

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992305 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.03.19(51) Int. Cl. C07K 16/18 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2018.03.30

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СИНУКЛЕОПАТИЙ

(31) 62/479,818; 62/528,790

(72) Изобретатель:

(32) 2017.03.31; 2017.07.05

Пеннер Наташа, Муралидхаран
Кумар Канадади (US)

(33) US

(86) PCT/IB2018/052236

(74) Представитель:

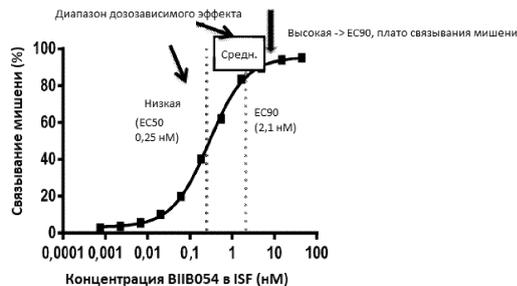
(87) WO 2018/178950 2018.10.04

Медведев В.Н. (RU)

(71) Заявитель:

БАЙОДЖЕН ИНТЕРНЭШНЛ
НЬЮРОСАЙЕНС ГМБХ (CN)

(57) Предложены режимы дозирования антител к α -синуклеину. Эти режимы дозирования находят применение при лечении синуклеинопатий, таких как болезнь Паркинсона (PD - Parkinson's disease), деменция при болезни Паркинсона (PDD - Parkinson's disease dementia), деменция с тельцами Леви (DLB - dementia with Lewy bodies), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (LBVAD - Lewy body variant of Alzheimer's disease), истинная вегетативная недостаточность (PAF pure autonomic failure), множественная системная атрофия (MSA - multiple systems atrophy) и нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA-I neurodegeneration with brain iron accumulation type-I).



A1

201992305

201992305

A1

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СИНУКЛЕОПАТИЙПерекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка заявляет приоритет согласно заявке на патент США № 62/479,818, поданной 31 марта 2017 г. и предварительной заявке на патент США № 62/528,790, поданной 5 июля 2017 г., содержание обоих из которых включено в настоящий документ посредством ссылки во всей их полноте.

Область техники

Настоящая заявка в целом относится к режимам дозирования при применении антител к α -синуклеину в клинической практике.

Уровень техники

Нарушение формирования третичной структуры и агрегация белков являются патологическими аспектами многочисленных нейродегенеративных заболеваний (*например*, синуклеинопатий). Агрегаты α -синуклеина являются основными компонентами тельцов Леви и нейритов Леви, связанных с болезнью Паркинсона (PD). Белок с нативно–развернутой третичной структурой, α -синуклеин может принимать различные агрегированные морфологии, в том числе олигомеры, протофибриллы и фибриллы. Было показано, что небольшие олигомерные агрегаты являются особенно токсичными.

Для лечения растущего числа пациентов, страдающих от синуклеинопатий, существует потребность в терапевтическом антителе к α -синуклеину и соответствующих режимах дозирования при применении такого антитела к α -синуклеину в клинической практике.

Сущность изобретения

Данное раскрытие относится, в частности, к режимам дозирования антител к α -синуклеину или их α -синуклеин–связывающих фрагментов и их применению при лечении синуклеинопатии.

В одном аспекте предлагается способ лечения синуклеинопатии у нуждающегося в этом субъекта–человека. Способ вовлекает введение внутривенно субъекту–человеку антитела к α -синуклеину в дозе 3 мг на кг, 5 мг на кг, 15 мг на кг, 45 мг на кг, 90 мг на кг или 135 мг на кг массы тела субъекта–человека. Антитело к α -синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем: VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH–CDR), при этом: VH–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1; VH–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и VH–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и VL содержит VL–CDR, при этом: VL–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4; VL–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и VL–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах реализации этого аспекта синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона (PD), деменцию при болезни Паркинсона (PDD), деменцию с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (LBVAD), множественную системную атрофию (MSA), истинную вегетативную недостаточность (PAF) или нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA-1). В отдельном варианте реализации синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона (PD). В отдельных случаях PD представляет собой PD легкой степени. В иных случаях PD представляет собой PD средней степени.

В другом аспекте это раскрытие представляет способ лечения избыточного накопления или отложения α -синуклеина в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ включает введение внутривенно субъекту-человеку антитела к α -синуклеину в дозе 3 мг на кг, 5 мг на кг, 15 мг на кг, 45 мг на кг, 90 мг на кг или 135 мг на кг массы тела субъекта-человека. Антитело к α -синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем: VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), при этом: VH-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1; VH-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и VL содержит VL-CDR, при этом: VL-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах реализации этого аспекта, субъект-человек был идентифицирован как имеющий избыточное накопление или отложение α -синуклеина в центральной нервной системе. В некоторых случаях субъекта-человека идентифицируют с помощью *in vivo* визуализации α -синуклеина (например, в головном мозге) способом, включающим позитронно-эмиссионную томографию (PET), однофотонную эмиссионную томографию (SPECT – single photon emission tomography), оптическую визуализацию в ближней инфракрасной области (NIR), магниторезонансную визуализацию (MRI), визуализацию переносчика дофамина или ультразвуковое зондирование черного вещества. В других случаях субъекта-человека идентифицируют путем анализа уровня α -синуклеина в образце крови, плазмы или спинномозговой жидкости (CSF – cerebrospinal fluid), полученном от субъекта после периферического введения субъекту антитела к α -синуклеину, и сравнения полученного в ходе анализа уровня α -синуклеина у субъекта с эталонным препаратом, причем разница или близость между уровнем α -синуклеина в образце крови, плазмы или CSF и эталонным препаратом коррелирует с уровнем α -синуклеина в головном мозге субъекта. В некоторых вариантах реализации субъект-человек был идентифицирован как имеющий симптомы синуклеинопатии.

В некоторых вариантах реализации этого аспекта субъект-человек имеет риск развития болезни Паркинсона (например, в связи с тем, что субъект имеет такой

генетический фактор риска, как мутация в гене SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ1, ATR13A2, PLA2G6, FBXO7, UCHL1, GIGYF2, HTRA2 или EIF4G1) или субъект–человек имеет продромальную болезнь Паркинсона (например, субъект имеет симптомы или кластеры симптомов, связанные с дальнейшим развитием болезни Паркинсона, такие как гипосмия, нарушение REM–поведения, себорейный дерматит и/или определенные вегетативные симптомы, включая, но без ограничения этим, ортостатическую гипотензию, импотенцию у мужчин и/или расстройства контроля мочевого пузыря).

Эти варианты реализации применимы к обоим вышеописанным аспектам. В некоторых вариантах реализации VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах реализации VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8, и VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область лямбда легкой цепи человека. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека и константную область лямбда легкой цепи человека. В еще одном варианте реализации антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:10, а легкая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:11. В некоторых вариантах реализации антитело к α –синуклеину вводят каждые 4 недели, каждые 3 недели, каждые 2 недели или каждую неделю. В некоторых вариантах реализации 1 мг антитела к α –синуклеину на кг вводят каждые 4 недели или ежемесячно. В некоторых вариантах реализации 3 мг антитела к α –синуклеину на кг вводят каждые 4 недели или ежемесячно. В некоторых вариантах реализации 5 мг антитела к α –синуклеину на кг вводят каждые 4 недели или ежемесячно. В некоторых вариантах реализации 15 мг антитела к α –синуклеину на кг вводят каждые 4 недели или ежемесячно. В некоторых вариантах реализации 45 мг антитела к α –синуклеину на кг вводят каждые 4 недели или ежемесячно. В некоторых вариантах реализации 90 мг антитела к α –синуклеину на кг вводят каждые 4 недели или ежемесячно. В некоторых вариантах реализации 135 мг антитела к α –синуклеину на кг вводят каждые 4 недели или ежемесячно. В некоторых вариантах реализации субъекту–человеку вводят по меньшей мере 2 дозы антитела к α –синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту–человеку вводят по меньшей мере 4 дозы антитела к α –синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту–человеку вводят по меньшей мере 6 доз антитела к α –синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту–человеку вводят по меньшей мере 8 доз антитела к α –синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту–человеку вводят по меньшей мере 10 доз антитела к α –синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту–человеку вводят по меньшей мере 12 доз антитела к α –синуклеину. В некоторых вариантах реализации

вышеописанных режимов дозирования субъекту–человеку вводят антитело к α -синуклеину в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более лет.

В третьем аспекте раскрытие предлагает стерильную композицию, содержащую фиксированную дозу 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг, 6750 мг или 9450 мг антитела к α -синуклеину вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Антитело к α -синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем: VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), при этом: VH-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1; VH-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и VL содержит VL-CDR, при этом: VL-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6. В некоторых случаях фиксированные дозы составляют 250 мг, 1250 мг и/или 3500 мг антитела к α -синуклеину.

В некоторых вариантах реализации этого аспекта стерильная композиция представлена во флаконе. В других вариантах реализации стерильная композиция представлена в шприце или насосе, приспособленных для внутривенного введения антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах реализации VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8, и VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область лямбда легкой цепи человека. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека и константную область лямбда легкой цепи человека. В еще одном варианте реализации антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:10, а легкая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:11. В некоторых вариантах реализации стерильная композиция содержит фиксированную дозу 250 мг антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации стерильная композиция содержит фиксированную дозу 1250 мг антитела к α -синуклеину. В других вариантах реализации стерильная композиция содержит фиксированную дозу 3500 мг антитела к α -синуклеину.

В четвертом аспекте представлен способ лечения синуклеинопатии у нуждающегося в этом субъекта–человека. Способ включает введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы антитела к α -синуклеину из стерильной

композиции по третьему аспекту, описанному выше.

В некоторых вариантах реализации этого аспекта синуклеинопатия представляет собой деменцию при болезни Паркинсона (PDD), деменцию с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (LBVAD), множественную системную атрофию (MSA), истинную вегетативную недостаточность (PAF) или нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA-I). В отдельном варианте реализации синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона. В некоторых случаях PD представляет собой PD легкой степени. В других случаях PD представляет собой PD средней степени. В некоторых вариантах реализации фиксированная доза составляет 250 мг антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации фиксированная доза составляет 1250 мг антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации фиксированная доза составляет 3500 мг антитела к α -синуклеину.

В пятом аспекте раскрытие относится к способу лечения избыточного накопления или отложения α -синуклеина в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ вовлекает введение внутривенно субъекту-человеку фиксированной дозы антитела к α -синуклеину из стерильной композиции по третьему аспекту, описанному выше.

В некоторых вариантах реализации субъект-человек был идентифицирован как имеющий избыточное накопление или отложение α -синуклеина в центральной нервной системе. В некоторых случаях субъекта-человека идентифицируют с помощью *in vivo* визуализации α -синуклеина (например, в головном мозге) способом, включающим позитронно-эмиссионную томографию (PET), однофотонную эмиссионную томографию (SPECT), оптическую визуализацию в ближней инфракрасной области (NIR), магниторезонансную визуализацию (MRI), визуализацию переносчика дофамина или ультразвуковое зондирование черного вещества. В других случаях субъекта-человека идентифицируют путем анализа уровня α -синуклеина в образце крови или плазмы, полученном от субъекта после периферического введения субъекту антитела к α -синуклеину, и сравнения полученного в ходе анализа уровня α -синуклеина у субъекта с эталонным препаратом, причем разница или близость между уровнем α -синуклеина в образце крови или плазмы и эталонным препаратом коррелирует с уровнем α -синуклеина в головном мозге субъекта. В некоторых вариантах реализации фиксированная доза составляет 250 мг антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации фиксированная доза составляет 1250 мг антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации фиксированная доза составляет 3500 мг антитела к α -синуклеину.

В некоторых вариантах реализации субъект-человек имеет риск развития болезни Паркинсона (например, в связи с тем, что субъект имеет такой генетический фактор риска, как мутация в гене SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ1, ATP13A2, PLA2G6, FBXO7, UCHL1, GIGYF2, HTRA2 или EIF4G1) или субъект-человек имеет продромальную болезнь Паркинсона (например, субъект имеет симптомы или кластеры симптомов, связанные с дальнейшим развитием болезни Паркинсона, такие как гипосмия, нарушение

REM-поведения, себорейный дерматит и/или определенные вегетативные симптомы, включая, но без ограничения этим, ортостатическую гипотензию, импотенцию у мужчин и/или расстройства контроля мочевого пузыря).

Эти варианты реализации применяются к четвертому и пятому аспектам, описанным выше. В некоторых вариантах реализации антитела к α -синуклеину вводят каждые 4 недели, каждые 3 недели, каждые 2 недели или каждую неделю. В некоторых вариантах реализации фиксированную дозу 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг, 6750 мг или 9450 мг вводят каждые 4 недели. В некоторых вариантах реализации фиксированную дозу 250 мг вводят каждые 4 недели. В некоторых вариантах реализации фиксированную дозу 1250 мг вводят каждые 4 недели. В некоторых вариантах реализации фиксированную дозу 3500 мг вводят каждые 4 недели. В некоторых вариантах реализации субъекту-человеку вводят по меньшей мере 2 дозы антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту-человеку вводят по меньшей мере 4 дозы антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту-человеку вводят по меньшей мере 6 доз антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту-человеку вводят по меньшей мере 8 доз антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту-человеку вводят по меньшей мере 10 доз антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации субъекту-человеку вводят по меньшей мере 12 доз антитела к α -синуклеину.

В шестом аспекте раскрытие предлагает способ лечения синуклеинопатии у нуждающегося в этом субъекта-человека. Способ включает введение внутривенно субъекту-человеку фиксированной дозы 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг, 6750 мг или 9450 мг антитела к α -синуклеину. Антитело к α -синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем: VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), при этом: VH-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1; VH-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и VH-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и VL содержит VL-CDR, при этом: VL-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4; VL-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и VL-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах реализации синуклеинопатия представляет собой деменцию при болезни Паркинсона (PDD), деменцию с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (LBVAD), множественную системную атрофию (MSA), истинную вегетативную недостаточность (PAF) или нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA-I). В отдельном варианте реализации синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона (PD). В отдельных случаях PD представляет собой PD легкой степени. В других случаях PD представляет собой PD средней степени. В некоторых вариантах реализации способ включает введение внутривенно субъекту-человеку фиксированной дозы 250 мг антитела к α -синуклеину. В

некоторых вариантах реализации способ включает введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 1250 мг антитела к α –синуклеину. В некоторых вариантах реализации способ включает введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 3500 мг антитела к α –синуклеину.

В седьмом аспекте раскрытие предлагает способ лечения избыточного накопления или отложения α –синуклеина в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта–человека. Способ вовлекает введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг, 6750 мг или 9450 мг антитела к α –синуклеину. Антитело к α –синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, причем: VH содержит определяющие комплементарности области VH (VH–CDR), при этом: VH–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1; VH–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и VH–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и VL содержит VL–CDR, при этом: VL–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4; VL–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и VL–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах реализации субъект–человек имеет или был идентифицирован как имеющий избыточное накопление или отложение α –синуклеина в центральной нервной системе. В некоторых случаях субъекта–человека идентифицируют с помощью *in vivo* визуализации α –синуклеина (например, в головном мозге) способом, включающим позитронно–эмиссионную томографию (PET), однофотонную эмиссионную томографию (SPECT), оптическую визуализацию в ближней инфракрасной области (NIR), магниторезонансную визуализацию (MRI), визуализацию переносчика дофамина или ультразвуковое зондирование черного вещества. В других случаях субъект–человек является или его идентифицируют как такого, у которого путем анализа уровня α –синуклеина в образце крови или плазмы, полученном от субъекта после периферического введения субъекту антитела к α –синуклеину, и сравнения полученного в ходе анализа уровня α –синуклеина у субъекта с эталонным препаратом, причем разница или близость между уровнем α –синуклеина в образце крови или плазмы и эталонным препаратом коррелирует с уровнем α –синуклеина в головном мозге субъекта.

В некоторых вариантах реализации субъект–человек имеет риск развития болезни Паркинсона (например, в связи с тем, что субъект имеет такой генетический фактор риска, как мутация в гене SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ1, ATP13A2, PLA2G6, FBXO7, UCHL1, GIGYF2, HTRA2 или EIF4G1) или субъект–человек имеет продромальную болезнь Паркинсона (например, субъект имеет симптомы или кластеры симптомов, связанные с дальнейшим развитием болезни Паркинсона, такие как гипосмия, нарушение REM–поведения, себорейный дерматит и/или определенные вегетативные симптомы, включая, но без ограничения этим, ортостатическую гипотензию, импотенцию у мужчин и/или расстройства контроля мочевого пузыря). В некоторых вариантах реализации

способ включает введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 250 мг антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации способ включает введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 1250 мг антитела к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации способ включает введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 3500 мг антитела к α -синуклеину.

Эти варианты реализации применяются к шестому и седьмому аспектам, описанным выше. В некоторых вариантах реализации VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах реализации VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8, и VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область лямбда легкой цепи человека. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека и константную область лямбда легкой цепи человека. В еще одном варианте реализации антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:10, а легкая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:11. В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину вводят ежемесячно, каждые 4 недели, каждые 3 недели, каждые 2 недели или каждую неделю.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимают специалисты в области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описываются в данном документе, могут применяться на практике или при испытании настоящего изобретения, иллюстративные способы и материалы описаны ниже. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылки, упоминаемые в данном документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте. В случае противоречия настоящая заявка, включающая определения, будет иметь преимущественную силу. Материалы, способы и примеры являются исключительно иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и из формулы изобретения.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 представляет собой график, отображающий концентрацию ВПВ054 в сыворотке (нг/мл) отдельных субъектов–людей. Каждая кривая на этом графике соответствует отдельному субъекту–человеку.

Фиг. 2 представляет собой график, демонстрирующий средние профили в сыворотке, рассчитанные в указанное время для пациентов на каждом уровне дозы. Наиболее удаленная от оси x кривая соответствует 135 мг/кг; следующая – 90 мг/кг;

следующая – 45 мг/кг; следующая – 15 мг/кг; следующая – 5 мг/кг; и ближайшая к оси x кривая – 1 мг/кг.

Фиг. 3 представляет собой график, демонстрирующий дозозависимость (в диапазоне доз от 1 до 135 мг/кг) AUC.

Фиг. 4 представляет собой график, демонстрирующий дозозависимость (в диапазоне доз от 1 до 135 мг/кг) C_{max}.

Фиг. 5 представляет собой график, демонстрирующий диапазон дозозависимого эффекта для концентрации ВПВ054 в интерстициальной жидкости (ISF) по сравнению с процентом связывания мишени α -синуклеина.

Фиг. 6 представляет собой график, демонстрирующий концентрации CSF в зависимости от времени для доз 3, 15 и 45 мг/кг.

Фиг. 7 представляет собой график, демонстрирующий смоделированные профили концентрации в CSF с течением времени для трех доз.

Подробное описание сущности изобретения

Это раскрытие представляет режимы дозирования антител к α -синуклеину и их α -синуклеин-связывающих фрагментов и их применение при лечении синуклеинопатий (например, расстройств, связанных с агрегатами α -синуклеина, таких как болезнь Паркинсона (PD), деменция при болезни Паркинсона (PDD), деменция с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (AD), истинная вегетативная недостаточность (PAF), множественная системная атрофия (MSA) и нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA-I)).

α -синуклеин

Синуклеины представляют собой небольшие растворимые белки, экспрессируемые преимущественно в нервной ткани и в некоторых опухолях. Семейство включает три известных белка: α -синуклеин, β -синуклеин и γ -синуклеин. Все синуклеины имеют в целом высококонсервативный α -спиральный липидсвязывающий мотив со сходством с липидсвязывающими доменами класса A2 обменяемых аполипопротеинов. Члены семейства синуклеина не обнаружены вне позвоночных, хотя они имеют некоторое консервативное структурное сходство с растительными «белками позднего эмбриогенеза». Белки α - и β -синуклеин обнаружены главным образом в ткани головного мозга, где их обнаруживают в основном в пресинаптических терминалях. Белок γ -синуклеин обнаружен главным образом в периферической нервной системе и сетчатке, а его экспрессия в опухолях молочной железы является маркером прогрессирования опухоли. Для какого-либо из синуклеиновых белков нормальные клеточные функции не были определены, хотя некоторые данные указывают на роль в регуляции стабильности и/или функционального цикла мембраны. Мутации в α -синуклеине связаны с редкими семейными случаями болезни Паркинсона с ранним началом, и белок накапливается избыточным образом в случае болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера и некоторых других нейродегенеративных заболеваний.

α -синуклеин был первоначально обнаружен в головном мозге человека в качестве

белка-предшественника не- β -амилоидного компонента (NAC – non- β -amyloid component) бляшек при болезни Альцгеймера (AD – Alzheimer's disease); *смотрите, например*, Ueda et al, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90 (1993), 1282–1286. α -синуклеин, также называемый предшественником отличного от A β -компонента амилоида AD (NACP – precursor of the non-A β component), представляет собой белок из 140 аминокислот. α -синуклеин существует в своей нативной форме в виде случайной спирали; однако изменения pH, молекулярного окружения, содержания тяжелых металлов и уровни дофамина все вместе влияют на конформацию белка. Предполагается, что изменения конформации олигомерных, протофибриллярных, фибриллярных и агрегатных фрагментов регулируют токсичность белка. Имеется все больше доказательств того, что аддуктированный дофамином α -синуклеин имеет более быстрое по сравнению с неаддуктированным белком время образования фибрилл. Кроме того, дофамин на фоне сверхэкспрессии α -синуклеина является токсичным.

В этом описании термин « α -синуклеин» используется для общего обозначения всех типов и форм α -синуклеина (*например*, нативная мономерная форма α -синуклеина, другие конформеры α -синуклеина, например α -синуклеин, связанный с дофамином-хиноном (DAQ), и олигомерами или агрегатами α -синуклеина).

Белковая последовательность α -синуклеина человека приведена далее:

MDVFMKGLSKAKEGVVAAAEEKTKQGVAAEAAGKTKEGVLYVGSKTKEGVVHGVATVAEKTKEQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAATGFVKKDQLGKNEEGAPQEGILEDMPVDPDNEAYEMPSEEGYQDYEPAA (SEQ ID NO:12). *Смотрите, например*, Ueda et al., *ibid.*; база данных GenBank swissprot: локус SYUA_HUMAN, номер доступа P37840.

Антитела к α -синуклеину

Антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент, которые применяют в композициях и способах, описанных в настоящем документе, связывают α -синуклеин, но не β -синуклеин и/или γ -синуклеин. Таким образом, хотя α -, β - и γ -синуклеиновые белки являются высокоомологичными белками, антитело к α -синуклеину или α -синуклеин-связывающие фрагменты, описанные в настоящем документе, являются специфичными по отношению к α -синуклеину. Эти антитела связывают N-концевую область α -синуклеина. В частности, эти антитела связывают эпитоп в пределах аминокислот 4–15 SEQ ID NO: 12 (*m.e.*, FMKGLSKAKEGV (SEQ ID NO:13), а лизин в положении 10 в SEQ ID NO:12 играет важную роль в специфичности антител, описанных в настоящем документе, по отношению к α -синуклеину в сравнении с β - и γ -синуклеиновыми белками. Кроме того, антитела, описанные в настоящем документе, преимущественно связывают с патологическими агрегатами α -синуклеина человека, такими как олигомеры и фибриллы α -синуклеина человека, по сравнению с физиологическими мономерами α -синуклеина человека. В некоторых случаях эти антитела могут связываться с высокой аффинностью с мутантными формами A30P, E46K и A53T α -синуклеина человека.

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент, применяемые в композициях и способах, описанных в настоящем документе, содержат три определяющие комплементарность области (CDR) переменного домена тяжелой цепи антитела, упоминаемого как ВПВ054.

ВПВ054 представляет собой предлагаемое в качестве примера антитело к α -синуклеину, которое может быть применено в композициях и способах, описанных в настоящем документе. ВПВ054 представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело IgG1/ λ , идентифицированное и клонированное из В-лимфоцитов, полученных с осознанного согласия от когорты здоровых пожилых субъектов с отсутствием клинических признаков и симптомов, связанных с неврологическими или психическими расстройствами. ВПВ054 связывается с субнаномолярной аффинностью с N-концевой областью (аминокислоты 4–10 SEQ ID NO:12: FMKGLSK (SEQ ID NO:14)) α -синуклеина. Кажущаяся аффинность связывания из-за мультвалентного связывания в случае олигомерных/фибриллярных видов выше, чем в случае мономерных видов α -синуклеина. Важно отметить, что ВПВ054 не связывается с другими высокомолекулярными членами семейства синуклеина, *например* β -синуклеином, который может быть нейропротекторным. Иммуногистохимическое исследование демонстрирует специфическое (без нецелевого) связывание ВПВ054 с тельцами Леви и нейритами Леви в ткани головного мозга как пациента-человека, страдающего от болезни Паркинсона, так и трансгенной мыши с геном α -синуклеина человека. У трансгенных мышей, сверхэкспрессирующих α -синуклеин, внутрибрюшинное введение ВПВ054 приводит к поддающимся измерению уровням лекарственных средств в головном мозге, которые анализируют при помощи иммуногистологических и биохимических методов, демонстрируя, что ВПВ054 преодолевает гематоэнцефалический барьер.

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат три CDR переменного домена легкой цепи ВПВ054. В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат три CDR переменного домена тяжелой цепи ВПВ054. В еще одних вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат три CDR переменного домена тяжелой цепи и три CDR переменного домена легкой цепи ВПВ054. CDR могут быть основаны на любом определении CDR в данной области техники, *например* определениях от Kabat, Chothia, Chothia от Abysis, расширенного Chothia/AbM или основанного на определении контакта. Последовательности CDR ВПВ054 приведены в таблице 1 далее.

Таблица 1. Последовательности CDR ВПВ054

Домен	Аминокислотная последовательность
CDR1 VH	KAWMS (SEQ ID NO:1) или GFDFEKAWMS (SEQ ID NO:7)

Домен	Аминокислотная последовательность
CDR2 VH	RIKSTADGGTTSYAAPVEG (SEQ ID NO:2)
CDR3 VH	AH (SEQ ID NO:3)
CDR1 VL	SGEALPMQFAH (SEQ ID NO:4)
CDR2 VL	KDSERPS (SEQ ID NO:5)
CDR3 VL	QSPDSTNTYEV (SEQ ID NO:6)

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат CDR1 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:7, CDR2 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:2; и CDR3 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:3. В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат CDR1 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:4, CDR2 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:5; и CDR3 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат CDR1 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:7, CDR2 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:2; и CDR3 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:3; CDR1 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:4, CDR2 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:5; и CDR3 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:6.

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат или состоят из переменных доменов тяжелой цепи (VH) ВПВ054. VH ВПВ054 имеет следующую аминокислотную последовательность (VH-CDR подчеркнuto):

1 EVQLVESGGG LVEPGGSLRL SCAVSGFDFE KAWMSWVRQA
PGQGLQWVAR

51 IKSTADGGTT SYAAPVEGRF IISRDDSRNM LYLQMNSLKT EDTAVYYCTS

101 AHWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO:8)

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат или состоят из переменных доменов легкой цепи (VL) ВПВ054. VL ВПВ054 имеет следующую аминокислотную

последовательность (VL–CDR подчеркнута):

1 SYELTQPPSV SVSPGQTARI TCSGEALPMQ FAHWYQQRPG KAPVIVVYKD
 51 SERPSGVPER FSGSSSGTTA TLTITGVQAE DEADYYCQSP DSTNTYEVFG
 101 GGTKLTVL(**SEQ ID NO:9**)

Антитело, состоящее из зрелой тяжелой цепи (SEQ ID NO:10) и зрелой легкой цепи (SEQ ID NO:11), приведенных далее, обозначают «ВИБ054», как используется в настоящем документе.

Зрелая тяжелая цепь (HC) ВИБ054:

1 EVQLVESGGG LVEPGGSLRL SCAVSGFDFE KAWMSWVRQA
 PGQGLQWVAR
 51 IKSTADGGTT SYAAPVEGRF IISRDDSRLM LYLQMNSLKT EDTAVYYCTS
 101 AHWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV
 151 TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH
 201 KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
 251 RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
 QYNSTYRVVS
 301 VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS
 351 REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSGGSF
 401 FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKLSLSL PG(**SEQ ID**
NO:10)

Зрелая легкая цепь (LC) ВИБ054:

1 SYELTQPPSV SVSPGQTARI TCSGEALPMQ FAHWYQQRPG KAPVIVVYKD
 51 SERPSGVPER FSGSSSGTTA TLTITGVQAE DEADYYCQSP DSTNTYEVFG
 101 GGTKLTVLSQ PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAIVTVAW
 151 KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE
 201 GSTVEKTVAP TECS (**SEQ ID NO:11**)

В перечисленных выше последовательностях VH, VL, HC и LC, CDR 1, 2 и 3, на основе определения по номенклатуре Kabat, подчеркнуты. Выделенная курсивом и жирным шрифтом последовательность в VH и HC является дополнительной N–концевой последовательностью, обнаруженной в CDR1, основываясь на расширенной номенклатуре Chothia/AbM.

В некоторых вариантах реализации способов и композиций, описанных в настоящем документе, антитело к α –синуклеину или его α –синуклеин–связывающий фрагмент содержат VH, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах реализации способов и композиций, описанных в настоящем документе, антитело к α –синуклеину или его α –синуклеин–связывающий фрагмент содержат VL, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации способов и композиций, описанных в настоящем документе, антитело к α –синуклеину или его α –синуклеин–связывающий фрагмент содержат VH, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в

SEQ ID NO:8, и VL, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации способов и композиций, описанных в настоящем документе, антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах реализации способов и композиций, описанных в настоящем документе, антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:11. В других вариантах реализации способов и композиций, описанных в настоящем документе, антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:10, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:11.

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент селективно связываются с α -синуклеином и содержат HC, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10, или отличается на по меньшей мере от 1 до 5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:10. В одном варианте реализации шесть CDR являются идентичными шести CDR ВПВ054, а любые замены осуществляют в каркасном участке.

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент селективно связываются с α -синуклеином и содержат LC, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11, или отличается на по меньшей мере от 1 до 5 аминокислотных остатков, но менее чем на 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:11. В одном варианте реализации шесть CDR являются идентичными шести CDR ВПВ054, а любые замены осуществляют в каркасном участке.

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину представляет собой антитело IgG. В специфических вариантах реализации антитело к α -синуклеину имеет константную область тяжелой цепи, выбранную из, например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE. В одном варианте реализации антитело к α -синуклеину имеет изотип IgG1. В другом варианте реализации антитело к α -синуклеину имеет изотип IgG2. В еще одном варианте реализации антитело к α -синуклеину имеет изотип IgG3. В дополнительных вариантах реализации антитело к α -синуклеину имеет константную область легкой цепи, выбранную из, например, каппа или лямбда легкой цепи человека. В отдельном варианте реализации антитело к α -синуклеину представляет собой лямбда антитело IgG1/человека.

В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину представляет собой полноразмерное (целое) антитело или по существу полноразмерное. Белок может

содержать по меньшей мере одну и, предпочтительно, две полные тяжелые цепи и по меньшей мере одну и, предпочтительно, две полные легкие цепи. В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину представляет собой α -синуклеин-связывающий фрагмент. В некоторых случаях α -синуклеин-связывающий фрагмент представляет собой Fab, Fab', F(ab')₂, Facb, Fv, одноцепочечный Fv (scFv), sc(Fv)₂ или диатело.

Тяжелая цепь и легкая цепь антител, описанных в настоящем документе, также могут содержать сигнальные последовательности. Сигнальные последовательности могут быть выбраны из известных в данной области техники, например, MDMRVPAQLLGLLLLWFPGRS (SEQ ID NO:15) или MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO:16).

Антитела, такие как ВПВ054 или их α -синуклеин-связывающие фрагменты, могут быть созданы, например, путем получения или экспрессирования синтетических генов, которые кодируют приведенные аминокислотные последовательности, или путем мутирования генов зародышевой линии человека для обеспечения гена, который кодирует приведенные аминокислотные последовательности. Более того, это антитело и другие антитела к α -синуклеину могут быть продуцированы, например, с помощью одного или более из следующих способов.

Способы продуцирования антител

Антитела к α -синуклеину или α -синуклеин-связывающие фрагменты могут быть продуцированы в бактериальных или эукариотических клетках. Некоторые антитела, например, Fab, могут быть продуцированы в бактериальных клетках, например, клетках *E. coli*. Антитела также могут продуцироваться в эукариотических клетках, таких как трансформированные клеточные линии (например, CHO, 293E, COS). Кроме того, антитела (например, scFv) могут быть экспрессированы в дрожжевой клетке, такой как *Pichia* (смотрите, например, Powers et al., *J Immunol Methods*. 251:123–35 (2001)), *Hansenula* или *Saccharomyces*. Для продуцирования представляющего интерес антитела, полинуклеотид или полинуклеотиды, кодирующие антитело, конструируют, вводят в вектор экспрессии или векторы экспрессии, а затем экспрессируют в подходящих клетках-хозяевах. Для улучшения экспрессии, нуклеотидные последовательности генов легкой и тяжелой цепи могут быть перекодированы без изменения (или с минимальным изменением, например удалением C-концевого остатка тяжелой или легкой цепи) аминокислотной последовательности. Области возможного перекодирования включают те, которые связаны с инициацией трансляции, использованием кодонов и возможным непреднамеренным сплайсингом мРНК. Специалист в данной области техники может легко представить концепцию полинуклеотидов, кодирующих антитело к α -синуклеину, содержащее VH и/или VL, HC и/или LC антител к α -синуклеину, описанных в настоящем документе.

Предлагаемая в качестве примера последовательность ДНК, кодирующая легкую цепь ВПВ054, приведена ниже (нуклеотиды, приведенные строчными буквами, кодируют сигнальный пептид нативной легкой цепи (который может или не может быть включен в

конструкцию нуклеиновой кислоты); зрелый N–конец начинается с нуклеиновой кислоты, находящейся в положении 67):

1 atg gac atg cgg gtg ccc gcc cag ctg ctg ggc ctg ctg ctg tgg ctc cct ggc gcc aga tgt
 67 AGC TAC GAG CTG ACC CAG CCC CCC AGC GTC AGC GTC AGC CCC GGC
 CAG ACC GCC AGG ATC ACC TGC
 133 AGC GGC GAG GCC CTG CCC ATG CAG TTC GCC CAC TGG TAC CAA
 CAG AGG CCA GGC AAG GCC CCA GTG
 199 ATC GTG GTG TAC AAA GAC AGT GAG AGA CCC TCA GGT GTC CCT
 GAG CGA TTC TCT GGC TCC TCT TCC
 265 GGG ACA ACA GCC ACC TTG ACC ATC ACT GGA GTC CAG GCA GAA
 GAT GAG GCT GAC TAT TAC TGC CAG
 331 TCT CCA GAC AGC ACT AAC ACT TAT GAA GTC TTC GGC GGA GGG
 ACC AAG CTG ACC GTC CTG AGT CAG
 397 CCC AAG GCT GCC CCC TCC GTC ACT CTG TTC CCT CCC TCC TCC GAG
 GAA CTT CAA GCC AAC AAG GCC
 463 ACA CTG GTC TGT CTC ATC AGT GAC TTC TAC CCT GGA GCC GTG ACA
 GTG GCC TGG AAG GCA GAT AGC
 529 AGC CCC GTC AAG GCT GGA GTG GAG ACC ACC ACA CCC TCC AAA
 CAA AGC AAC AAC AAA TAC GCT GCC
 595 AGC AGC TAC CTG AGC CTG ACA CCT GAG CAG TGG AAG TCC CAC
 AGA AGC TAC AGC TGC CAG GTC ACC
 661 CAT GAA GGG AGC ACC GTG GAG AAG ACA GTG GCC CCT ACA GAA
 TGT TCA TAG (**SEQ ID NO:17**)

Предлагаемая в качестве примера последовательность ДНК, кодирующая тяжелую цепь ВПВ054, приведена ниже (нуклеотиды, приведенные строчными буквами, кодируют сигнальный пептид нативной легкой цепи (который может включен или может быть не включен в конструкцию нуклеиновой кислоты); зрелый N–конец начинается с нуклеиновой кислоты, находящейся в положении 67):

1 atg gac atg cgg gtg ccc gcc cag ctg ctg ggc ctg ctg ctg tgg ttc ccc ggc tct cgg tgc
 67 GAG GTG CAG CTG GTG GAG TCC GGG GGA GGT CTG GTC GAG CCT GGG
 GGG TCC CTG AGA CTC TCC TGT
 133 GCA GTC TCC GGA TTC GAT TTC GAA AAA GCC TGG ATG AGT TGG GTC
 CGC CAG GCT CCA GGG CAG GGG
 199 CTG CAG TGG GTT GCC CGG ATC AAG AGC ACA GCT GAT GGT GGG
 ACA ACA AGC TAC GCC GCC CCC GTG
 265 GAA GGC AGA TTC ATC ATC TCA AGA GAT GAT TCC AGA AAC ATG
 CTT TAT CTG CAA ATG AAC AGT CTG
 331 AAA ACT GAA GAC ACA GCC GTC TAT TAT TGT ACA TCA GCC CAC TGG
 GGC CAG GGA ACC CTG GTC ACC
 397 GTC TCC TCT GCC TCC ACC AAG GGC CCA TCC GTC TTC CCT CTG GCA

CCC TCC TCC AAA AGC ACC TCT

463 GGG GGC ACA GCC GCC CTG GGC TGC CTG GTC AAG GAC TAC TTC
CCC GAA CCT GTG ACC GTC TCC TGG

529 AAC TCA GGC GCC CTG ACC AGC GGC GTG CAC ACC TTC CCT GCT GTC
CTG CAA TCC TCC GGA CTC TAC

595 TCC CTC TCT TCC GTG GTG ACC GTG CCC TCC AGC AGC TTG GGC ACC
CAG ACC TAC ATC TGC AAC GTG

661 AAT CAC AAG CCC AGC AAC ACC AAG GTG GAC AAG AGA GTT GAG
CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC

727 ACA TGC CCA CCC TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCC TCA
GTC TTC CTC TTC CCC CCA AAA

793 CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC
GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC

859 GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAT GTT GAC GGC GTG
GAG GTC CAT AAT GCC AAG ACA AAG

925 CCT CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACC TAC CGC GTG GTC AGC
GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAA GAC

991 TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA
GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA

1057 ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG
TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG

1123 GAG ATG ACC AAG AAC CAA GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA
GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC

1189 GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCT GAG AAC AAC TAC AAG
ACC ACA CCT CCC GTG CTG GAC TCC

1255 GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAT TCC AAA CTC ACC GTG GAC AAG
AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC

1321 TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC
ACC CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCC

1387 CCT GGT TGA (**SEQ ID NO:18**)

Для получения рекомбинантного(ых) вектора(ов) экспрессии, трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев и выделения антитела применяют стандартные методы молекулярной биологии.

При условии, что антитела к α -синуклеину или α -синуклеин-связывающие фрагменты экспрессируются в бактериальных клетках (*например*, *E. coli*), вектор экспрессии должен иметь характеристики, которые делают возможной амплификацию вектора в бактериальных клетках. Дополнительно, когда такую *E. coli*, как JM109, DH5 α , HB101 или XL1-Blue, применяют в качестве хозяина, вектор должен иметь промотор, например промотор lacZ (Ward et al., 341:544–546 (1989), промотор araB (Better et al., Science, 240:1041–1043 (1988)) или промотор T7, который может обеспечить эффективную

экспрессию в *E. coli*. Примеры подобных векторов включают, например, векторы серий M13, векторы серий pUC, pBR322, pBluescript, pCR-Script, pGEX-5X-1 (Pharmacia), «систему QIAexpress» (QIAGEN), pEGFP и pET (когда применяют этот вектор экспрессии, хозяин представляет собой, предпочтительно, экспрессирующую BL21 РНК-полимеразу T7). Для секреции антител вектор экспрессии может содержать сигнальную последовательность. Для продуцирования *E. coli* в периплазме, в качестве сигнальной для секреции антител последовательности может быть применена сигнальная последовательность *pelB* (Lei et al., *J. Bacteriol.*, 169:4379 (1987)). Для бактериальной экспрессии с целью введения вектора экспрессии в бактериальную клетку могут быть использованы методы с использованием хлорида кальция или методы электропорации.

Если антитело должно быть экспрессировано в таких клетках животных, как клетки CHO, COS и NIH3T3, вектор экспрессии содержит промотор, необходимый для экспрессии в этих клетках, например, промотор SV40 (Mulligan et al., *Nature*, 277:108 (1979)) (например, ранний промотор вируса обезьян 40), промотор MMLV-LTR, промотор EF1 α (Mizushima et al., *Nucleic Acids Res.*, 18:5322 (1990)) или промотор CMV (например, немедленно-ранний промотор цитомегаловируса человека). В дополнение к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей иммуноглобулин или его домен, рекомбинантные векторы экспрессии могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, которые регулируют репликацию вектора в клетках-хозяевах (например, точки начала репликации), и селективируемые маркерные гены. Селективируемый маркерный ген облегчает отбор клеток-хозяев, в которые был введен вектор (смотрите например, патенты США №№ 4399216, 4634665 и 5179017). Например, селективируемый маркерный ген обычно придает устойчивость по отношению к лекарственным средствам, таким как G418, гигромицин или метотрексат, клетке-хозяину, в которую был введен вектор. Примеры векторов с селективируемыми маркерами включают pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV и pOP13.

В одном варианте реализации антитела продуцируются в клетках млекопитающих. Предлагаемые в качестве примера клетки-хозяева млекопитающих для экспрессирования антитела включают клетки яичника китайского хомячка (клетки CHO) (в том числе клетки dhfr⁻ CHO, описанные в Urlaub and Chasin (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, используемые с селективируемым маркером DHFR, например, как описано в Kaufman and Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159:601621), эмбриональные клетки 293 почки человека (например, 293, 293E, 293T), клетки COS, клетки NIH3T3, лимфоцитарные клеточные линии, например клетки миеломы NS0 и клетки SP2, и клетку от трансгенного животного, например трансгенного млекопитающего. Например, клетка является эпителиальной клеткой молочной железы. В специфическом варианте реализации клетка млекопитающего представляет собой клетку CHO-DG44I.

В предлагаемой в качестве примера системе для экспрессии антитела рекомбинантный вектор экспрессии, кодирующий и тяжелую цепь антитела, и легкую цепь антитела к α -синуклеину (например, ВПВ054), вводят в dhfr⁻ клетки CHO путем

опосредованной фосфатом кальция трансфекции. В пределах рекомбинантного вектора экспрессии каждый из генов тяжелой и легкой цепи антитела функционально связан с регуляторными элементами энхансера/промотора (например, полученными из SV40, CMV, аденовируса и подобного, такими как регуляторный элемент энхансера CMV/промотора AdMLP или регуляторный элемент энхансера SV40/промотора AdMLP) для управления высокими уровнями транскрипции генов. Рекомбинантный вектор экспрессии также несет ген DHFR, который делает возможным селекцию клеток CHO, которые были трансфицированы вектором с использованием селекции/амплификации с помощью метотрексата. Отобранные трансформированные клетки-хозяева культивируют, чтобы сделать возможной экспрессию тяжелой и легкой цепей антитела, и выделяют антитело из культуральной среды.

Антитела также могут продуцироваться трансгенным животным. Например, патент США № 5849992 описывает способ экспрессирования антитела в молочной железе трансгенного млекопитающего. Конструируют трансген, который содержит специфический по отношению к молоку промотор и нуклеиновые кислоты, кодирующие представляющее интерес антитело и сигнальную последовательность для секреции. Молоко, вырабатываемое самками таких трансгенных млекопитающих, содержит в себе представляющее интерес секретлируемое антитело. Антитело может быть очищено от молока или использовано непосредственно для некоторых применений. Также предлагаются животные, содержащие одну или более нуклеиновых кислот, описанных в настоящем документе.

Антитела по настоящему раскрытию могут выделяться внутрь или наружу (например, в среде) клетки-хозяина и очищены до по существу чистых и гомогенных антител. Для выделения и очистки антител могут быть использованы методы выделения и очистки, обычно применяемые для очистки антител, и не ограниченные каким-либо конкретным способом. Антитела могут быть выделены и очищены с помощью соответствующего выбора и комбинирования, например, колоночной хроматографии, фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, осаждения растворителями, экстракции растворителями, дистилляции, иммунопреципитации, электрофореза в SDS-полиакриламидном геле, изоэлектрического фокусирования, диализа и перекристаллизации. Хроматография включает, например, аффинную хроматографию, ионообменную хроматографию, гидрофобную хроматографию, гель-фильтрацию, обращенно-фазовую хроматографию и адсорбционную хроматографию (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996). Хроматография может быть проведена с использованием жидкофазной хроматографии, такой как ВЭЖХ и FPLC. Колонки, применяемые для аффинной хроматографии, включают колонку с белком А и колонку с белком G. Примеры колонок с использованием колонки с белком А включают Hyper D, POROS и Sepharose FF (GE Healthcare Biosciences). Настоящее раскрытие также включает антитела, которые являются высокоочищенными с использованием этих методов очистки.

Дозирование

Антитело к α -синуклеину (*например*, ВПВ054) может быть введено субъекту, *например*, субъекту-человеку, в различных дозах. Антитело к α -синуклеину (*например*, ВПВ054) может быть введено в виде фиксированной дозы (*т. е.*, независимо от массы пациента) или в виде дозы мг/кг (*т. е.*, дозы, которая варьируется в зависимости от массы субъекта). Единичная дозированная форма или «фиксированная доза», как применяют в настоящем документе, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для субъектов, подлежащих лечению; каждая единица содержит заранее определенное количество антитела, рассчитанное для достижения желаемой терапевтической концентрации у субъекта. Независимо от формы дозы (*например*, по массе или фиксированной) антитело к α -синуклеину вводят в сочетании с требуемым фармацевтическим носителем и, необязательно, в сочетании с другим терапевтическим средством. Могут быть предложены одна или множество дозировок. Лечение может продолжаться в течение дней, недель, месяцев, года или даже нескольких лет. Лечение может быть частью комбинированной терапии, в которой антитело к α -синуклеину предлагают в комбинации с одним или более дополнительными средствами.

В одном варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину составляет 1 мг/кг массы тела субъекта. В другом варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину составляет 3 мг/кг массы тела субъекта. В еще одном варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину составляет 5 мг/кг массы тела субъекта. В дополнительном варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину составляет 15 мг/кг массы тела субъекта. В другом варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину составляет 45 мг/кг массы тела субъекта. В еще одном варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину составляет 90 мг/кг массы тела субъекта. В еще одном варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину составляет 135 мг/кг массы тела субъекта. Эти дозы могут быть получены для введения в форме стерильной композиции вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или предпочтительным(и) вспомогательным(и) веществом(ами).

В одном варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 210 мг. В другом варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 225 мг. В другом варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 250 мг. В еще одном варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 350 мг. В другом варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет

собой фиксированную дозу 375 мг. В еще одном варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 1050 мг. В дополнительном варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 1125 мг. В другом варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 1250 мг. В другом варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 3150 мг. В еще одном варианте реализации для лечения показания, описанного в настоящем документе, дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 3375 мг. В другом варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 3500 мг. В дополнительном варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 6300 мг. В другом варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 6750 мг. В другом варианте реализации дозировка антитела к α -синуклеину представляет собой фиксированную дозу 9450 мг. Эти фиксированные дозы могут быть составлены в форме стерильной композиции вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или предпочтительным(и) вспомогательным(и) веществом(ами).

Каждая из доз мг/кг или фиксированных доз, описанных выше, может вводиться субъекту ежедневно, каждую неделю, каждые полторы недели, каждые 2 недели, каждые две с половиной недели, каждые 3 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, ежемесячно, два раза в неделю, один раз в неделю или ежедневно, что будет сочтено целесообразным поставщиком медицинских услуг, в течение периода времени, который охватывает по меньшей мере 2 дозы, 3 дозы, 4 дозы, 5 доз, 6 доз, 7 доз, 8 доз, 9 доз, 10 доз, 12 доз, 14 доз, 16 доз, 18 доз, 20 доз, 22 дозы, 24 дозы или более, таким образом, что у субъекта достигается и/или поддерживается желаемая терапевтическая концентрация.

Дозы вводят внутривенно.

Предлагаемые в качестве примера режимы дозирования приведены в таблице далее:

Способ введения	Доза
в/в, каждые 4 недели (или ежемесячно)	3 мг/кг
в/в, каждые 4 недели (или ежемесячно)	15 мг/кг
в/в, каждые 4 недели (или ежемесячно)	45 мг/кг

Фармацевтическая композиция может содержать «терапевтически эффективное количество» средства, описанного в настоящем документе, так им образом, что введение с использованием определенного режима дозирования приводит к терапевтически эффективной концентрации антитела в спинномозговой жидкости (CSF) или интерстициальной жидкости головного мозга (ISF). Такие эффективные количества могут быть определены на основании действия вводимого средства. Терапевтически

эффективное количество средства может также варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние болезни, возраст, пол и масса индивидуума, а также способность соединения вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также является таким, в котором любые токсичные или отрицательные эффекты композиции перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами.

В одном варианте реализации вводимое внутривенно антитело к α -синуклеину (*например*, ВПВ054) дозируют таким образом, что желаемая терапевтическая концентрация антитела достигается в CSF и/или ISF субъекта (*например*, субъекта-человека). В одном варианте реализации антитело достигает концентрации, которая является достаточной для проникновения в головной мозг и получения терапевтического эффекта, например опосредованного связыванием с агрегированным α -синуклеином и иницированием зависимого или независимого от микроглий выведения/инактивации, снижением агрегации α -синуклеина и/или предотвращением прионоподобного внутриклеточного распространения α -синуклеина.

В другом варианте реализации желаемая терапевтическая концентрация может быть равна концентрации антитела к α -синуклеину (*например*, ВПВ054), которая способна обеспечивать и поддерживать (после 1 или более доз) сокращение агрегированного α -синуклеина в ISF и/или CSF субъекта на по меньшей мере 30–50%.

В одном варианте реализации желаемая терапевтическая концентрация достигается концентрацией антитела к α -синуклеину (*например*, ВПВ054), которая находится в ISF субъекта на уровне EC_{50} .

В другом варианте реализации желаемая терапевтическая концентрация может быть равна концентрации антитела к α -синуклеину (*например*, ВПВ054), которая способна обеспечивать и поддерживать (после 1 или более доз) сокращение агрегированного α -синуклеина в ISF и/или CSF субъекта на 50–90%.

В одном варианте реализации желаемая терапевтическая концентрация достигается концентрацией антитела к α -синуклеину (*например*, ВПВ054), которая находится в ISF субъекта на уровне выше EC_{50} и ниже EC_{90} .

В еще одном варианте реализации желаемая терапевтическая концентрация может быть равна концентрации антитела к α -синуклеину (*например*, ВПВ054), которая способна обеспечивать и поддерживать (после 1 или более доз) сокращение агрегированного α -синуклеина в ISF и/или CSF субъекта на более 90%.

В одном варианте реализации желаемая терапевтическая концентрация достигается концентрацией антитела к α -синуклеину (*например*, ВПВ054), которая находится в ISF субъекта на уровне выше EC_{90} .

В одном варианте реализации терапевтически эффективная доза представляет собой дозу антитела к α -синуклеину (*например*, ВПВ054), которая может обеспечивать и поддерживать желаемую терапевтическую концентрацию (после 1 или более доз).

Способы лечения

Антитела к α -синуклеину, описанные в настоящем документе (*например*, ВПВ054),

могут использоваться для профилактического и терапевтического лечения синуклеинопатии у нуждающегося в этом субъекта (*например*, субъекта–человека).

Синуклеинопатии включают расстройства, связанные с агрегатами α -синуклеина, такими как болезнь Паркинсона (PD), деменция при болезни Паркинсона (PDD), деменция с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (AD), истинная вегетативная недостаточность (PAF), множественная системная атрофия (MSA) и нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA-I).

Это раскрытие также относится к способу лечения неврологического расстройства, характеризующегося избыточным накоплением и/или отложением α -синуклеина в головном мозге и центральной нервной системе, соответственно, который включает введение нуждающемуся в этом субъекту (*например*, субъекту–человеку) терапевтически эффективного количества любого одного из вышеописанных антител к α -синуклеину. В некоторых вариантах реализации неврологическое расстройство представляет собой болезнь Паркинсона (PD), деменцию с тельцами Леви (DLB) или множественную системную атрофию (MSA).

Болезнь Паркинсона представляет собой клинический синдром, характеризующийся двигательными расстройствами и рядом таких немоторных особенностей, как когнитивное нарушение. Патологически отмечают потерю клеток в голубом пятне, дорсальном двигательном ядре блуждающего нерва, ядре шва, компактной части черного вещества, базальных ядрах Мейнерта и педункулопontiновом ядре, что приводит к сокращению соответствующих нейротрансмиттеров. Потере клеток предшествует образование внутрицитоплазматических телец Леви (LB) и утолщенных отростков–нейритов, называемых нейритами Леви (LN). LN могут быть обнаружены в областях без классических LB, в том числе в миндалинах, гиппокампе и неокортексе. Единая причина возникновения болезни Паркинсона отсутствует. Скорее, существует множество генетических и экологических причин. Эти причины в совокупности составляют большую часть риска и указывают на общие, пересекающиеся пути нейродегенерации. α -Синуклеин представляет собой белок с молекулярной массой 14 кДа, который кодируется у людей геном SNCA. Некоторые научные данные свидетельствуют о центральной роли α -синуклеина в патогенезе болезни Паркинсона. Во–первых, нейропатологические исследования показали, что агрегированный α -синуклеин является ключевым компонентом LB и LN. Генетические исследования определили три точечные мутации (A53T, A30P и E64K), которые связаны с аутосомно–доминантной болезнью Паркинсона. Не так давно у пациентов с агрессивными формами Паркинсона с ранним началом были выявлены триплекции и дупликации SNCA. Существует связь между кажущейся спорадической болезнью Паркинсона и экспрессией гена SNCA в том, что полиморфизмы в промоторной области и пониженный эпигенетический сайленсинг связаны с повышенным риском развития болезни Паркинсона. Собранные вместе, эти генетические исследования предполагают зависимость доза–ответная реакция и приводят доводы в пользу усиления функции α -

синуклеина при болезни Паркинсона. Токсичность α -синуклеина, по-видимому, связана с его склонностью к агрегации. α -Синуклеин обладает высокой склонностью к агрегации *in vitro*. Точечные мутации и мультиплекации, связанные с аутосомно-доминантной болезнью Паркинсона, усиливают склонность α -синуклеина к полимеризации и образованию олигомеров и фибриллярных структур более высокого порядка. Ввиду его центральной роли в патогенезе болезни Паркинсона, подходы к модификации α -синуклеина являются важной потенциальной мишенью при болезни Паркинсона и других синуклеинопатиях. Опосредованное антителом удаление и инактивация α -синуклеина могут снижать агрегацию и распространение патологии и тем самым замедлять ухудшение клинических признаков и симптомов болезни Паркинсона. Достаточно умеренного снижения уровней белка α -синуклеина, чтобы замедлить прогрессирование болезни Паркинсона. Действительно, дупликация гена α -синуклеина приводит к раннему началу семейной болезни Паркинсона, но только к 1,5-кратному увеличению уровней белков α -синуклеина.

В одном варианте реализации представлен способ лечения синуклеинопатии, например болезни Паркинсона, у нуждающегося в этом субъекта-человека. В некоторых вариантах реализации болезнь Паркинсона представляет собой болезнь Паркинсона легкой степени. В других вариантах реализации болезнь Паркинсона представляет собой болезнь Паркинсона средней степени. Способ включает введение субъекту-человеку терапевтически эффективного количества антител к α -синуклеину, описанных в настоящем документе (*например*, ВПВ054). В некоторых случаях субъекту вводят антитело к α -синуклеину в дозе 3 мг на кг, 5 мг на кг, 15 мг на кг, 45 мг на кг, 90 мг на кг или 135 мг на кг массы тела субъекта. В других случаях субъекту вводят антитело к α -синуклеину в фиксированной дозе 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг, 6750 мг или 9450 мг. В некоторых случаях субъекту вводят по меньшей мере 2 дозы, по меньшей мере 3 дозы, по меньшей мере 4 дозы, по меньшей мере 5 доз, по меньшей мере 6 доз, по меньшей мере 7 доз, по меньшей мере 8 доз, по меньшей мере 9 доз, по меньшей мере 10 доз, по меньшей мере 11 доз или по меньшей мере 12 доз, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 доз. Внутривенно вводимое антитело к α -синуклеину (*например*, ВПВ054) может проникать в головной мозг, связываться с α -синуклеином и инициировать зависимое или независимое от микроглий выведение/инактивацию, снижать агрегацию α -синуклеина и/или предотвращать прионоподобное внутриклеточное распространение α -синуклеина. Периферическое антитело к α -синуклеину (*например*, ВПВ054) также может действовать в качестве периферического поглотителя α -синуклеина в ЦНС.

В другом варианте реализации это раскрытие представляет способы лечения расстройства, которое характеризуется агрегацией и/или внутриклеточным распределением α -синуклеина. В некоторых вариантах реализации расстройство представляет собой множественную системную атрофию (MSA). В других вариантах реализации расстройство представляет собой деменцию с тельцами Леви (DLB). Способ

включает введение субъекту–человеку терапевтически эффективного количества антител к α –синуклеину, описанных в настоящем документе (*например*, ВПВ054). В некоторых случаях субъекту вводят антитело к α –синуклеину в дозе 3 мг на кг, 5 мг на кг, 15 мг на кг, 45 мг на кг, 90 мг на кг или 135 мг на кг массы тела субъекта. В других случаях субъекту вводят антитело к α –синуклеину в фиксированной дозе 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг, 6750 мг или 9450 мг. В некоторых случаях субъекту вводят по меньшей мере 2 дозы, по меньшей мере 3 дозы, по меньшей мере 4 дозы, по меньшей мере 5 доз, по меньшей мере 6 доз, по меньшей мере 7 доз, по меньшей мере 8 доз, по меньшей мере 9 доз, по меньшей мере 10 доз, по меньшей мере 11 доз или по меньшей мере 12 доз, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 доз.

В еще одном варианте реализации это раскрытие относится к способам лечения состояния, которое характеризуется избыточным накоплением и/или отложением α –синуклеина в центральной нервной системе (*например*, в головном мозге) нуждающегося в этом субъекта–человека. Способ включает введение субъекту–человеку терапевтически эффективного количества антител к α –синуклеину, описанных в настоящем документе (*например*, ВПВ054). В некоторых случаях субъекту вводят антитело к α –синуклеину в дозе 3 мг на кг, 5 мг на кг, 15 мг на кг, 45 мг на кг, 90 мг на кг или 135 мг на кг массы тела субъекта. В других случаях субъекту вводят антитело к α –синуклеину в фиксированной дозе 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг, 6750 мг или 9450 мг. В некоторых случаях субъекту вводят по меньшей мере 2 дозы, по меньшей мере 3 дозы, по меньшей мере 4 дозы, по меньшей мере 5 доз, по меньшей мере 6 доз, по меньшей мере 7 доз, по меньшей мере 8 доз, по меньшей мере 9 доз, по меньшей мере 10 доз, по меньшей мере 11 доз или по меньшей мере 12 доз, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 доз.

В другом варианте реализации раскрытие представляет способ лечения нуждающегося в лечении субъекта–человека, не имеющего симптомов, для снижения или предотвращения избыточного накопления и/или отложения α –синуклеина в центральной нервной системе (*например*, в головном мозге). Способ включает введение субъекту–человеку терапевтически эффективного количества антител к α –синуклеину, описанных в настоящем документе (*например*, ВПВ054). В некоторых случаях субъекту вводят антитело к α –синуклеину в дозе 3 мг на кг, 5 мг на кг, 15 мг на кг, 45 мг на кг, 90 мг на кг или 135 мг на кг массы тела субъекта. В других случаях субъекту вводят антитело к α –синуклеину в фиксированной дозе 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг, 6750 мг или 9450 мг. В некоторых случаях субъекту вводят по меньшей мере 2 дозы, по меньшей мере 3 дозы, по меньшей мере 4 дозы, по меньшей мере 5 доз, по меньшей мере 6 доз, по меньшей мере 7 доз, по меньшей мере 8 доз, по меньшей мере 9 доз, по меньшей мере 10 доз, по меньшей мере 11 доз или по меньшей мере 12 доз, или 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 доз.

Субъект–человек может быть идентифицирован как имеющий избыточное накопление или отложение α –синуклеина в центральной нервной системе (*например*, в

головном мозге) с помощью любого способа, известного в данной области техники. В некоторых вариантах реализации уровень α -синуклеина оценивают посредством *in vivo* визуализации α -синуклеина (например, в головном мозге), которая включает позитронно-эмиссионную томографию (PET), однофотонную эмиссионную томографию (SPECT), оптическую визуализацию в ближней инфракрасной области (NIR), магниторезонансную визуализацию (MRI), визуализацию переносчика дофамина или ультразвуковое зондирование черного вещества. В некоторых из этих вариантов реализации меченое антитело к α -синуклеину (например, меченое ВПВ054) или его α -синуклеин-связывающий фрагмент вводят субъекту-человеку и оценивают связывание антитела с α -синуклеином. Уровень α -синуклеина может также оцениваться другими методами, известными в данной области техники, которые включают, например, анализ α -синуклеина с помощью одной или более методик, выбранных из вестерн-блоттинга, иммунопреципитации, твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), радиоиммуноанализа (RIA), сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS), двумерного гель-электрофореза, масс-спектропии (МС), время-пролетной МС с лазерной десорбцией/ионизацией с использованием матрицы (MALDI-TOF), время-пролетной усиленной поверхностью лазерной десорбцией/ионизацией (SELDI-TOF), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), жидкостной экспресс-хроматографии белков (FPLC), многомерной жидкостной хроматографии (ЖХ) с последующей тандемной масс-спектрометрией (МС/МС) и лазерной денситометрии. В некоторых случаях уровень α -синуклеина в головном мозге субъекта может быть оценен путем анализа уровня α -синуклеина в полученном от субъекта образце крови или плазмы после периферического введения субъекту антитела к α -синуклеину (например, ВПВ054) или его α -синуклеин-связывающего фрагмента и сравнения полученного в ходе анализа уровня α -синуклеина у субъекта с эталонным препаратом, причем разница или близость между уровнем α -синуклеина в образце крови или плазмы и эталонным препаратом коррелирует с уровнем α -синуклеина в головном мозге субъекта.

В некоторых вариантах реализации во всех описанных выше способах лечения субъект-человек имеет риск развития болезни Паркинсона (например, в связи с тем, что субъект имеет такой генетический фактор риска, как мутация в гене SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ1, ATR13A2, PLA2G6, FBXO7, UCHL1, GIGYF2, HTRA2 или EIF4G1), или субъект-человек имеет продромальную болезнь Паркинсона (например, субъект имеет симптомы или кластеры симптомов, связанные с дальнейшим развитием болезни Паркинсона такие как гипосмия, нарушение REM-поведения, себорейный дерматит и/или определенные вегетативные симптомы, включая, но без ограничения этим, ортостатическую гипотензию, импотенцию у мужчин и/или расстройства контроля мочевого пузыря).

В некоторых вариантах реализации во всех описанных выше способах лечения антитело к α -синуклеину или его антиген-связывающий фрагмент селективно связываются с α -синуклеином и содержат (i) домен VH, который на по меньшей мере

70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичен аминокислотной последовательности домена VH ВПВ054 (SEQ ID NO:8), и/или (ii) домен VL, который на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичен аминокислотной последовательности домена VL ВПВ054 (SEQ ID NO:9); или отличается на по меньшей мере от 1 до 5 аминокислотных остатков, но менее чем 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:8 и/или SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его антиген-связывающий фрагмент имеют шесть CDR, которые являются идентичными шести CDR ВПВ054, а любые замены осуществляют в каркасном участке. В некоторых случаях эти антитела к α -синуклеину или α -синуклеин-связывающие фрагменты (i) связывают α -синуклеин, но не связывают в значительной степени β - или γ -синуклеин; и/или (ii) селективно связываются с эпитопом в пределах аминокислот 4–15 SEQ ID NO:12. В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину или его антиген-связывающий фрагмент содержат домен VH, состоящий из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:8, и домен VL, состоящий из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:9.

В некоторых вариантах реализации во всех описанных выше способах лечения антитело к α -синуклеину или его α -синуклеин-связывающий фрагмент селективно связываются с α -синуклеином человека и содержат (i) тяжелую цепь, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10, и/или (ii) легкую цепь, которая на по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11, или отличается на по меньшей мере от 1 до 5 аминокислотных остатков, но менее чем 40, 30, 20, 15 или 10 остатков от SEQ ID NO:10 и/или SEQ ID NO:11. В некоторых вариантах реализации антитело к α -синуклеину содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:10, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:11.

Следующие примеры не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1. Обоснование режима дозирования ВПВ054

Режимы дозирования выбирали на основе данных о безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК) в сыворотке и спинномозговой жидкости (CSF), аффинности ВПВ054 к агрегированному α -синуклеину и смоделированных концентрациях ВПВ054 в CSF после многократных доз.

Разовые внутривенные (в/в) дозы ВПВ054 вплоть до 90 мг/кг включительно у здоровых субъектов демонстрировали приемлемую переносимость. У субъектов измеряли профили ВПВ054 в сыворотке. График, иллюстрирующий концентрацию в сыворотке

(нг/мл) у субъектов–индивидуумов, показан на **Фигуре 1**. Для пациентов рассчитывали средние профили в сыворотке на каждом уровне дозы в указанное время, и они изображены на **Фигуре 2**.

Было установлено, что параметры ФК, измеренные с помощью AUC и C_{max}, изменяются в зависимости от дозы в диапазоне доз от 1 мг/кг до 135 мг/кг. Дозозависимость AUC показана на **Фигуре 3**, а дозозависимость C_{max} показана на **Фигуре 4**.

Концентрации ВПВ054 в CSF после многократных доз моделировали на основе популяционной модели ФК, построенной на основе данных, полученных от однократных в/в доз.

Значения EC₅₀ и EC₉₀ для ВПВ054 с агрегированным α–синуклеином получали из констант *in vitro* связывания антитела с агрегированным α–синуклеином. С использованием этих значений был построен и приведен на **Фигуре 5** график диапазона дозозависимого эффекта для концентрации ВПВ054 в интерстициальной жидкости (ISF) в зависимости от процента связывания мишени α–синуклеина.

С помощью дальнейшего моделирования с использованием данных с однократной нарастающей дозой (SAD) подтверждали дозы ВПВ054 равные 3, 15 и 45 мг/кг, доставляемые в виде в/в инфузии каждые 4 недели. На **Фигуре 6** показаны концентрации CSF в зависимости от времени для доз 3, 15 и 45 мг/кг. На основании моделирования:

(i) Для поддержания концентрации ВПВ054 в CSF и интерстициальной жидкости головного мозга (ISF) на уровне или выше EC₅₀ для большинства субъектов выбирали в/в инфузию 3 мг/кг один раз каждые 4 недели.

(ii) Для поддержания целевого значения в CSF и ISF на уровне EC₉₀ или выше, а также с целью обеспечения адекватного разделения между дозами, чтобы выяснить зависимость между экспозицией и откликом, выбирали в/в инфузию 15 мг/кг один раз каждые 4 недели.

(iii) Для поддержания целевого уровня в CSF и ISF выше EC₉₀ для всех субъектов выбирали в/в инфузию 45 мг/кг один раз каждые 4 недели.

Пример 2. Выбор дозы для Фазы 2

В этом исследовании Фазы 2 пациенты будут получать внутривенную (в/в) инфузию исследуемого препарата (250, 1250 или 3500 мг) один раз каждые 4 недели, всего 13 доз. Уровни дозы ВПВ054 выбирали на основе безопасности, переносимости и фармакокинетики (ФК) ВПВ054 у здоровых добровольцев, неклинических токсикологических данных, аффинности ВПВ054 к агрегированному альфа–синуклеину *in vitro* и смоделированных профилях концентрации ВПВ054 в CSF с течением времени в установившемся состоянии.

В *in vitro* исследованиях было установлено, что ВПВ054 связывается и с растворимой, и с агрегированной формами α–синуклеина с более высокой кажущейся аффинностью связывания агрегатов. Полумаксимальную эффективную концентрацию (EC₅₀) ВПВ054 в случае агрегированного α–синуклеина оценивали при ~0,25 нМ, EC₉₀

составляла ~2,1 нМ (0,0375 мкг/мл и 0,315 мкг/мл, соответственно).

Продолжается исследование Фазы 1, первого исследования с участием людей для оценки однократных возрастающих доз у здоровых добровольцев (HV) возрастом от 40 до 65 лет и субъектов с PD. HV получали в/в дозы препарата от 1 мг/кг до 135 мг/кг или плацебо. Концентрации в сыворотке и CSF у HV описывали с использованием популяционной модели ФК. В дальнейшем, для моделирования 1000 профилей в сыворотке и CSF в установившемся состоянии использовали предполагаемые параметры ФК, а также оценки изменчивости в группе испытуемых и остаточной изменчивости от HV. Чтобы учесть различия в массе между HV и целевой популяцией Фазы 2, в качестве источника распределения массы у пациентов с PD использовали базу данных PPMI.

Чтобы сделать возможным выбор дозы, проводили моделирование профилей в CSF для нескольких уровней доз между 1 мг/кг и 45 мг/кг. Концентрации ВПВ054 в CSF и интерстициальной жидкости головного мозга (ISF) считали равными. Учитывая благоприятный профиль безопасности ВПВ054, в этом исследовании должен быть реализован метод фиксированной дозы.

Моделирования, основанные на предварительных данных в сыворотке и CSF из первого исследования на людях, показывают, что для дозы 250 мг концентрация ВПВ054 в CSF и ISF в установившемся состоянии прогнозируется выше EC_{50} у большинства субъектов. Чтобы увеличить вероятность демонстрации эффективности ВПВ054 для поддержания этих уровней выше EC_{90} у 95% субъектов, выбирали самую высокую дозу (3500 мг). Для поддержания уровня в CSF и ISF на уровне EC_{90} или выше, а также с целью обеспечения адекватного разделения между дозами, чтобы выяснить зависимость между экспозицией и откликом, промежуточную дозу предполагают равной 1250 мг. *Смотрите Фигуру 7.* Сводные статистические данные смоделированных концентраций в CSF в установившемся состоянии для предлагаемых в Фазе 2 доз показаны в **Таблице 2**.

Таблица 2. Сводные статистические данные смоделированных концентраций в CSF в установившемся состоянии (мкг/мл) для предлагаемых доз Фазы 2.

Доза, мг	Смоделированные концентрации в CSF в установившемся состоянии (мкг/мл)		
	Медиана, q50	q5	q95
250	0,076	0,029	0,191
1250	0,369	0,128	0,936
3500	1,07	0,403	2,79

Данные неклинической эффективности, основанные на исследованиях на трансгенных мышцах линии D-Line с геном синуклеина, также предполагают, что доза 250 мг, как ожидается, обеспечит минимальную эффективность. Расчетная эффективная экспозиция у мышей составляла приблизительно 1317 день*мкг/мл. Выведение ВПВ054 у HV в среднем составляет 0,0052 л/ч или 0,1248 л/день. Таким образом, с применением расчета Доза=Кл × AUC, прогнозируемая средняя минимальная фармакологически

эффективная доза составляет приблизительно 164 мг.

В общем, все три дозы должны быть безопасными и хорошо переносимыми людьми. Ожидается, что самая высокая запланированная доза (3500 мг) в установившемся состоянии дает значения средней площади под кривой концентрация–время от нуля до времени следующего приема (AUC_{τ}) и максимальной наблюдаемой концентрации (C_{\max}) приблизительно в 2,3–11 раз меньше, чем таковые, наблюдаемые при уровне, на котором в 26–недельном токсикологическом исследовании на крысах неблагоприятного воздействия не наблюдали (Таблица 3).

Таблица 3. Прогнозируемые AUC_{τ} , C_{\max} в сыворотке в установившемся состоянии и безопасные диапазоны концентраций для предлагаемых доз Фазы 2.

Доза, мг	Прогнозируемые параметры		Безопасные диапазоны концентраций*	
	AUC_{τ} , ч*мкг/мл Медиана (q5–q95)	C_{\max} , мкг/мл Медиана (q5–q95)	AUC_{τ} Медиана (q5–q95)	C_{\max} Медиана (q5–q95)
250	44400 (28000–68300)	134,4 (91,5–199,3)	31 (20–50)	149 (100–219)
1250	220000 (134000–334000)	668 (448–1020)	6,3 (4,2–10)	59 (20–45)
3500	610000 (383000–937000)	1860 (1230–2770)	2,3 (1,5–3,6)	11 (7–16)

*Расчитано на основе среднего $AUC_{0-168ч}$ и C_{\max} после последней дозы ВПВ054 в 26–недельном токсикологическом исследовании на крысах. AUC_{τ} при $NOAEL=AUC_{0-168ч} \cdot 4=1395000$ ч*мкг/мл

Другие варианты реализации

Хотя настоящее изобретение было изложено в сочетании с его подробным описанием, вышеприведенное описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации находятся в рамках объема следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения синуклеинопатии у нуждающегося в этом субъекта–человека, включающий введение внутривенно субъекту–человеку антитела к α –синуклеину в дозе 3 мг на кг, 5 мг на кг, 15 мг на кг, 45 мг на кг или 90 мг на кг массы тела субъекта–человека, причем антитело к α –синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом:

(a) VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH–CDR), причем:

VH–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1;

VH–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и

VH–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и

(b) VL содержит VL–CDR, причем:

VL–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4;

VL–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и

VL–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

2. Способ по п. 1, в котором синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона (PD), деменцию при болезни Паркинсона (PDD), деменцию с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (LBVAD), множественную системную атрофию (MSA), истинную вегетативную недостаточность (PAF) или нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA–I).

3. Способ по п. 1, в котором синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона.

4. Способ лечения избыточного накопления или отложения α –синуклеина в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта–человека, при этом способ включает введение внутривенно субъекту–человеку антитела к α –синуклеину в дозе 3 мг на кг, 5 мг на кг, 15 мг на кг, 45 мг на кг или 90 мг на кг массы тела субъекта–человека, причем антитело к α –синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом:

(a) VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH–CDR), причем:

VH–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1;

VH–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и

VH–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и

(b) VL содержит VL–CDR, причем:

VL–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4;

VL–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и

VL–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

5. Способ по п. 4, в котором субъект–человек был идентифицирован как имеющий избыточное накопление или отложение α –синуклеина в центральной нервной системе.

6. Способ по любому из пп. 1–5, в котором VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8.

7. Способ по любому из пп. 1–5, в котором VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9.

8. Способ по любому из пп. 1–5, в котором VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8, и VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9.

9. Способ по любому из пп. 1–8, в котором антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека.

10. Способ по любому из пп. 1–8, в котором антитело содержит константную область лямбда легкой цепи человека.

11. Способ по любому из пп. 1–5, в котором антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:10, и легкая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:11.

12. Способ по любому из пп. 1–11, в котором антитело к α -синуклеину вводят каждые 4 недели, каждые 3 недели, каждые 2 недели или каждую неделю.

13. Способ по любому из пп. 1–11, в котором 3 мг антитела к α -синуклеину на кг вводят каждые 4 недели.

14. Способ по любому из пп. 1–11, в котором 5 мг антитела к α -синуклеину на кг вводят каждые 4 недели.

15. Способ по любому из пп. 1–11, в котором 15 мг антитела к α -синуклеину на кг вводят каждые 4 недели.

16. Способ по любому из пп. 1–11, в котором 45 мг антитела к α -синуклеину на кг вводят каждые 4 недели.

17. Способ по любому из пп. 1–11, в котором 90 мг антитела к α -синуклеину на кг вводят каждые 4 недели.

18. Способ по любому из пп. 1–17, в котором субъекту-человеку вводят по меньшей мере 2 дозы антитела к α -синуклеину.

19. Способ по любому из пп. 1–17, в котором субъекту-человеку вводят по меньшей мере 12 доз антитела к α -синуклеину.

20. Стерильная композиция, содержащая фиксированную дозу 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг или 6750 мг антитела к α -синуклеину вместе с фармацевтически приемлемым носителем, причем антитело к α -синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом:

(а) VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), причем:

VH-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1;

VH-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и

VH-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и

(b) VL содержит VL-CDR, причем:

VL-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4;

VL-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и

VL-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

21. Стерильная композиция по п. 20, представленная во флаконе.

22. Стерильная композиция по п. 20, представленная в шприце или насосе, приспособленных для внутривенного введения антитела к α -синуклеину.

23. Стерильная композиция по любому из пп. 20–22, в которой VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8.

24. Стерильная композиция по любому из пп. 20–22, в которой VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9.

25. Стерильная композиция по любому из пп. 20–22, в которой VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8, и VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9.

26. Стерильная композиция по любому из пп. 20–25, в которой антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека.

27. Стерильная композиция по любому из пп. 20–25, в которой антитело содержит константную область лямбда легкой цепи человека.

28. Стерильная композиция по любому из пп. 20–22, в которой антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:10, и легкая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:11.

29. Способ лечения синуклеинопатии у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий введение внутривенно субъекту-человеку фиксированной дозы антитела к α -синуклеину из стерильной композиции по любому из пп. 20–28.

30. Способ по п. 29, в котором синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона (PD), деменцию при болезни Паркинсона (PDD), деменцию с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (LBVAD), множественную системную атрофию (MSA), истинную вегетативную недостаточность (PAF) или нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA-I).

31. Способ по п. 29, в котором синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона.

32. Способ лечения избыточного накопления или отложения α -синуклеина в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта-человека, включающий введение субъекту-человеку внутривенно фиксированной дозы антитела к α -синуклеину из стерильной композиции по любому из пп. 20–28.

33. Способ по п. 32, в котором субъект-человек был идентифицирован как имеющий избыточное накопление или отложение α -синуклеина в центральной нервной системе.

34. Способ по любому из пп. 29–33, в котором антитело к α -синуклеину вводят каждые 4 недели, каждые 3 недели, каждые 2 недели или каждую неделю.

35. Способ по любому из пп. 29–33, в котором фиксированную дозу 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг или 6750 мг вводят каждые 4 недели.

36. Способ по любому из пп. 29–35, в котором субъекту–человеку вводят по меньшей мере 2 дозы антитела к α -синуклеину.

37. Способ по любому из пп. 29–35, в котором субъекту–человеку вводят по меньшей мере 12 доз антитела к α -синуклеину.

38. Способ лечения синуклеинопатии у нуждающегося в этом субъекта–человека, включающий введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг или 6750 мг антитела к α -синуклеину, причем антитело к α -синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом:

(a) VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH–CDR), причем:

VH–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1;

VH–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и

VH–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и

(b) VL содержит VL–CDR, причем:

VL–CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4;

VL–CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и

VL–CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

39. Способ по п. 38, в котором синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона (PD), деменцию при болезни Паркинсона (PDD), деменцию с тельцами Леви (DLB), вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви (LBVAD), множественную системную атрофию (MSA), истинную вегетативную недостаточность (PAF) или нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге типа 1 (NBIA–I).

40. Способ по п. 38, в котором синуклеинопатия представляет собой болезнь Паркинсона.

41. Способ лечения избыточного накопления или отложения α -синуклеина в центральной нервной системе у нуждающегося в этом субъекта–человека, включающий введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 210 мг, 225 мг, 250 мг, 350 мг, 375 мг, 1050 мг, 1125 мг, 1250 мг, 3150 мг, 3375 мг, 3500 мг, 6300 мг или 6750 мг антитела к α -синуклеину, причем антитело к α -синуклеину содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, при этом:

(a) VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH–CDR), причем:

VH-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:1;
VH-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:2; и
VH-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:3; и
(b) VL содержит VL-CDR, причем:

VL-CDR1 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:4;
VL-CDR2 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:5; и
VL-CDR3 состоит из аминокислотных остатков SEQ ID NO:6.

42. Способ по п. 41, в котором субъект-человек был идентифицирован как имеющий избыточное накопление или отложение α -синуклеина в центральной нервной системе.

43. Способ по любому из пп. 38–42, в котором VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8.

44. Способ по любому из пп. 38–42, в котором VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9.

45. Способ по любому из пп. 38–42, в котором VH состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:8, и VL состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:9.

46. Способ по любому из пп. 38–45, в котором антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека.

47. Способ по любому из пп. 38–45, в котором антитело содержит константную область лямбда легкой цепи человека.

48. Способ по любому из пп. 38–42, в котором антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:10, и легкая цепь состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:11.

49. Способ по любому из пп. 38–48, в котором антитело к α -синуклеину вводят каждые 4 недели, каждые 3 недели, каждые 2 недели или каждую неделю.

50. Стерильная композиция по любому из пп. 20–28, содержащая фиксированную дозу 250 мг антитела к α -синуклеину.

51. Стерильная композиция по любому из пп. 20–28, содержащая фиксированную дозу 1250 мг антитела к α -синуклеину.

52. Стерильная композиция по любому из пп. 20–28, содержащая фиксированную дозу 3500 мг антитела к α -синуклеину.

53. Способ по любому из пп. 29–37, в котором фиксированная доза составляет 250 мг антитела к α -синуклеину.

54. Способ по любому из пп. 29–37, в котором фиксированная доза составляет 1250 мг антитела к α -синуклеину.

55. Способ по любому из пп. 29–37, в котором фиксированная доза составляет 3500 мг антитела к α -синуклеину.

56. Способ по любому из пп. 38–49, включающий введение внутривенно субъекту–

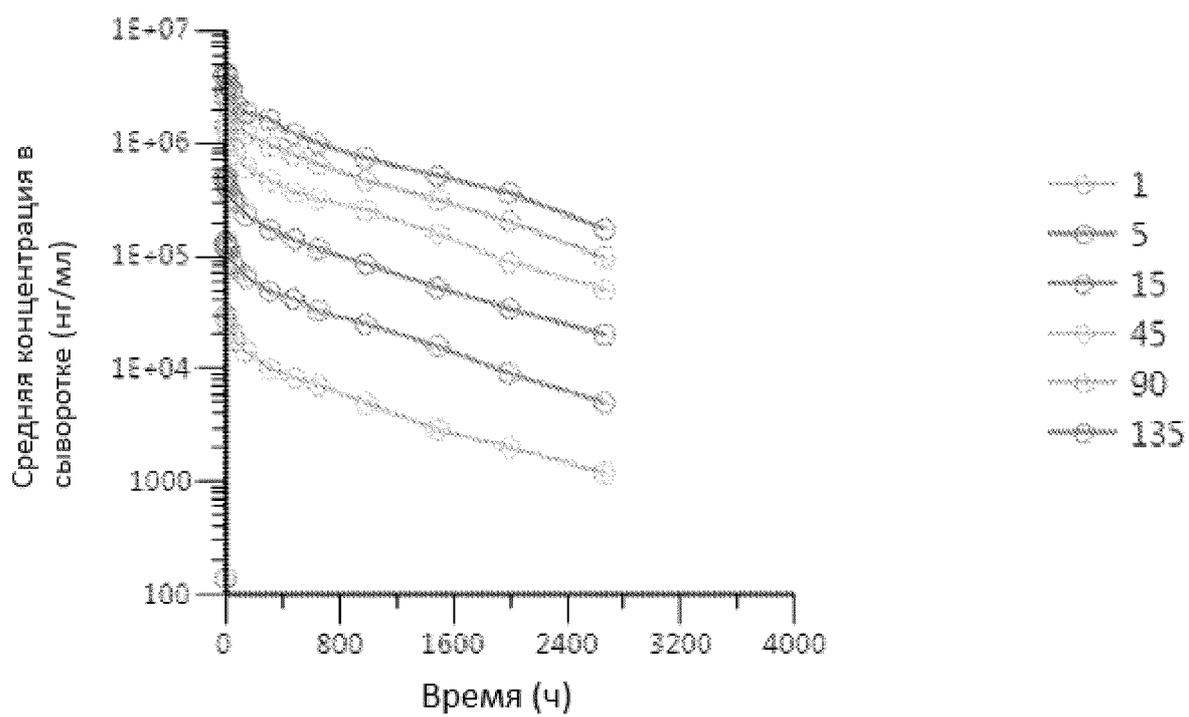
человеку фиксированной дозы 250 мг антитела к α -синуклеину.

57. Способ по любому из пп. 38–49, включающий введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 1250 мг антитела к α -синуклеину.

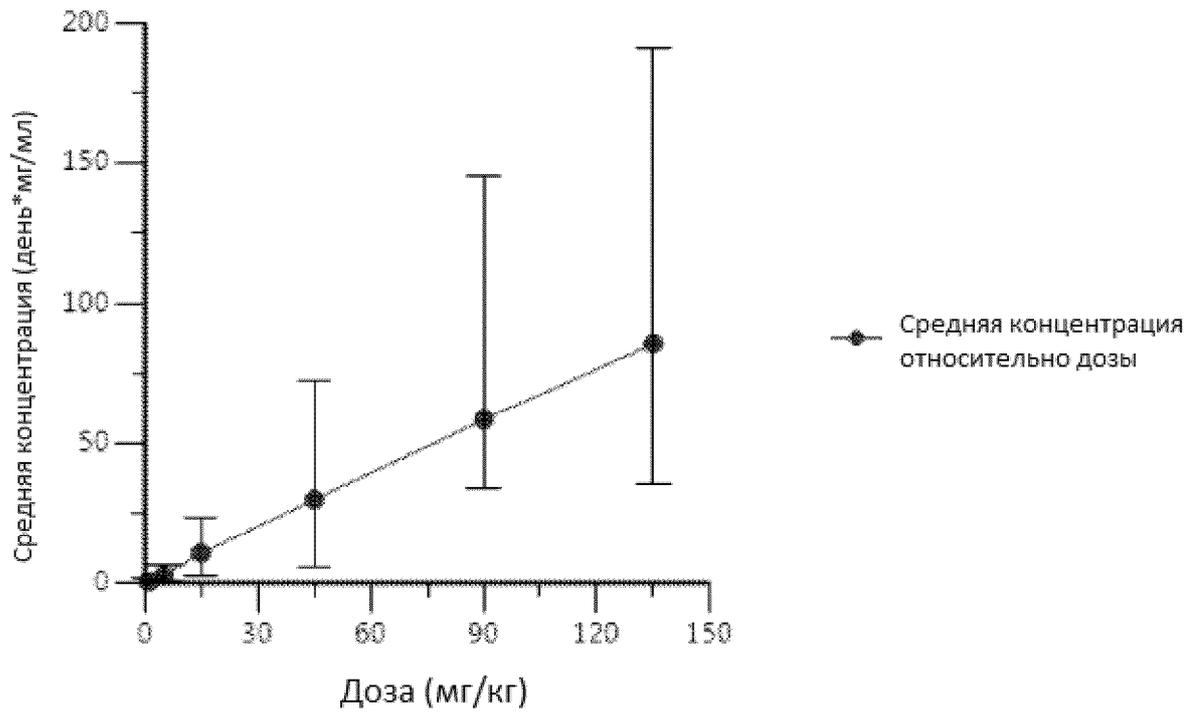
58. Способ по любому из пп. 38–49, включающий введение внутривенно субъекту–человеку фиксированной дозы 3500 мг антитела к α -синуклеину.

По доверенности

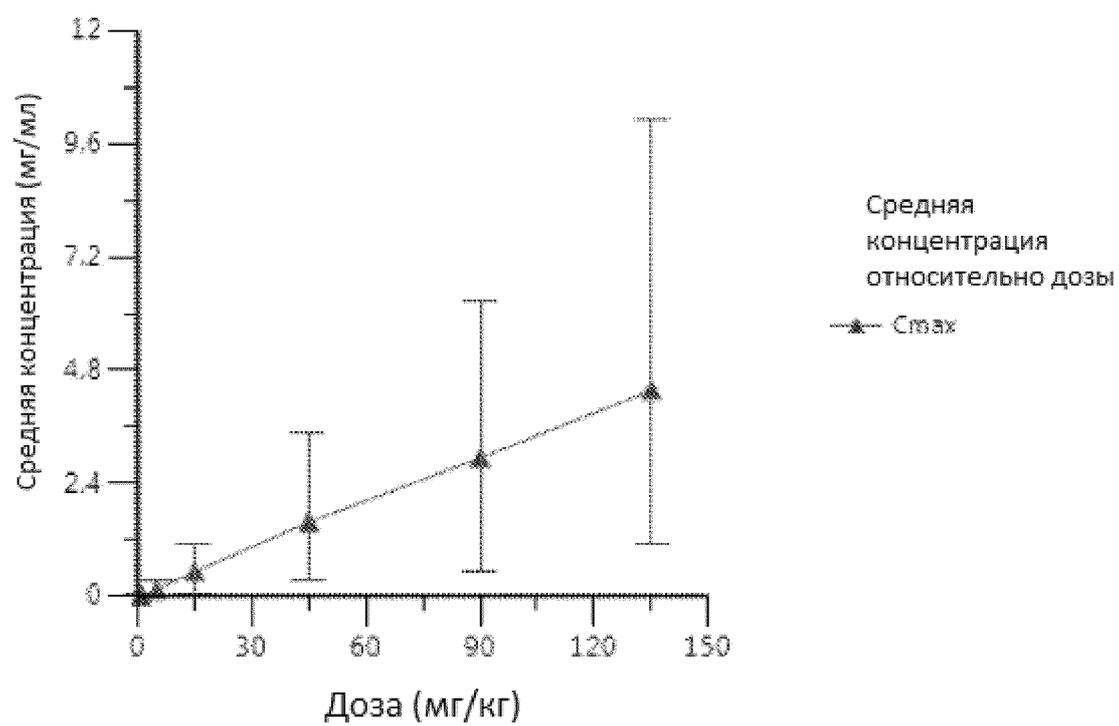
ФИГУРА 2



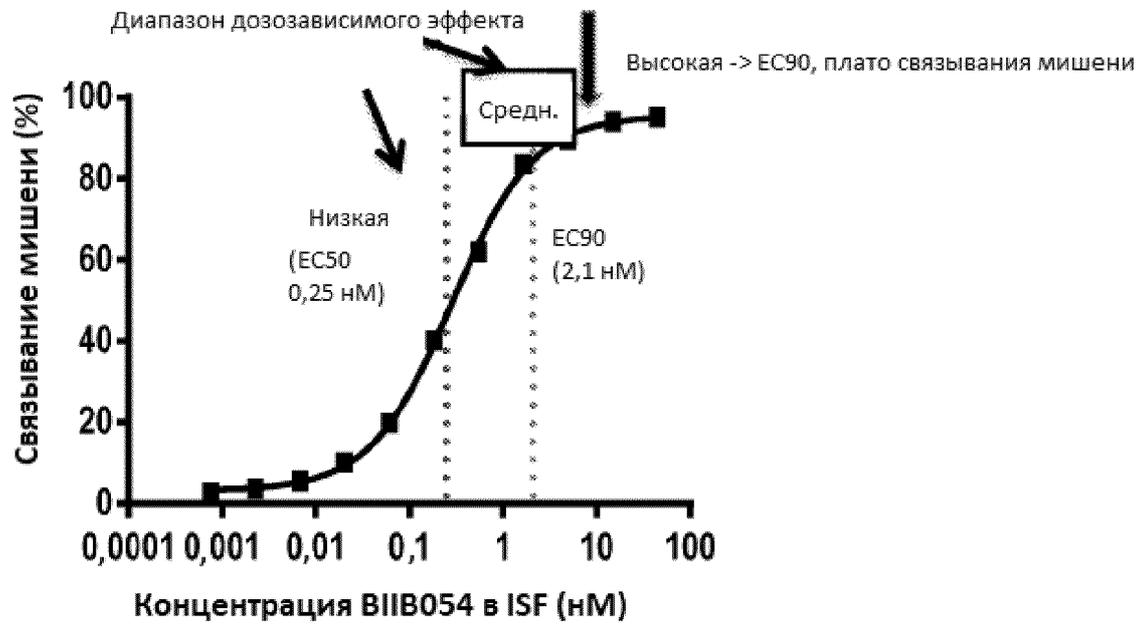
ФИГУРА 3



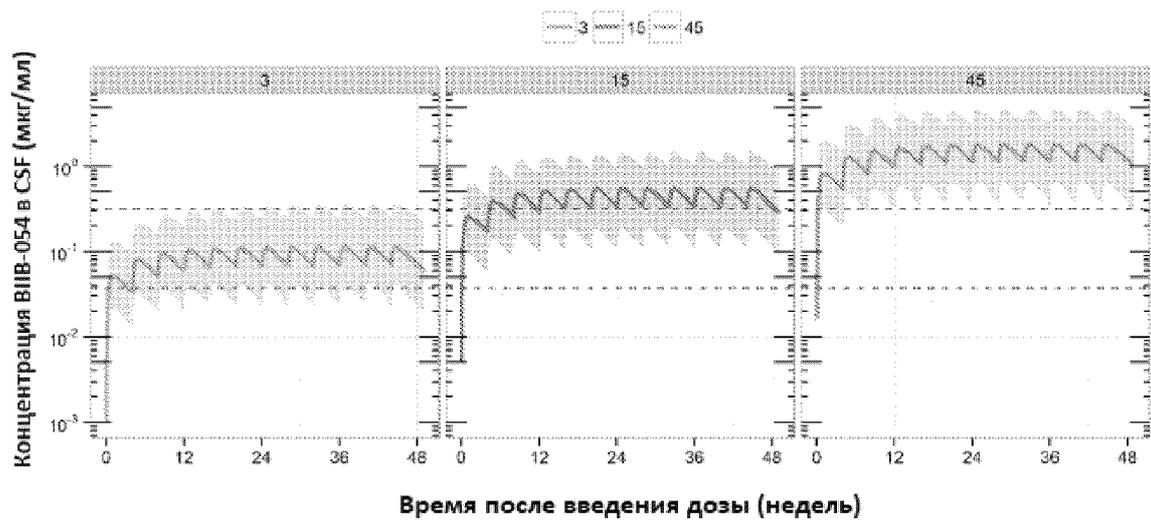
ФИГУРА 4



ФИГУРА 5



ФИГУРА 6



ФИГУРА 7

