігали за допомогою УФ- та мас-спектрометричних детекторів. CNP22 обробляли в тих самих умовах і використовували як контроль, оскільки відомо, що він чутливий до розщеплення NEP. У присутності NEP спостерігалось залежно від часу зникнення інтактного CNP22, тоді як восоритид</p>

	<p>залишався інтактним. Восоритид продемонстрував стійкість до розщеплення NEP. Крім того, цей аналог CNP зберіг повну біологічну активність порівняно з CNP22 в дослідженні цГМФ <i>in vitro</i> на основі клітин (дослідження BMN111-10-110).</p> <p><i>Аналіз цільової експресії генів NPR-B та NPR-C (дослідження BMN111-16-024)</i></p> <p>У цьому дослідженні, що не відповідає стандартам GLP, оцінювали рівні експресії генів NPR-B (NPR2) та NPR-C (NPR3) у зразках тканин мавп, мишей та щурів. Зразки тканин 45 мавп (з банку тканин), 64 мишей (з дослідження BMN111-15-100) та 112 щурів (з дослідження BMN111-15-076) були проаналізовані на вміст РНК. Для оцінки експресії цільових генів у надниркових залозах, мозку, серці, нирках, печінці, легенях, яєчках та білій жировій (мезентеріальній) тканині мавп, мишей та щурів було використано напівавтоматичний протокол TaqMan[®] кількісної ПЛР в режимі реального часу для визначення загальної РНК. Результати порівнювали в межах кожного виду таким чином: самці порівняно із самками у групі мавп, які не отримували препарат; миші дикого типу (WT) порівняно з мишами з АСН; 7-денні самці щурів порівняно з 21-денними, 45-денними та 12–13-тижневими.</p> <p>В цілому, ці дані свідчать про подібні рівні експресії гена рецептора-мішені восоритиду (NPR2) та гена рецептора кліренсу (NPR3) у самців і самок мавп, а також у мишей дикого типу та мишей з АСН, і про потенційне зниження експресії у старших щурів.</p>
5) виведення	Дослідження виведення не проводились.
6) фармакокінетичні взаємодії (доклінічні)	Дослідження фармакокінетичних взаємодій не проводились.
7) інші фармакокінетичні дослідження	Інші дослідження фармакокінетики не проводились.
4. Токсикологія:	
1) токсичність у разі одноразового введення	<p><i>Дослідження токсичності та токсикокінетики при одноразовому підшкірному або внутрішньовенному введенні BMN 111 щурам породи Sprague Dawley (дослідження BMN111-11-015)</i></p> <p>Метою цього дослідження було оцінити токсичність та визначити токсикокінетику (ТК) восоритиду при одноразовому підшкірному або внутрішньовенному введенні щурам. Після введення дози за тваринами спостерігали протягом 7 днів для оцінки оборотності, стійкості або відтермінування ефектів.</p> <p>У цьому дослідженні використовували самців і самок щурів. Тварин розподілили на 16 груп і вводили їм носій лікарського засобу або восоритид у дозі 80, 240 або 800 мкг/кг одноразово підшкірно (групи 1–8 п/ш); або вводили носій лікарського засобу або восоритид у дозі 15, 50 або 150 мкг/кг одноразово внутрішньовенно (групи 1–8 в/в).</p>

Тварин у дослідженні токсичності (групи 1–4, п/ш та в/в) двічі на день перевіряли на смертність, аномалії та ознаки болю або дистресу. Зразки крові для аналізу ТК збирали до введення дози та через 5, 15, 30, 60, 90, 120 і 180 хвилин після введення дози у щурів, які отримували восоритид шляхом п/ш ін'єкції. Зразки крові відбирали до введення дози та через 1, 5, 15, 30, 60, 120 і 180 хвилин після введення дози у щурів, які отримували восоритид в/в. У щурів контрольної групи кров відбирали через 30 хвилин після введення дози.

Введення BMN 111 щурам добре переносилося при одноразовій п/ш ін'єкції в дозах 80, 240 і 800 мкг/кг та одноразовій в/в ін'єкції в дозах 15, 50 і 150 мкг/кг. Єдиним непобічним результатом, пов'язаним з BMN 111, було незначне підвищення активності лужної фосфатази, яке спостерігалось у самців, яким вводили 800 мкг/кг підшкірно. При дозах 800 мкг/кг п/ш та 150 мкг/кг в/в експозиція у самців була більш ніж у 2 рази вищою, ніж у самок. Рівень, при якому не спостерігалось побічних ефектів (NOAEL) для BMN 111 становить понад 800 мкг/кг при п/ш введенні та 150 мкг/кг при в/в введенні. Після введення 800 мкг/кг підшкірно у самців щурів C_{max} становила 130000 пг/мл, а AUC_{0-t} – 6367250 хв•пг/мл, а у самок щурів C_{max} становила 77367 пг/мл, а AUC_{0-t} – 2453883 хв•пг/мл. Після введення 150 мкг/кг внутрішньовенно у самців щурів C_{max} становила 2035000 пг/мл, а AUC_{0-t} – 16695267 хв•пг/мл, а у самок щурів C_{max} становила 891000 пг/мл, а AUC_{0-t} – 8388142 хв•пг/мл.

Дослідження токсичності та токсикокінетики при одноразовому підшкірному або внутрішньовенному введенні восоритиду мавпам циномогус (дослідження BMN111-11-006)

Метою цього дослідження було оцінити токсичність та визначити ТК восоритиду при одноразовому п/ш або в/в введенні мавпам циномогус. Після введення дози за тваринами спостерігали протягом 7 днів для оцінки оборотності, стійкості або відтермінування ефектів.

Самці та самки мавп циномогус, які раніше не отримували препарат, були розподілені на 8 груп і отримували або носій лікарського засобу, або восоритид у дозі 20, 60 або 200 мкг/кг у вигляді одноразової п/ш ін'єкції (групи 1–4); або отримували носій лікарського засобу або восоритид у дозі 2, 6 або 20 мкг/кг у вигляді одноразової в/в ін'єкції (групи 5–8). Кров для аналізу ТК була зібрана у тварин не натще в 1-й день. При п/ш введенні (групи 1–4) кров була зібрана у кожній тварини до введення дози та приблизно через 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360 і 600 хвилин після введення дози. При в/в введенні (групи 5–8) кров відбирали у кожній тварини до введення дози та приблизно через 1, 5, 15, 30, 60, 120, 240 і 360 хвилин після введення дози.

Введення BMN 111 мавпам циномогус добре переносилося у

	<p>вигляді одноразової п/ш ін'єкції в дозі 20, 60 або 200 мкг/кг та у вигляді одноразової в/в ін'єкції в дозі 2, 6 або 20 мкг/кг. Єдиним потенційно пов'язаним з BMN 111 побічним ефектом було легке або помірне збільшення об'єму сечі у тварин, яким вводили 200 мкг/кг підшкірно. При дозах 200 мкг/кг підшкірно та 20 мкг/кг внутрішньовенно експозиція була порівнянною у самців та самок. NOAEL для BMN 111 становив понад 200 мкг/кг при п/ш введенні та понад 20 мкг/кг при в/в введенні. Після введення 200 мкг/кг п/ш C_{max} становила 51150 пг/мл, а AUC_{0-t} – 1610675 хв•пг/мл. Після введення 20 мкг/кг в/в C_{max} становила 209000 пг/мл, а AUC_{0-t} – 2889199 хв•пг/мл.</p>
<p>2) токсичність у разі повторних введень</p>	<p><i>Пілотне дослідження можливості застосування BMN 111 на 7-денних щурах (дослідження BMN111-11-053)</i></p> <p>Метою цього дослідження було проведення попередньої оцінки переносимості та доцільності щоденного підшкірного введення 90 мкг/кг/день восоритиду 7-денним щурам перед початком тривалого токсикологічного дослідження на статевонезрілих щурах (дослідження BMN111-11-052).</p> <p>Самців і самок 7-денних щурів розподілили на 2 групи і вводили їм носій лікарського засобу або 90 мкг/кг восоритиду шляхом п/ш ін'єкції 1 раз на добу протягом 21 дня, починаючи з 7-го до 28-го дня після народження (PND).</p> <p>Висновок: восоритид у дозі 90 мкг/кг/добу добре переносився 7-денними щурами при щоденному підшкірному введенні протягом 3 тижнів. Були виявлені деякі відмінності в довжині хвоста, що свідчить про можливий фармакологічний ефект при такому рівні дози. В результаті цей рівень дози був обраний як висока доза для дослідження токсичності при повторному введенні за стандартами GLP на статевонезрілих щурах.</p> <p><i>28-денне дослідження токсичності та токсикокінетики BMN 111 у разі повторних підшкірних введень щурам Sprague Dawley з 7-денним періодом відновлення (дослідження BMN111-11-029)</i></p> <p>Метою цього дослідження було оцінити токсичність та визначити ТК восоритиду при щоденному введенні щурам шляхом п/ш ін'єкції протягом 28 днів, а також оцінити оборотність, стійкість або відтермінування прояву будь-яких ефектів після 7-денного періоду відновлення.</p> <p>У цьому дослідженні використовували самців і самок щурів. Тварин розподілили на 8 груп і протягом 28 днів вводили їм або носій лікарського засобу, або восоритид у дозах 50, 150 або 500 мкг/кг у вигляді одноразової п/ш ін'єкції.</p> <p>Висновок: пов'язані з восоритидом результати включали 1) сприяння ендохондральному формуванню кісток, що призвело до ознак з боку скелета, які відображали серйозний надмірний фармакологічний ефект, та 2) наявність загальних антитіл до восоритиду, які очевидно не мали токсикологічного значення.</p>

Деякі гістологічні дані здавалися більш серйозними у самців, ніж у самок. Це можна пояснити більшою загальною експозицією у самців порівняно із самками. Результати були загалом оборотними, за винятком зменшення рухливості задніх кінцівок, набряку нижньої частини лап та відповідних макроскопічних і мікроскопічних ознак у тварин, яким вводили 500 мкг/кг восоритиду. В цьому дослідженні NOAEL восоритиду становив 150 мкг/кг, виходячи зі стійкості макроскопічних і мікроскопічних результатів дослідження тарзальних суглобів, які обмежували використання задніх кінцівок при дозі 500 мкг/кг. При щоденному п/ш введенні восоритиду щурам протягом 28 днів у дозі 150 мкг/кг середнє значення C_{max} становило 73 333 пг/мл та AUC_{0-t} – 3 381317 пг*хв/мл у самців і 36 633 пг/мл та 1 043417 пг*хв/мл відповідно – у самок.

26-тижневе дослідження токсичності та токсикокінетики BMN 111 у разі повторних підшкірних введень щурам Sprague Dawley з 28-денним періодом відновлення (дослідження BMN111-11-036)

Метою цього дослідження було оцінити токсичність та визначити ТК восоритиду при щоденному п/ш введенні статевозрілим щурам протягом щонайменше 26 тижнів, а також оцінити оборотність, стійкість або відтермінування прояву будь-яких ефектів після 28-денного періоду відновлення. Використовували самців і самок щурів. На початку дослідження вік щурів становив щонайменше 8 місяців. Тварин розподілили на 8 груп і вводили їм носій лікарського засобу як контроль або BMN 111 у дозах 50, 150 або 500 мкг/кг у вигляді п/ш ін'єкції щодня протягом 26 тижнів (загалом 183 введення).

Висновок: введення BMN 111 щурам шляхом щоденних п/ш ін'єкцій у дозах 50, 150 і 500 мкг/кг переносилося протягом 26 тижнів. Пов'язані з BMN 111 результати включали 1) сприяння ендохондральному формуванню кісток, що призвело до ознак з боку скелета, які відображали надмірний фармакологічний ефект, 2) зменшення кількості сперматозоїдів у самців, яким вводили >150 мкг/кг, та 3) наявність загальних антитіл до BMN 111, які очевидно не мали токсикологічного значення. Деякі клінічні ознаки та відповідні макроскопічні та мікроскопічні результати виглядали більш серйозними у самців, ніж у самок. Це можна пояснити більшою загальною експозицією у самців порівняно із самками. Враховуючи стійкість ознак з боку кісток і суглобів, які змінили ходу тварин і призвели до обмеженого використання задніх кінцівок, а також незворотне зменшення кількості сперматозоїдів у самців при >150 мкг/кг, NOAEL BMN 111 становить 50 мкг/кг при щоденному п/ш введенні протягом 26 тижнів.

26-тижневе дослідження токсичності BMN 111 у вигляді

підшкірних ін'єкцій статевонезрілим щурам з подальшим 6-тижневим періодом відновлення (дослідження VMN111-11-052)

Метою цього дослідження було оцінити токсичність і визначити ТК восоритиду на постнатальний розвиток щурів, включаючи розвиток скелета і репродуктивної системи, при щоденному введенні протягом 26 тижнів, від ранньої стадії до зрілості, з подальшим 6-тижневим періодом відновлення для оцінки оборотності або пізнього прояву будь-яких токсичних ефектів. Щурам вводили VMN 111 з 7-го по 188-й день після народження (молоді дорослі особини), після чого слідував 6-тижневий період відновлення. Крім того, визначали токсикокінетичні характеристики VMN 111.

Тварин рандомно розподілили на групи перехресного вигодовування та лікування 1–4 для на 4-й день після народження (pp). Тварини основної підгрупи, підгруп відновлення та ТК (відібрані для забору крові на 188-й день після народження) отримували 1 раз на добу носій лікарського засобу або VMN 111 у дозі 10, 30 або 90 мкг/кг шляхом п/ш введення з 7-го по 188-й день після народження включно. Тварини з підгрупи ТК, відібрані для забору крові на 7-й день pp, отримували лікування тільки на 7-й день pp. Самці та самки з підгрупи С для оцінки репродуктивного розвитку отримували лікування 1 раз на добу з 7-го до 112-го дня pp включно, а потім не отримували лікування протягом періоду спарювання до аутопсії.

Висновок: лікування статевонезрілих щурів з PND 7 по 188 шляхом щоденних п/ш ін'єкцій у дозі 10, 30 або 90 мкг/кг/добу призвело до дозозалежного збільшення уражень кісток, зниження мінералізації та щільності кісток, а також зниження біомеханічних властивостей, що відповідало ознакам *in vivo* у вигляді зниження функції кінцівок і суглобів та аномального вигляду суглобів через набряк і зміщення суглобових поверхонь. Ці зміни не спостерігалися *in vivo* під час раннього розвитку, при збільшенні росту (довжина від тімені до куприка та довжина хвоста), зниженні мінеральної щільності кісток/рівня мінералізації кісток (BMD/BMC), а клінічні ознаки, пов'язані з надмірним ростом кісток, здебільшого не з'являлися до досягнення щурами періоду статевого дозрівання та дорослого віку (приблизно 8–15 тижнів). У дослідженні було виявлено статеві відмінності у частоті та тяжкості впливу на скелет, що, ймовірно, було пов'язано з вищим рівнем експозиції восоритиду у самців. Не було виявлено очевидного впливу на поведінковий або статевий розвиток статевонезрілих щурів, пов'язаного з лікуванням восоритидом.

NOAEL для статевонезрілих щурів, які отримували лікування протягом 26 тижнів, було визначено як 10 мкг/кг/добу через низьку поширеність та тяжкість результатів при цьому рівні дози. Цей рівень відповідає C_{max} 680 пг/мл і AUC_{0-t} 22 842 пг*хв/мл у

самців та середній C_{max} 527 пг/мл і AUC_{0-t} 10 133 пг*хв/мл у самок на 188-й день після народження.

28-денне дослідження токсичності та токсикокінетики VMN 111 у разі повторних підшкірних введень мавпам циномогус з 7-денним періодом відновлення (дослідження VMN111-11-019)

Метою цього дослідження було оцінити токсичність та визначити ТК восоритиду при щоденному введенні шляхом п/ш ін'єкцій мавпам циномогус протягом 28 днів, а також оцінити оборотність, стійкість або відтермінування прояву будь-яких ефектів після 7-денного періоду відновлення.

Вік самців та самок мавп циномогус, які раніше не отримували лікування, на момент початку дослідження становив 2–3 роки. Тварин розподілили на 4 групи та вводили їм насій лікарського засобу як контроль або восоритид (20, 90 або 300 мкг/кг). Тваринам вводили препарат 1 раз на добу шляхом п/ш ін'єкції протягом 28 днів, після чого 3 тварини/стать в групах 1 і 4 перейшли в 7-денний період відновлення.

Висновок: введення восоритиду мавпам циномогус добре переносилося у вигляді 28 щоденних п/ш ін'єкцій у дозах 20, 90 і 300 мкг/кг. Ефекти, пов'язані з восоритидом, були очікуваними і обмежувалися: 1) тимчасовим підвищенням ЧСС, яке спостерігалось тільки у тварин, яким вводили 300 мкг/кг восоритиду, 2) стимуляцією ендохондрального формування кісток у всіх тварин, які отримували восоритид, і 3) наявністю загальних антитіл до восоритиду в однієї самки зі зниженою експозицією. У самців спостерігалися більш виражені гістологічні ефекти в стегновій кістці, ніж у самок, що узгоджувалося з більш високою експозицією у самців. Ознаки в ростових пластинах в грудині та стегновій кістці відповідали механізму дії восоритиду і частково зникли до кінця фази відновлення; тому ці спостереження не вважалися несприятливими. Ці гістологічні зміни були пов'язані з надмірною фармакологічною активністю восоритиду у здорових тварин, які отримували високі дози восоритиду. Як і очікувалося, рівні цГМФ та СТХ-II підвищилися у відповідь на введення восоритиду. Зміни рівнів ANP не спостерігалися.

Токсичності для органів-мішеней виявлено не було, і NOAEL у цьому дослідженні становив 300 мкг/кг при щоденному п/ш введенні протягом 28 днів, що відповідало C_{max} 132 071 пг/мл і AUC_{0-600m} 11 646607 пг*хв/мл у самців та середній C_{max} 144 357 пг/мл і AUC_{0-600m} 10 673021 пг*хв/мл у самок.

26-тижневе дослідження токсичності та токсикокінетики VMN 111 у разі повторних введень підшкірно мавпам циномогус з 28-денним періодом відновлення (дослідження VMN111-11-035)

Метою цього дослідження було оцінити токсичність та визначити ТК восоритиду у статевонезрілих/віку статевого дозрівання мавп циномогус при щоденному введенні протягом

26 тижнів, з подальшим 28-денним періодом відновлення для оцінки оборотного характеру або пізнього прояву будь-яких токсичних ефектів. Це дослідження проводилося на мавпах віком 2–3 років, які є статеві незрілими і не досягли середнього віку закриття ростових пластинок, що становить 57 місяців для самців і 63 місяці для самок. Тварин розподілили на 4 групи і вводили їм носій лікарського засобу або восоритид у дозі 20, 90 або 300 мкг/кг 1 раз на добу протягом 26 тижнів шляхом п/ш ін'єкції.

Висновок: щоденне підшкірне введення восоритиду в дозах 20, 90 або 300 мкг/кг/день протягом 26 тижнів добре переносилося мавпами циномогус. Ефекти, пов'язані з восоритидом, обмежувалися тими, що стосувалися росту скелета та подальших функціональних змін. Клінічно значущі ефекти у самців очевидно були наслідком відмінностей в експозиції, оціненими за індивідуальними значеннями C_{max} на 85-й день; ця залежність не була очевидною у однієї самки. Незначне підвищення реактогенності в місці ін'єкції було пов'язане зі щоденним введенням восоритиду і, ймовірно, було пов'язане з імунною реакцією на досліджуваний препарат або посилювалося нею. Через стійкий клінічний вплив на кістки та суглоби, що спостерігався у тварин, які отримували 300 мкг/кг, NOAEL при щоденному тривалому введенні мавпам циномогус становив 90 мкг/кг/добу, що відповідало C_{max} 10 984 пг/мл та AUC_{0-600m} 523 098 пг*хв/мл на 176-й день.

44-тижневе дослідження токсичності та токсикокінетики BMN 111 у разі повторних введень після щоденного підшкірного введення мавпам циномогус з 13-тижневим періодом відновлення (дослідження BMN111-11-043)

Метою цього дослідження було оцінити токсичність та ТК восоритиду при щоденному п/ш введенні мавпам циномогус протягом щонайменше 44 тижнів, а також оцінити оборотність, стійкість або відтермінування прояву будь-яких ефектів після 13-тижневого періоду відновлення.

Вік самців та самок мавп циномогус на момент початку дослідження становив 4–5 років. Тварин рандомно розподілили на 4 групи та протягом 44 тижнів щодня вводили їм носій лікарського засобу або восоритид у дозі 25, 75 або 250 мкг/кг шляхом п/ш ін'єкції.

Висновок: введення 25, 50 або 250 мкг/кг восоритиду 1 раз на добу шляхом п/ш ін'єкції протягом 44 тижнів переносилося мавпами циномогус. Ефекти, пов'язані з восоритидом, обмежувалися очікуваними фармакологічними ефектами на ріст кісток і закриття ростових зон, а також підвищенням ЧСС невдовзі після введення дози. Враховуючи стійкі результати дослідження кісток і суглобів, які призвели до обмеженого функціонування стегон і аномальної форми кісток, NOAEL

	восоритиду при щоденному введенні протягом 44 тижнів мавпам циномолгус становив 25 мкг/кг/добу, що відповідає середній C_{max} 1170 пг/мл наприкінці фази введення.
3) генотоксичність: in vitro	Дослідження генотоксичності восоритиду не проводились.
in vivo (включаючи додаткову оцінку з токсикокінетики)	-
4) Канцерогенність:	<p>Дослідження канцерогенності восоритиду не проводилися. Оцінка ризику канцерогенності восоритиду була проведена з урахуванням керівництва ICH S1a «Необхідність проведення довгострокових досліджень канцерогенності лікарських засобів на гризунах» шляхом (1) розгляду механізму дії восоритиду; (2) оцінки літератури щодо потенційного впливу восоритиду на утворення, ріст або метастазування пухлин; (3) оцінки доклінічних токсикологічних досліджень восоритиду щодо ознак клітинної проліферації; та (4) врахування генотоксичного потенціалу восоритиду.</p> <p>Використовуючи підхід на основі вагомості доказів, ми визначили, що проведення стандартних досліджень канцерогенності на гризунах з восоритидом навряд чи надасть додаткові клінічно значущі дані щодо безпеки, які б дозволили передбачити потенційний канцерогенний ризик восоритиду, крім того, що вже відомо про антагонізм шляху FGFR3.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Існує мало прямих даних про вплив восоритиду або натрійуретичного пептиду типу C (CNP) на канцерогенез. Наявні дані свідчать, що CNP (а отже, і восоритид) є слабким інгібітором канцерогенезу (Vesely 2006; Vesely 2016; Zenitani 2016). • Восоритид є антагоністом шляху FGFR3, тому він є ефективним засобом лікування пацієнтів з АСН, оскільки вони мають мутацію FGFR3 з придбанням функції. Отже, введення восоритиду, ймовірно, впливає на канцерогенність шляхом прямого інгібування рецептора FGFR3. Тому введення восоритиду, ймовірно, інгібує ріст ракових клітин. • Тривалі токсикологічні дослідження восоритиду на щурах (6місячні BMN111-11-036, BMN111-11-052) та мавпах циномолгус (6-місячне на статевонезрілих тваринах BMN111-11-035; 10-місячне на дорослих тваринах BMN111-11-043) не виявили переконливих доказів проліферативних, пренеопластичних або неопластичних уражень за даними гістопатології. • За 5 років наявних клінічних даних не отримано доказів, що восоритид є канцерогенним. • Через нездатність здорових тварин переносити тривале введення восоритиду тестування канцерогенності на типових моделях гризунів навряд чи є доцільним або релевантним для

	<p>пацієнтів з АСН.</p> <p>З огляду на вагомість доказів, не очікується, що восоритид є канцерогенним. Канцерогенний потенціал осі CNP/FGFR3 був ретельно досліджений, і немає переконливих підстав вважати, що восоритид є канцерогенним. Насправді, наявні докази свідчать про протилежне, а саме про те, що CNP та пов'язані з ним пептиди можуть мати потенціал інгібувати ріст деяких типів пухлин. Крім того, восоритид навряд чи буде добре переноситися протягом тривалого періоду часу здоровими тваринами. Більше того, ці результати, ймовірно, не будуть значущими для пацієнтів з АСН. Тому стандартні дослідження канцерогенності на гризунах у переносимих дозах не нададуть додаткової інформації для оцінки ризику канцерогенності, є недоцільними та не мають наукового обґрунтування. Найбільш клінічно значущим підходом до оцінки потенційного канцерогенного ризику восоритиду для людини, включаючи потенційні ризики, що можуть бути специфічними для пацієнтів з АСН, є ретельний клінічний моніторинг та післяреєстраційне спостереження за пацієнтами, які отримують восоритид протягом тривалого часу. На сьогоднішній день (5 років застосування) немає доказів того, що восоритид підвищує ризик канцерогенезу у пацієнтів.</p>
довгострокові дослідження	-
короткострокові дослідження або дослідження середньої тривалості	-
додаткові дослідження	-
5) Репродуктивна токсичність та токсичний вплив на розвиток потомства:	
вплив на фертильність і ранній ембріональний розвиток	<p><i>Дослідження впливу BMN 111, введеного шляхом підшкірної ін'єкції, на фертильність та ранній ембріональний розвиток до імплантації щурів (дослідження BMN111-14-060)</i></p> <p>Метою цього дослідження було оцінити токсичність та ТК восоритиду при введенні самцям і самкам щурів до співжиття, під час спарювання та імплантації заплідненого ембріона. Це дослідження було розроблено для оцінки стадій А та В репродуктивного процесу за ІСН S5(R3) та виявлення потенційного впливу восоритиду на естральний цикл, переміщення в маткових трубах, імплантацію та розвиток преімплантаційних ембріонів у самок, а також для виявлення функціонального впливу на фертильність та сексуальну активність самців, який не був виявлений при гістологічному дослідженні у токсикологічних дослідженнях з повторним введенням дози.</p> <p>Вік самців та самок щурів SD становив 71 день (самці) або 66 днів (самки) на момент прибуття до дослідницького центра.</p>

	<p>Тварин було рандомно розподілено на 4 групи лікування. Самцям вводили носій лікарського засобу в якості контролю або восоритид 1 раз на добу, починаючи за 28 днів до співжиття, протягом усього періоду співжиття до дня перед евтаназією, загалом 50–52 введення контрольного розчину або восоритиду. Самки отримували носій лікарського засобу як контроль або восоритид 1 раз на добу, починаючи за 15 днів до співжиття, протягом усього періоду співжиття до 7-го дня вагітності (ГД). Якщо спарювання не було підтверджено до кінця 22-денного періоду співжиття, останній день співжиття позначався як ГД0. Тваринам обох статей носій лікарського засобу або восоритид вводили шляхом п/ш ін'єкції.</p> <p>Висновок: щоденне підшкірне введення 90, 270 або 540 мкг/кг/день восоритиду переносилося самцями щурів при введенні до і протягом спарювання (50–52 введень загалом), а самками щурів при введенні протягом двох тижнів до спарювання і на початку вагітності. Вплив на самців та самок, пов'язаний з фармакологічними ефектами восоритиду на ріст кісток, спостерігався при всіх рівнях дозування і вважався несприятливим при дозах ≥ 270 мкг/кг. В результаті NOAEL токсичності для матері та батька у щурів становив 90 мкг/кг/день, що відповідало C_{max} 13,6 нг/мл та AUC_{0-t} 411 хв*нг/мл у самців на 50-й день та C_{max} 8,46 нг/мл та AUC_{0-t} 628 хв*нг/мл у самок на ГД 7. При дозі 540 мкг/кг спостерігалось незначне збільшення часу до спарювання, зменшення кількості сперматозоїдів та зниження маси сім'яних міхурців, але це не вважалось несприятливим через відсутність впливу на індекс фертильності. NOAEL для репродуктивної токсичності у щурів становив 540 мкг/кг, що відповідало C_{max} 86,1 нг/мл і AUC_{0-t} 4510 у самців на 50-й день та C_{max} 45,0 нг/мл і AUC_{0-t} 3280 хв*нг/мл у самок на ГД 7.</p>
ембріотоксичність	<p><i>Дослідження впливу VMN 111, введеного шляхом підшкірної ін'єкції, на ембріо-фетальний розвиток щурів (дослідження VMN111-14-061)</i></p> <p>Метою цього дослідження було оцінити токсичність та ТК восоритиду при введенні вагітним самкам щурів та оцінити будь-який вплив на розвиток ембріона та плода від імплантації до закриття твердого піднебіння. Це дослідження було розроблено для оцінки стадій С та D репродуктивного процесу за класифікацією ICH S5(R3).</p> <p>Самки щурів SD були рандомно розподілені на чотири групи. Самки отримували носій лікарського засобу в якості контролю або восоритид (90, 270, 540 мкг/кг) 1 раз на добу, починаючи з ГД 6 по ГД 17 в основному дослідженні та з ГД 6 по ГД 18 в дослідженні ТК. Контрольний препарат або восоритид вводили шляхом п/ш ін'єкції.</p> <p>Висновок: щоденне підшкірне введення 0, 90, 270 або</p>

540 мкг/кг/день з ГД 6 по 17 вагітним самкам щурів не спричинило токсичного впливу на матір або розвиток плода. NOAEL восоритиду, що має токсичний вплив на матір та ембріо-фетальний розвиток, становить 540 мкг/кг/день, що відповідає C_{\max} 64,5 нг/мл та $AUC_{(0-t)}$ 3950 хв*нг/мл.

Дослідження на кролях з визначення діапазону доз BMN 111, що впливають на ембріо-фетальний розвиток, при введенні шляхом підшкірної ін'єкції (дослідження BMN111-14-055)

Метою цього дослідження було проведення попередньої оцінки впливу введеного підшкірно BMN 111 на вагітність та ембріо-фетальний розвиток. Це дослідження було розроблено для оцінки етапів С-D репродуктивного процесу за класифікацією ICH S5(R3).

Самкам вводили носій лікарського засобу в якості контрольного розчину або восоритид (45, 135, 240 мкг/кг) 1 раз на добу, починаючи з ГД 7 по ГД 19 в основному дослідженні та з ГД 7 по ГД 20 в дослідженні токсикокінетики. Носій лікарського засобу або восоритид вводили шляхом п/ш ін'єкції.

Висновок: восоритид загалом добре переносився вагітними самками кролів у дозі до 240 мкг/кг/добу. Клінічні ефекти обмежувалися ознаками м'яких або рідких випорожнень. Вплив на розвиток ембріона та плода був типовим для ефектів, що спостерігаються при токсичності для матері, що підлягає подальшій оцінці в більш масштабному дослідженні. Доза 240 мкг/кг була обрана для оцінки в заключному дослідженні ембріо-фетальної токсичності за стандартами GLP на кролях (BMN111-14-081).

Дослідження на кролях впливу BMN 111 на ембріо-фетальний розвиток при введенні шляхом підшкірної ін'єкції (дослідження BMN111-14-081)

Метою цього дослідження було оцінити токсичність і ТК восоритиду у вагітних самок кролів та вплив на ембріо-фетальний розвиток після експозиції матері з моменту імплантації до закриття твердого піднебіння. Це дослідження було розроблено для оцінки етапів С-D репродуктивного процесу за класифікацією ICH S5(R3).

Самкам вводили носій лікарського засобу як контрольний препарат або восоритид (45, 135, 240 мкг/кг) 1 раз на добу, починаючи з ГД 7 по ГД 19 в основному дослідженні та з ГД 7 по ГД 20 в дослідженні токсикокінетики. Носій лікарського засобу або восоритид вводили шляхом підшкірної ін'єкції.

Висновок: щоденне підшкірне введення 45, 135 або 240 мкг/кг/день восоритиду добре переносилося вагітними самками кролів при введенні з 7-го по 19-й день вагітності. Не було виявлено впливу на вагітність або розвиток ембріона і плода. В результаті було встановлено, що NOAEL, що спричиняє

	<p>токсичність для матері та токсичність для ембріо-фетального розвитку у кролів становить 240 мкг/кг/день. Це відповідає C_{max} 379 нг/мл та $AUC_{(0-1)}$ 58 000 хв*нг/мл у матері на 19 день вагітності.</p>
<p>пренатальна і постнатальна токсичність</p>	<p><i>Дослідження на щурах токсичного впливу на розвиток та перинатальної/постнатальної репродуктивної токсичності, включаючи постнатальну оцінку поведінки/функціонування при підшкірному введенні VMN 111 (дослідження VMN111-18-103)</i></p> <p>Метою цього дослідження було оцінити вплив восоритиду на розвиток потомства (від етапу ембріо-фетального розвитку до статевої зрілості) самок щурів, яким вводили препарат щодня від періоду імплантації до відлучення потомства. Це дослідження було розроблено для оцінки стадій С–F репродуктивного процесу згідно з ICH S5(R3), хоча кесарів розтин і обстеження плодів у цьому дослідженні не проводилися.</p> <p>Самкам щурів покоління F0 вводили восоритид (90, 270, 540 мкг/кг) та/або контрольні препарати шляхом підшкірної ін'єкції 1 раз на добу з 6-го дня вагітності (ГД 6) до 20-го дня після пологів. Потомству покоління F1 не вводили безпосередньо досліджуваній препарат та/або контрольні препарати, але вони могли зазнати впливу під час вагітності матері (внутрішньоутробний вплив) або через материнське молоко під час лактації.</p> <p>Висновок: щоденне підшкірне введення восоритиду в дозах 90, 270 і 540 мкг/кг добре переносилося вагітними та лактуючими самками щурів при введенні з ГД 6 (імплантація) до 20-го дня періоду лактації (відлучення). Не було виявлено впливу на пренатальну або постнатальну життєздатність або розвиток потомства, народженого та вигодуваного самками, які отримували восоритид. Низькі рівні восоритиду були виявлені в молоці самок, які отримували препарат, що свідчить про можливий постнатальний вплив на покоління F1, особливо при вищих дозах, хоча препарат був виявлений лише в одного дитинчати, яке не вигодовувалося перед забором плазми крові. NOAEL, що спричиняє токсичний вплив на матір та пре- і постнатальний розвиток у щурів становив 540 мкг/кг/добу, що відповідало діапазону концентрації в плазмі від 16,0 до 42,3 нг/мл через 30 хвилин після введення дози на 14-й день періоду лактації.</p>
<p>дослідження, при яких препарат уводиться потомству (нестатевозрілим тваринам) та/або оцінюється віддалена дія</p>	<p>Дослідження восоритиду на статевонезрілих щурах і мавпах циномогус описані в пункті «Токсичність у разі повторних введень»</p>
<p>б) місцева переносимість</p>	<p>Місцева переносимість оцінювалася в рамках досліджень токсичності при повторному введенні. Окремі дослідження місцевої переносимості восоритиду не проводилися.</p>

7) додаткові дослідження токсичності:	Додаткові дослідження токсичності восоритиду не проводились.
антигенність (утворення антитіл)	-
імунотоксичність	-
дослідження механізмів дії	Серія досліджень <i>in vitro</i> підтвердила молекулярний механізм дії восоритиду: 1) восоритид зв'язується з NPR-B і NPR-C, але не зв'язується з NPR-A; 2) зв'язування восоритиду призводило до утворення внутрішньоклітинного цГМФ і пригнічення опосередкованого FGF підвищення фосфорилування MAPK. Була підтверджена активність у хондроцитах ростової пластинки людини з мутацією FGFR3, що призводить до придбання функції.
лікарська залежність	-
токсичність метаболітів	-
токсичність домішок	-
інше	-
5. Висновки щодо доклінічного вивчення	<p>Фармакологічна активність восоритиду була визначена як подібна до CNP. В цілому, фармакодинамічний профіль та профіль безпеки восоритиду пов'язані з активністю восоритиду на сигналізацію NPR-B у зоні росту кісток та судинній системі. Як і CNP, восоритид сприяв ендохондральному формуванню кісток та змінював судинний тонус.</p> <p>Ахондроплазія (ACH) є найпоширенішою формою низького росту, яка часто клінічно проявляється непропорційним ростом, що виявляється у вигляді довгого вузького тулуба та укорочення проксимальної частини рук і ніг. Непропорційний низький зріст призводить до функціональних обмежень, що впливає на повсякденну діяльність, а аномальний ріст кісток пов'язаний з численними медичними ускладненнями, які спричиняють значну захворюваність. У доклінічних дослідженнях на мишачих моделях ACH восоритид продемонстрував дозозалежне подовження проксимальних частин передніх і задніх кінцівок та відновлення інших компонентів фенотипу мишей. Крім того, у здорових мишей, щурів і мавп восоритид продемонстрував дозозалежне збільшення довжини проксимальних кісток і хвоста. При припиненні лікування восоритидом було відмічено припинення впливу на ріст скелета. Ці ефекти на ріст спостерігалися при дозах, значно нижчих за ті, що спричиняли короткочасні симптоматичні ефекти з боку серцево-судинної системи у мавп. Доклінічна фармакокінетична характеристика показала, що при підшкірному введенні восоритид швидко абсорбується і виводиться, з періодом напіввиведення $t_{1/2}$ менше 20 хвилин після першого введення щурам і мавпам, який збільшується після повторного введення. Розраховані за дозою коефіцієнти безпеки (отримані у здорових тварин), коливалися від $0,1\times$ у</p>

	<p>довгострокових дослідженнях щоденного введення (тривалістю 26 тижнів або більше) до 9,5× у короткострокових дослідженнях щоденного введення (28 днів). Ці коефіцієнти безпеки залежать від результатів токсикологічних досліджень на здорових тваринах, у яких виявили надмірні фармакологічні ефекти, що впливають головним чином на різні аспекти морфології та розвитку кісток; у доклінічних дослідженнях не було виявлено нецільових ефектів. З огляду на тяжкість та незадоволені медичні потреби пацієнтів з АСН, ґрунтовні фармакологічні ефекти в доклінічних моделях, короткочасну експозицію без накопичення та добре охарактеризовані та пов'язані з фармакологією результати токсикологічних досліджень, доклінічна програма підтримала та надала інформацію для клінічної розробки восоритиду та підтримує реєстрацію восоритиду для лікування ахондроплазії (АСР) у пацієнтів, у яких епіфізи не закриті.</p>
--	---

Заявник (власник реєстраційного посвідчення)

електронний підпис _____

DocuSigned by:
Ayşe Demirtaş
5760476258E64F3...

Oct 24, 2025

(підпис)

Ауше Демирташ, Директор з міжнародних регуляторних питань
(П.І.Б.)