

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202090063 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.04.03

(51) Int. Cl. C07K 16/18 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.06.16

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТАУПАТИЙ

(86) PCT/US2017/037991

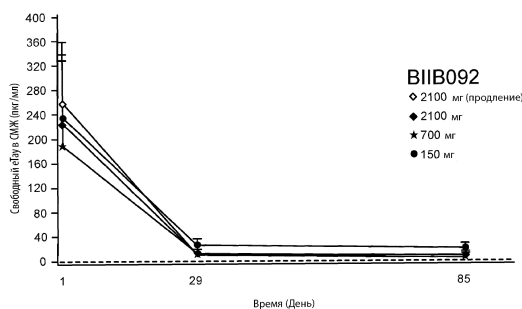
(87) WO 2018/231254 2018.12.20

(71) Заявитель:
БРИСТОЛЬ-МЕЙЕРЗ СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Тиручерай Гиридхар, Берджесс
Майкл Франс, Хуанг Масано Тианеси,
Бартон Лори С., Цюань Юн (US)

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

(57) Предложены режимы дозирования и готовые формы антител против тау человека. Такие готовые формы и режимы дозирования находят применение в лечении таупатий, таких как прогрессирующий надъядерный паралич и болезнь Альцгеймера.



A1

202090063

202090063

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420–560176EA/011

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТАУПАТИЙ

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данная заявка относится в целом к режимам дозирования и готовым формам для клинического применения анти-тау антител.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Накопление, модификации и агрегация белка являются патологическими аспектами многочисленных нейродегенеративных заболеваний. Патологически модифицированные и агрегированные тау, включая гиперфосфорилированные тау-конформеры, являются неизменной отличительной чертой таупатий и коррелируют с тяжестью заболевания.

Ассоциированный с микротрубочками тау-белок присутствует в избытке в центральной нервной системе, и главным образом продуцируется нейронами. Тау способствует сборке, поддерживает структуру, и стабилизирует микротрубочки. Тау-белки получают из альтернативных сплайс-вариантов мРНК, источником которых является единственный ген, которые дают зрелые белки, размер которых колеблется от 352 до 441 аминокислот. В то время как мозг плода содержит единственную изоформу тау (Тау-352), в головном мозге взрослого человека существует шесть изоформ тау. Они отличаются друг от друга тем, что имеют три или четыре повтора связывания микротрубочек, из 31–32 аминокислот каждый, и две, одну, или не имеют аминоконцевых вставок, из 29 аминокислот каждая.

Таупатии представляют собой класс нейродегенеративных заболеваний, возникающих вследствие патологической агрегации Тау-белка в так называемые нейрофибриллярные клубки (НФК) в головном мозге. Некоторые примеры таупатий включают в себя прогрессирующий надъядерный паралич, болезнь Альцгеймера, лобно-височную деменцию (ЛВД), кортикобазальную дегенерацию и дегенерацию лобно-височной долей.

В данной области техники имеется необходимость в способах лечения таупатий. Для лечения растущего числа пациентов с таупатиями, имеется необходимость в терапевтическом антителе к/против тау, и соответствующих режимах дозирования, и готовых формах, для клинического применения такого антитела против тау человека.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится, в частности, к режимам дозирования и готовым формам антител против тау человека или их тау-связывающим фрагментам, и их использованию в лечении таупатии.

В одном аспекте, согласно данному изобретению предложен способ лечения таупатии у человека, нуждающегося в этом. Способ включает в себя введение субъекту-человеку антитела против тау человека в фиксированной дозе 2000 мг. Антитело против тау человека содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменную область легкой цепи иммуноглобулина (VL). VH содержит определяющие

комплементарность области VH (VH-CDR), причем VH-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16; VH-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17; и VH-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18. VL содержит VL-CDR, причем VL-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19; VL-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и VL-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21. В некоторых случаях, антитело против тау человека вводят субъекту-человеку внутривенно. В некоторых случаях, фиксированную дозу 2000 мг антитела против тау человека вводят один раз каждые четыре недели.

В другом аспекте, в данном документе предложен способ лечения таупатии у человека, нуждающегося в этом. Способ включает в себя введение субъекту-человеку антитела против тау человека в фиксированной дозе 150 мг. Антитело против тау человека содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменную область легкой цепи иммуноглобулина (VL). VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), причем VH-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16; VH-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17; и VH-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18. VL содержит VL-CDR, причем VL-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19; VL-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и VL-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21. В некоторых случаях, антитело против тау человека вводят субъекту-человеку внутривенно. В некоторых случаях, фиксированную дозу 150 мг антитела против тау человека вводят один раз каждые четыре недели.

В другом аспекте, в данном документе предложен способ лечения таупатии у человека, нуждающегося в этом. Способ включает в себя введение субъекту-человеку антитела против тау человека в фиксированной дозе 210 мг. Антитело против тау человека содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменную область легкой цепи иммуноглобулина (VL). VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), причем VH-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16; VH-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17; и VH-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18. VL содержит VL-CDR, причем VL-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19; VL-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и VL-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21. В некоторых случаях, антитело против тау человека вводят субъекту-человеку внутривенно. В некоторых случаях, фиксированную дозу 210 мг антитела против тау человека вводят один раз каждые четыре недели.

В другом аспекте, в данном документе предложен способ лечения таупатии у человека, нуждающегося в этом. Способ включает в себя введение субъекту-человеку антитела против тау человека в фиксированной дозе 2100 мг. Антитело против тау человека содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменную область легкой цепи иммуноглобулина (VL). VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), причем VH-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16; VH-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17; и VH-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18. VL содержит VL-CDR, причем VL-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19; VL-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и VL-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21. В некоторых случаях, антитело против тау человека вводят субъекту-человеку внутривенно. В некоторых случаях, фиксированную дозу 2100 мг антитела против тау человека вводят один раз каждые четыре недели.

В другом аспекте, в данном документе предложен способ лечения таупатии у субъекта-человека, нуждающегося в этом. Способ включает в себя введение субъекту-человеку антитела против тау человека в фиксированной дозе 4200 мг. Антитело против тау человека содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменную область легкой цепи иммуноглобулина (VL). VH содержит определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), причем VH-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16; VH-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17; и VH-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18. VL содержит VL-CDR, причем VL-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19; VL-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и VL-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21. В некоторых случаях, антитело против тау человека вводят субъекту-человеку внутривенно. В некоторых случаях, фиксированную дозу 4200 мг антитела против тау человека вводят один раз каждые четыре недели.

Следующие варианты осуществления относятся ко всем из указанных выше аспектам. В некоторых случаях, таупатия представляет собой прогрессирующий надъядерный паралич, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм-деменция, деменцию с аргентофильными частицами, амилоидную ангиопатию британского типа, церебральную амилоидную ангиопатию, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменцию боксеров, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, синдром Дауна, лобно-височную деменцию (ЛВД), лобно-височную деменцию с паркинсонизмом, связанную с хромосомой 17, дегенерацию лобно-височной долей, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, болезнь Халлервордена-Шпатца, миозит с тельцами включения,

множественную системную атрофию, миотоническую дистрофию, болезнь Ниманна–Пика типа С, не–гуамскую болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками, болезнь Пика, постэнцефалитический паркинсонизм, церебральную амилоидную ангиопатию с прионным белком, прогрессирующий подкорковый глиоз, глобулярную глиальную таупатию, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, мульти–инфарктную деменцию, инсульт, хроническую травматическую энцефалопатию, черепно–мозговую травму, сотрясение мозга, судороги, эпилепсию, или острую свинцовую энцефалопатию. В одном случае, таупатия представляет собой прогрессирующий надъядерный паралич. В другом случае, таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера. В некоторых случаях, VH антитела против тау человека содержит или состоит из SEQ ID NO: 12, и VL антитела против тау человека содержит или состоит из SEQ ID NO: 13. В некоторых случаях, антитело против тау человека содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь содержит или состоит из SEQ ID NO: 14, а легкая цепь содержит или состоит из SEQ ID NO: 15.

В другом аспекте, данное изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело против тау человека. Фармацевтическая композиция содержит антитело против тау человека в концентрации 50 мг/мл или 60 мг/мл; гистидин в концентрации 20 mM, сахарозу в концентрации 250 mM, полисорбат–80 в концентрации 0,05% (масса/объем). В некоторых случаях, фармацевтическая композиция дополнительно содержит 50 мкМ диэтилентриаминпентауксусной кислоты (DTPA). Антитело против тау человека содержит VH и VL. VH содержит VH–CDR1, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16; VH–CDR2, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17; и VH–CDR3, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18. VL содержит VL–CDR1, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19; VL–CDR2, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и VL–CDR3, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21. Фармацевтическая композиция имеет pH 6,0.

В некоторых вариантах осуществления, VH антитела против тау человека содержит или состоит из SEQ ID NO:12 и VL антитела против тау человека содержит или состоит из SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь содержит или состоит из SEQ ID NO: 14, а легкая цепь содержит или состоит из SEQ ID NO: 15. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическую композицию используют для лечения таупатии у субъекта–человека, нуждающегося в этом, путем внутривенного введения субъекту–человеку любой из описанных выше фармацевтических композиций. В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции вводят субъекту–человеку в фиксированной дозе 150 мг один раз каждые четыре недели. В других вариантах осуществления, антитело против тау

человека в составе фармацевтической композиции вводят субъекту–человеку в фиксированной дозе 210 мг один раз каждые четыре недели. В еще других вариантах осуществления, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции вводят субъекту–человеку в фиксированной дозе 700 мг один раз каждые четыре недели. В дополнительных вариантах осуществления, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции вводят субъекту–человеку в фиксированной дозе 2000 мг один раз каждые четыре недели. В других вариантах осуществления, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции вводят субъекту–человеку в фиксированной дозе 2100 мг один раз каждые четыре недели. В другом варианте осуществления, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции вводят субъекту–человеку в фиксированной дозе 4200 мг один раз каждые четыре недели. В некоторых случаях, фармацевтическую композицию вводят в течение по меньшей мере 12 недель (например, 12 недель, 16 недель, 20 недель, 24 недель, 30 недель, 32 недель, 36 недель, 40 недель, 48 недель, 52 недель). В некоторых случаях, таупатия представляет собой прогрессирующий надъядерный паралич, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм–деменция, деменцию с аргентофильными частицами, амилоидную ангиопатию британского типа, церебральную амилоидную ангиопатию, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Крейтцфельда–Якоба, деменцию боксеров, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, синдром Дауна, лобно–височную деменцию (ЛВД), лобно–височную деменцию с паркинсонизмом, связанную с хромосомой 17, дегенерацию лобно–височной долей, болезнь Герстмана–Штраусслера–Шейнкера, болезнь Халлервордена–Шпатца, миозит с тельцами включения, множественную системную атрофию, миотоническую дистрофию, болезнь Ниманна–Пика типа С, не–гуамскую болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками, болезнь Пика, постэнцефалитический паркинсонизм, церебральную амилоидную ангиопатию с прионным белком, прогрессирующий подкорковый глиоз, глобулярную глиальную таупатию, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, мульти–инфарктную деменцию, инсульт, хроническую травматическую энцефалопатию, черепно–мозговую травму, сотрясение мозга, судороги, эпилепсию, или острую свинцовую энцефалопатию. В одном варианте осуществления, таупатия представляет собой прогрессирующий надъядерный паралич. В другом варианте осуществления, таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера.

Если не указано иначе, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, которое обычно подразумевается специалистом в данной области техники, к которой принадлежит данное изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, могут быть использованы в практике или тестировании данного изобретения, иллюстративные способы и материалы описаны ниже. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие источники, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки в полном объеме. В случае конфликта, данная заявка,

включая определения, будет иметь преимущество. Материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены быть ограничивающими.

Другие отличительные признаки и преимущества данного изобретения будут очевидны из приведенного ниже подробного описания и формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1 демонстрирует последовательности различных форм внеклеточного Тау (eTau), eTau1 (SEQ ID NO:7); eTau2 (SEQ ID NO:8), eTau3 (SEQ ID NO:9), и eTau4 (SEQ ID NO:10), по сравнению с последовательностью изоформы Тау-441 человека (2N4R) (SEQ ID NO:6).

Фиг. 2 представляет собой схематическое изображение плана исследования для исследования с разовой увеличивающейся дозой, описанного в Примере 1.

Фиг. 3 представляет собой график, изображающий модель доза-эффект (байесовский $E_{\max}$) концентрации eTau в СМЖ в сопоставление с подавлением eTau.

Фиг. 4 представляет собой схематическое изображение плана исследования для исследования с множеством увеличивающихся доз, описанного в Примере 3.

Фиг. 5 представляет собой таблицу исходных демографических характеристик пациентов в исследовании с множеством увеличивающихся доз, описанном в Примере 3.

Фиг. 6 представляет собой таблицу, предоставляющую сводные данные по побочным эффектам для исследования с множеством увеличивающихся доз, описанного в Примере 3.

Фиг. 7 представляет собой таблицу, предоставляющую сводные данные по параметрам сывороточной ФК для ВПВ092 (на День 57 исследования).

Фиг. 8 представляет собой графическое изображение изменения средней концентрации eTau с течением времени. Между дозой ВПВ092 и степенью подавления eTau в СМЖ существовала дозозависимая связь.

Фиг. 9 представляет собой таблицу, предоставляющую данные по свободному eTau в СМЖ в виде процента от исходного значения при дозировании ВПВ092.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к режимам дозирования и готовым формам антител против тау человека или их тау-связывающим фрагментам, и их использованию в лечении таупатий (например, нарушений, связанных с агрегацией тау, таких как прогрессирующий надъядерный паралич, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм-деменция, деменция с аргентофильными частицами, амилоидная ангиопатия британского типа, церебральная амилоидная ангиопатия, кортикобазальная дегенерация, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменция боксеров, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, синдром Дауна, лобно-височная деменция (ЛВД), лобно-височная деменция с паркинсонизмом, связанная с хромосомой 17, дегенерация лобно-височной долей, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, болезнь Халлервордена-Шпатца, миозит с тельцами включения, множественная системная атрофия, миотоническая дистрофия, болезнь Ниманна-Пика типа С, не-гуамская болезнь

двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками, болезнь Пика, постэнцефалитический паркинсонизм, церебральная амилоидная ангиопатия с прионным белком, прогрессирующий подкорковый глиоз, глобулярная глиальная таупатия, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменция с преобладанием нейрофибриллярных клубков, мульти-инфарктная деменция, инсульт, хроническая травматическая энцефалопатия, черепно-мозговая травма, сотрясение мозга, судороги, эпилепсия, или острая свинцовая энцефалопатия.

Тау

Тау представляет собой белок, который играет важную роль в патогенезе ряда нарушений, совместно именуемых таупатиями. Существует несколько различных изоформ белка, ассоциированного с микротрубочками, которые приводятся ниже:

Изоформа фетальный-тау из 352 аминокислот

MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKAE EAGIGD
TPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKGQAN
ATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVV
RTPPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNV KSKIGSTENLKHQP GGGKVQIVYK PVDLSKVTS
KCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLD FKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR
ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNV SSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLAK
QGL (SEQ ID NO:1)

Изоформа Тау-B из 381 аминокислот

MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQTPT
EDGSEEPGSETSDAKSTPTAEAE EAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK
KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSP
GSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNV KSKIG
STENLKHQP GGGKVQIVYK PVDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLD FKDRV
QSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSN
VSSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLAKQGL (SEQ ID NO:2)

Изоформа Тау-C из 410 аминокислот

MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKESPLQTPT
EDGSEEPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAA AQPHTEIP EGTTAEEAGIGDTP
SLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKGQANAT
RIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVVRT
PPKSPSSAKSRLQTAPVMPDLKNV KSKIGSTENLKHQP GGGKVQIVYK PVDLSKVTSK
CGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLD FKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR E
NAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNV SSTGSIDMVDSPQLATLADEV SASLAKQ
GL (SEQ ID NO:3)

Изоформа Тау-D из 383 аминокислот

MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD TDAGLKAE EAGIGD
TPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKGQAN
ATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREP KKVAVV

RTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLDKNVSKKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQS
KCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFK
DRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSR
HLSNVSTGSIDMVDSPQLATLADEVASLAKQGL (SEQ ID NO:4)

Изоформа Tau-E 412 аминокислот

MAEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQTPT
EDGSEEPGSETSDAKSTPTAEAEAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDK
KAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSP
GSPGTPGSRSRTPSLPTPTREPCKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLDKNVSKKIG
STENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTS
KCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR
ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHLNVSTGSIDMVDSPQLATLADEVASLAK
QGL (SEQ ID NO:5)

Изоформа Tau-F (2N4R) из 441 аминокислот

MAEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQTPT
EDGSEEPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAQPHTEIPEGTTAEAGIGDTP
SLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKQANAT
RIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPTREPCKVAVVRT
PPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLDKNVSKKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKC
GSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDR
VQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHLN
NVSTGSIDMVDSPQLATLADEVASLAKQGL (SEQ ID NO:6)

Внутриклеточные уровни тау увеличиваются в мозге пациентов с болезнью Альцгеймера, по сравнению с контролями без деменции (Barton, Am J. Pathol., 137:497–502 (1990); Khatoon, J. Neurochem., 59:750–753 (1992)). Это увеличение уровней внутриклеточного тау, как полагают, является токсичными для нейронов, так как было показано, что уменьшение количества внутриклеточного тау является защитным в мышечных моделях нейродегенерации (Rapoport et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99:6364–6369 (2002); Robertson et al., Science, 316:750–754 (2007)), и, таким образом, снижение количества внутриклеточного тау может быть терапевтически полезным.

Были идентифицированы секретируемые усеченные по N-концу виды тау, обозначенные как внеклеточный Тау (eTau). «eTau», как применяется в данном документе, включает в себя любой полипептид Тау, что может быть обнаружен в спинномозговой жидкости (СМЖ) или межклеточной жидкости (МКЖ). В некоторых вариантах осуществления, eTau представляет собой полипептид, имеющий последовательность, представленную в одной из последовательностей SEQ ID NO: 7–10 Фиг. 1. Виды eTau варьируют от 171 аминокислоты для eTau1 до 67 аминокислот для eTau4. Хотя тау не имеет сигнальной последовательности, было обнаружено, что тау высвобождается в культуральную среду из клеток нейробластомы, тау-экспрессирующих клеток, не относящихся к нейронам, нейронов, полученных из индуцированных плюрипотентных

стволовых клеток человека, и первичных нейронов мыши. Таким образом, тау может секретироваться нестандартно или связанным с экзосомами или другими мембранными везикулами. еТау также был обнаружен в МКЖ мозга как мышей дикого типа, так и P301S тау–экспрессирующих мышей в исследованиях микродиализом. Также он был обнаружен в МКЖ мозга пациентов после черепно–мозговой травмы. Было показано, что Тау регулирует продуцирование Аβ и увеличивает гиперактивность нейронов (Bright et al., *Neurobiology and Aging*, 36:693–709 (2015)). Лечение с помощью еТау–нейтрализующих антител уменьшает еТау–опосредованную гиперактивность нейронов. Смотрите, например, WO 2014/02877. Было высказано предположение, что управляемое еТау увеличение гиперактивности нейронов приводит не только к увеличению секреции Аβ, но также и к дополнительному увеличению секреции еТау и, таким образом, еТау и Аβ запускают механизм заболевания, который делает болезнь хронической. Таким образом, нейтрализация еТау может ингибировать распространение тау и патологии тау в головном мозге, снизить уровни Аβ в центральной нервной системе и результирующую гиперактивность нейронов, и потенциально замедлить клиническое прогрессирование в деменцию.

Антитела против тау человека

Один из способов нейтрализации тау представляет собой использование антител, которые связывают тау. В некоторых вариантах осуществления, эти антитела связываются с эпитопом в пределах аминокислот 1–25, 1–18, 9–18, 13–24, 15–44 или 15–24 SEQ ID NO:6. В конкретном варианте осуществления, антитело против тау связывается с эпитопом в пределах AGTYGLGDRK (SEQ ID NO: 11)

Иллюстративное антитело против тау человека обозначено как «ВІІВ092». ВІІВ092 является гуманизированным IgG4/каппа антителом, которое распознает человеческий тау. Вариабельный домен тяжелой цепи антитела ВІІВ092 имеет следующую аминокислотную последовательность:

EVHLVESGGA LVKPGGSLRL SCAASGFSFS KYGMSWVRQA PGKGLEWVAT
ISSSGSRTYY

PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAMYYCSISW DGAMDYWGQG
TTVTVSS (SEQ ID NO:12)

Вариабельный домен легкой цепи антитела ВІІВ092 имеет следующую аминокислотную последовательность:

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCKSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPQ
LLVYKVSNRF

SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGT YYCFQGSLVP WAFGGGTKVE IK
(SEQ ID NO:13)

Тяжелая цепь антитела ВІІВ092 имеет следующую аминокислотную последовательность:

EVHLVESGGA LVKPGGSLRL SCAASGFSFS KYGMSWVRQA PGKGLEWVAT
ISSSGSRTYY

PDSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAMYYCSISW DGAMDYWGQG
TTVTVSSAST

KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF
PAVLQSSGLY

SLSSVVTVPS SSLGTKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE
FLGGPSVFLF

PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE
EQFNSTYRVV

SVLTVLHQDW LNGKEYCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP
SQEEMTKNQV

SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS FFLYSRLTVD
KSRWQEGNVF

SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK (SEQ ID NO:14)

Легкая цепь антитела ВПБ092 имеет следующую аминокислотную
последовательность:

DVVMTQSPLS LPVTLGQPAS ISCKSSQSIV HSNGNTYLEW YLQKPGQSPQ
LLVYKVS~~NRF~~

SGVPDRFGSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGT YYCFQGSLVP WAFGGGGTKVE
IKRTVAAPSV

FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE
QDSKDSTYSL

SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:15)

В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит три переменных домена CDR легкой цепи ВПБ092. В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит три переменных домена CDR тяжелой цепи ВПБ092. В еще других вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит три переменных домена CDR тяжелой цепи и три переменных домена CDR легкой цепи ВПБ092. CDR могут быть основаны на любом определении CDR в данной области техники, например, определениях Кабата, Чотиа, Чотиа из Abysis, улучшенном Чотиа/AbM, или на основе определения контакта. Последовательности CDR ВПБ092 представлены в Таблице 1 ниже.

Таблица 1: Последовательности CDR ВПБ092

Домен	Аминокислотная последовательность
VH CDR1	KYGMS (SEQ ID NO:16)
VH CDR2	TISSSGSRTYYPD SV KG (SEQ ID NO:17)
VH CDR3	SWDGAMDY (SEQ ID NO:18)
VL CDR1	KSSQSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:19)
VL CDR2	KVSNRFS (SEQ ID NO:20)

Домен	Аминокислотная последовательность
VL CDR3	FQGSLVPWA (SEQ ID NO:21)

В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит CDR1 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:16, CDR2 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:17; и CDR3 VH, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:18; CDR1 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:19, CDR2 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:20; и CDR3 VL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:21.

В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит VH, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:12. В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит VL, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит VH, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:12, и VL, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:13.

В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:14. В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит легкую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:15. В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека или его тау-связывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:14, и легкую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO:15.

В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека представляет собой антитело IgG. В конкретных вариантах осуществления, антитело против тау человека имеет константную область тяжелой цепи, выбранную из, например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE. В одном варианте осуществления, антитело против тау человека имеет изотип IgG4. В другом варианте осуществления, антитело против тау человека имеет изотип IgG1. В еще другом варианте осуществления, антитело против тау человека имеет изотип IgG2. В другом варианте осуществления, антитело против тау человека имеет изотип IgG3. В дополнительных вариантах осуществления, антитело против тау человека имеет константную область легкой цепи, выбранную из, например,

константной области каппа–легкой цепи человека или константной области лямбда–легкой цепи человека. В некотором варианте осуществления, антитело против тау человека представляет собой антитело IgG4/каппа–легкая цепь человека.

В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека представляет собой полноразмерное (целое) антитело или по существу полноразмерное. Белок может содержать, по меньшей мере, одну и предпочтительно две полных тяжелых цепи, и, по меньшей мере, одну, и предпочтительно две полных легких цепи. В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека представляет собой тау–связывающий фрагмент. В некоторых случаях, тау–связывающий фрагмент антитела является Fab, Fab', F(ab')₂, Facb, Fv, одноцепочечным Fv (scFv), sc(Fv)₂, или диателом.

Тяжелая цепь и легкая цепь антител против тау человека, раскрытых в данном документе, могут также содержать сигнальные последовательности. Сигнальные последовательности могут быть выбраны из тех, которые известны в данной области техники, например, MDMRVPAQLLGLLLWFPGSRC (SEQ ID NO:22) или MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC (SEQ ID NO:23).

Антитела, такие как ВІВ092, или их тау–связывающие фрагменты, могут быть получены, например, путем составления и экспрессии синтетических генов, которые кодируют перечисленные аминокислотные последовательности, или путем мутации генов зародышевой линии человека, чтобы получить гены, которые кодируют перечисленные аминокислотные последовательности. Кроме того, такое антитело и другие антитела против тау человека могут быть получены, например, с использованием одного или большего количества следующих способов.

Способы получения антител против тау человека

Анти–человеческий тау антитела или тау–связывающие фрагменты могут быть получены в бактериальных или эукариотических клетках. Некоторые антитела, например Fab', могут быть получены в бактериальных клетках, например, клетках *E. coli*. Антитела могут быть также получены в эукариотических клетках, таких как трансформированные клеточные линии (например, CHO, 293E, COS). Кроме того, антитела (например, scFv') могут экспрессироваться в дрожжевой клетке, такой как *Pichia* (смотрите, например, Powers et al., *J Immunol Methods*. 251:123–35 (2001)), *Hansenula*, или *Saccharomyces*. Для того, чтобы продуцировать антитело интереса, полинуклеотид или полинуклеотиды, кодирующие антитело, конструируют, вносят в вектор экспрессии или экспрессирующие векторы, и затем экспрессируют в подходящих клетках–хозяевах. Для улучшения экспрессии нуклеотидные последовательности генов легкой и тяжелой цепей могут быть перекодированы без изменения (или с минимальным изменением – например, путем удаления С–концевого остатка тяжелой или легкой цепей) аминокислотной последовательности. Области для потенциального перекодирования включают в себя те, которые связаны с инициацией трансляции, использованием кодонов, и возможно непреднамеренным сплайсингом мРНК. Полинуклеотиды, кодирующие антитело против тау человека, содержащее VH и/или VL, HC и/или LC из тау–антител, описанных в

данном документе, будут легко предусмотрены специалистом в данной области техники.

Используют стандартные методы молекулярной биологии для получения рекомбинантного вектора(ов) экспрессии, трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев, и выделения антитела против тау человека.

Если антитела против тау человека или тау-связывающие фрагменты должны экспрессироваться в бактериальных клетках (например, *E. coli*), вектор экспрессии должен иметь характеристики, которые делают возможной амплификацию вектора в бактериальных клетках. Кроме того, когда *E. coli*, такие как JM109, DH5 α , HB101 или XL1-Blue используется 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 таких векторов включают в себя, например, векторы серии M13, векторы серии pUC, pBR322, pBluescript, pCR-Script, pGEX-5X-1 (Pharmacia), «QIAexpress system» (QIAGEN), pEGFP и pET (когда применяют этот вектор экспрессии, хозяин предпочтительно представляет собой BL21, экспрессирующий РНК-полимеразу T7). Вектор экспрессии может содержать сигнальную последовательность для секреции антитела. Для продуцирования в периплазму *E. coli* может быть использована сигнальная последовательность *pelB* (Lei et al., J. Bacteriol., 169:4379 (1987)) в качестве сигнальной последовательности для секреции антитела. Для бактериальной экспрессии могут быть использованы способы с хлоридом кальция или способы электропорации для введения вектора экспрессии в бактериальную клетку.

Если антитело должно экспрессироваться в животных клетках, таких как CHO, COS, и клетках NIH3T3, вектор экспрессии содержит промотор, необходимый для экспрессии в таких 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, 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 маркерные гены селекции. Маркерный ген селекции облегчает отбор клеток-хозяев, в которые был введен вектор (смотрите, например, патенты США № 4399216, № 4634665 и № 5179017). Например, обычно маркерный ген селекции придает устойчивость к лекарственным веществам, таким как G418, гигромицин или метотрексат, клетке-хозяину, в которую был введен вектор. Примеры векторов с маркерами селекции включают в себя pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV и pOP13.

В одном варианте осуществления, антитела против тау человека получают в клетках млекопитающих. Иллюстративные клетки-хозяева млекопитающих для

экспрессии антитела включают в себя клетки яичника китайского хомячка (клетки CHO) (включая клетки dhfr⁻ CHO, описанные в Urlaub and Chasin (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216–4220, применяемые с маркером селекции DHFR, например, как описано в Kaufman and Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601621), клетки 293 эмбриональной почки человека (например, 293, 293E, 293T), клетки COS, клетки NIH3T3, лимфоцитарные клеточные линии, например, миеломные клетки NS0 и клетки SP2, и клетки из трансгенного животного, например, трансгенного млекопитающего. Например, клетка представляет собой эпителиальную клетку молочной железы. В конкретном варианте осуществления, клетка млекопитающего представляет собой клетку CHO–DG44I.

В иллюстративной системе для экспрессии антитела, рекомбинантный вектор экспрессии, кодирующий как тяжелую цепь антитела против тау человека, так и легкую цепь антитела против тау человека (например, ВІВ092), вводят в клетки dhfr⁻ CHO с помощью опосредованной фосфатом кальция трансфекции. В рекомбинантном векторе экспрессии, каждый ген тяжелой и легкой цепей антитела функционально связан с энхансером/регуляторными элементами промотора (например, полученным из SV40, ЦМВ, аденовируса и т. п., например энхансер ЦМВ/регулирующий промотор AdMLP элемент, или энхансер SV40/регулирующий промотор AdMLP элемент) для вызова высоких уровней транскрипции генов. Рекомбинантный вектор экспрессии также несет ген DHFR, который делает возможным отбор клеток CHO, которые были трансфицированы вектором, с использованием селекции метотрексатом/амплификации. Отобранные трансформированные клетки–хозяева культивируют, чтобы обеспечить экспрессию тяжелой и легкой цепей антитела, и антитело выделяют из культуральной среды.

Антитела могут быть также получены с помощью трансгенного животного. Например, патент США № 5849992 описывает способ экспрессии антитела в молочной железе трансгенного млекопитающего. Конструируют трансген, который содержит специфичный для молочной железы промотор, и нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело интереса, и сигнальную последовательность для секреции. Молоко, получаемое от самок таких трансгенных млекопитающих, содержит секретируемое в него антитело интереса. Антитела могут быть очищены от молока, или для некоторых применений, используются напрямую. Также предложены животные, содержащие одну или большее количество нуклеиновых кислот, описанных в данном документе.

Антитела согласно данному изобретению могут быть выделены из или вне (например, среды) клетки–хозяина, и очищены, как, по существу, чистые и однородные антител. Способы выделения и очистки, обычно используемые для очистки антитела могут применяться для выделения и очистки антител, и не ограничиваются каким–либо конкретным способом. Антитела могут быть выделены и очищены путем соответствующего выбора и комбинирования, например, колоночной хроматографии, фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, осаждение в растворителе, экстракции растворителем, перегонки, иммунопреципитации, электрофореза в ДСН–

полиакриламидном геле, изоэлектрофокусирования, диализа и рекристаллизации. Хроматография включает в себя, например, аффинную хроматографию, ионообменную хроматографию, гидрофобную хроматографию, гель-фильтрацию, хроматографию с обращенной фазой 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 осуществлена с использованием жидкофазной хроматографии, такой как ВЭЖЕ и ББЖХ. Колонки, используемые для аффинной хроматографии включают в себя колонку с белком А и колонку с белком G. Примеры колонок с использованием колонки с белком А включают в себя Hyper D, POROS и Sepharose FF (GE Healthcare Biosciences). Данное изобретение также включает в себя антитела, которые являются высоко-очищенными с использованием данных способов очистки.

Готовые формы антитела против тау человека

Любое из антител против тау человека, описанных в данном документе, может быть приготовлено в виде фармацевтической композиции. Фармацевтическая композиция может содержать 10 мг/мл, 60 мг/мл или 50 мг/мл антитела против тау человека, описанного в данном документе. В конкретном варианте осуществления, фармацевтическая композиция содержит 50 мг/мл антитела против тау человека, описанного в данном документе. Кроме того, фармацевтическая композиция содержит гистидин в концентрации 20 mM, сахарозу в концентрации 250 mM, и полисорбат-80 в концентрации 0,05% (масса/объем). В некоторых случаях, фармацевтическая композиция дополнительно содержит 50 мкМ диэтилтриаминпентауксусной кислоты (DTPA). Фармацевтическая композиция имеет pH 6,0.

В некоторых случаях, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции содержит переменную область тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина, содержащую определяющие комплементарность области VH (VH-CDR), и переменную область легкой цепи (VL) иммуноглобулина, содержащую VL-CDR. VH-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16; VH-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17; и VH-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18. VL-CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19; VL-CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и VL-CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21.

В некоторых случаях, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции содержит VH, содержащий или состоящий из SEQ ID NO:12. В некоторых случаях, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции содержит VL, содержащий или состоящий из SEQ ID NO:13. В некоторых случаях, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции содержит VH, содержащий или состоящий из SEQ ID NO:12, и VL, содержащий или состоящий из SEQ ID NO:13.

В некоторых случаях, антитело против тау человека в составе фармацевтической

композиции содержит тяжелую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO:14. В некоторых случаях, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции содержит легкую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO:15. В некоторых случаях, антитело против тау человека в составе фармацевтической композиции содержит тяжелую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO:14, и легкую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO:15.

Показания к применению

Анти-человеческий тау антитела, описанные в данном документе, как ожидается, будут полезны при лечении таупатий. Таупатии представляют собой класс нейродегенеративных заболеваний, связанных с патологической агрегацией тау-белка в нейрофибриллярные клубки или глиофибриллярные клубки в человеческом мозге.

Иллюстративные таупатии включают в себя прогрессирующий надъядерный паралич, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм-деменция, деменцию с аргентофильными частицами, амилоидную ангиопатию британского типа, церебральную амилоидную ангиопатию, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменцию боксеров, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, синдром Дауна, лобно-височную деменцию (ЛВД), лобно-височную деменцию с паркинсонизмом, связанную с хромосомой 17, дегенерацию лобно-височной долей, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, болезнь Халлервордена-Шпатца, миозит с тельцами включения, множественную системную атрофию, миотоническую дистрофию, болезнь Ниманна-Пика типа С, не-гуамскую болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками, болезнь Пика, постэнцефалитический паркинсонизм, церебральную амилоидную ангиопатию с прионным белком, прогрессирующий подкорковый глиоз, глобулярную глиальную таупатию, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, мульти-инфарктную деменцию, инсульт, хроническую травматическую энцефалопатию, черепно-мозговую травму, сотрясение мозга, судороги, эпилепсию, или острую свинцовую энцефалопатию.

В одном варианте осуществления, антитела против тау человека, описанные в данном документе, используются для лечения прогрессирующего надъядерного паралича.

В другом варианте осуществления, антитела против тау человека, описанные в данном документе, используются для лечения болезни Альцгеймера.

Способы лечения

Раскрытие изобретения описывает способы лечения субъектов-людей с таупатией (смотрите выше) с помощью антитела против тау человека, описанного в данном документе, или фармацевтической композиции, описанной в данном документе. В одном варианте осуществления, таупатия представляет собой прогрессирующий надъядерный паралич. В другом варианте осуществления, таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера.

В некоторых вариантах осуществления, способ включает в себя введение

субъекту–человеку, нуждающемуся в этом, антитела против тау человека в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау (например, общего Тау и/или свободного Тау) в внеклеточной жидкости (например, спинномозговой жидкости (СМЖ), межклеточной жидкости (МКЖ), крови, или фракции крови (например, сыворотке или плазме)) у индивида. «Свободный Тау» относится к полипептиду тау, который не связан с анти–человеческий тау антителом. В одном варианте осуществления, свободный Тау является внеклеточным Тау (еТау). «Общий Тау» включает в себя свободный Тау и Тау, который связан с анти–человеческий тау антителом. В одном конкретном варианте осуществления, способ включает в себя введение субъекту–человеку, нуждающемуся в этом, антитела против тау человека в количестве, эффективном, чтобы значительно уменьшить уровень свободного еТау. В некоторых вариантах осуществления, уровень тау (например, общего Тау и/или свободного Тау) значительно снижается в пределах 36 часов после введения антитела против тау человека. В некоторых вариантах осуществления, уровень тау (например, общего Тау и/или свободного Тау) значительно снижается в пределах 24 часов после введения антитела против тау человека. В некоторых вариантах осуществления, уровень свободного еТау значительно снижается в пределах 24 часов после введения антитела против тау человека. В некоторых случаях, эффективное количество антитела против тау человека представляет собой количество, которое является эффективным для значительного снижения уровня тау (например, общего Тау и/или свободного Тау) в внеклеточной жидкости в пределах 48 часов, 36 часов, в пределах 24 часов, в пределах 12 часов, в пределах 8 часов, в пределах 4 часов, в пределах 2 часов, в пределах 1 часа, в пределах 30 минут, в пределах 15 минут или в пределах 5 минут, после введение антитела против тау человека. Например, в некоторых случаях, эффективное количество антитела против тау человека представляет собой количество, которое является эффективным для значительного снижения уровня Тау (например, общего Тау и/или свободного Тау) в внеклеточной жидкости в пределах от 5 минут до около 10 минут, от около 10 минут до около 15 минут, от около 15 минут до около 30 минут, от около 30 минут до около 1 часа, от около 1 часа до около 2 часов, от около 2 часов до около 4 часов, от около 4 часов до около 8 часов, от около 8 часов до около 12 часов, от около 12 часов до около 24 часов, от около 24 часов до около 36 часов, от около 24 до около 48 часов, или от около 36 часов до около 48 часов.

Значительное снижение уровня тау (например, общего Тау и/или свободного Тау) в внеклеточной жидкости (например, СМЖ, МКЖ, крови, или фракции крови (например, сыворотке или плазме)) индивида представляет собой снижение по меньшей мере на 30%, снижение по меньшей мере на 35%, снижение по меньшей мере на 40%, снижение по меньшей мере на 45%, снижение по меньшей мере на 50%, снижение по меньшей мере на 55%, снижение по меньшей мере на 60%, снижение по меньшей мере на 65%, снижение по меньшей мере на 70%, снижение по меньшей мере на 75%, снижение по меньшей мере на 80%, снижение по меньшей мере на 85%, снижение по меньшей мере на 90%, снижение по меньшей мере на 95%, или снижение больше чем на 90%. В некоторых случаях,

значительное снижение представляет собой статистически значимое снижение. В некоторых случаях, значительное снижение представляет собой клинически значимое снижение. В некоторых вариантах осуществления, уровень тау (например, общего Тау и/или свободного Тау) в внеклеточной жидкости снижается до нормального, контрольного уровня (например, около 100 пг/мл). В некоторых вариантах осуществления, уровень Тау (например, общего Тау и/или свободного Тау) в внеклеточной жидкости снижается до неопределяемого уровня. В некоторых случаях, внеклеточная жидкость представляет собой СМЖ. В некоторых случаях, внеклеточная жидкость представляет собой МКЖ. В некоторых случаях, внеклеточная жидкость представляет собой плазму. В некоторых случаях, внеклеточная жидкость представляет собой цельную кровь. В некоторых случаях, внеклеточная жидкость представляет собой сыворотку.

В некоторых случаях, антитело против тау человека, описанное в данном документе, вводят субъекту-человеку в фиксированной дозе 2000 мг. В некоторых случаях, антитело против тау человека вводят субъекту-человеку в фиксированной дозе 2100 мг. В других случаях, антитело против тау человека вводят субъекту-человеку в фиксированной дозе 150 мг. В дополнительных случаях, антитело против тау человека вводят субъекту-человеку в фиксированной дозе 4200 мг. В некоторых вариантах осуществления, отмеченные выше фиксированные дозы антитела против тау человека, описанного в данном документе, вводят субъекту-человеку один раз каждые четыре недели.

В некоторых случаях, антитело против тау человека, описанное в данном документе, вводят субъекту-человеку как часть фармацевтической композиции. В одном варианте осуществления, фармацевтическая композиция содержит 50 мг/мл антитела против тау человека, 20 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы и 50 мкМ ДТРА. Фармацевтическая композиция имеет рН 6,0. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку в количестве, достаточном для доставки фиксированной дозы 2000 мг антитела против тау человека. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку в количестве, достаточном для доставки фиксированной дозы 2100 мг антитела против тау человека. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку в количестве, достаточном для доставки фиксированной дозы 700 мг антитела против тау человека. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку в количестве, достаточном для доставки фиксированной дозы 150 мг антитела против тау человека. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку в количестве, достаточном для доставки фиксированной дозы 210 мг антитела против тау человека. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическую композицию вводят субъекту-человеку в количестве, достаточном для доставки фиксированной дозы 4200 мг антитела против тау человека.

В некоторых вариантах осуществления таких способов, антитело против тау

человека вводят субъекту–человеку, нуждающемуся в этом, внутривенным путем.

В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека 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 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16; VH–CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17; и VH–CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18; и VL содержит VL–CDR, при этом VL–CDR1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19; VL–CDR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и VL–CDR3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21.

В некоторых вариантах осуществления, VH антитела против тау человека содержит или состоит из SEQ ID NO:12 и VL содержит или состоит из SEQ ID NO:13.

В некоторых вариантах осуществления, антитело против тау человека содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь содержит или состоит из SEQ ID NO:14, а легкая цепь содержит или состоит из SEQ ID NO:15.

Следующий пример не следует рассматривать как ограничивающий объем изобретения каким–либо образом.

Примеры

Пример 1: Исследование однократной возрастающей дозы антитела против тау человека, ВПВ092

ВПВ092 представляет собой гуманизированное антитело, которое распознает внеклеточный Тау человека (еТау). Цели данного исследования заключались в оценке безопасности, переносимости и фармакокинетики (ФК) ВПВ092, а также фармакодинамических (ФД) эффектов ВПВ092 на внеклеточный Тау (еТау) после однократной внутривенной (ВВ) инфузии ВПВ092 здоровым субъектам–людям. В частности, ВПВ092 был протестирован, чтобы определить его эффективность в предотвращении передачи тау патологии путем связывания и уменьшения свободного еТау в человеческой СМЖ.

Это исследование было рандомизированным, двойным слепым, плацебо–контролируемым испытанием однократной возрастающей дозы. Здоровым субъектам (возраст: 21–65) в 6 группах возрастающей дозы (21 мг, 70 мг, 210 мг, 700 мг, 2100 мг и 4200 мг ВПВ092), содержащих 8 субъектов в группе, вводили ВПВ092 однократной внутривенной (ВВ) инфузией (6 субъектов) или плацебо (2 субъекта). Смотрите Фиг. 2. Оценки безопасности, а также образцы сыворотки и СМЖ (в том числе 4 поясничных пункции) получали в течение 12 недель. Оценивали фармакокинетические параметры (в сыворотке и СМЖ) и фармакодинамические измерения (концентрации свободного еТау в СМЖ) и соответствующее изменение и процентное изменение по сравнению с исходным значением.

Оказалось, что увеличение пика ($C_{\max}$) и концентрации ($AUC[INF]$) ВПВ092 в сыворотке было пропорциональным дозе. Конечный период полувыведения ВПВ092 составил примерно 25 дней. Концентрации ВПВ092 в СМЖ увеличивались с дозой и, как кажется, пропорционально дозе. Отношение ВПВ092 в СМЖ к сыворотке составляло примерно 0,2% и аналогично по всему диапазону доз. Большинство побочных эффектов были легкими. Небыло никаких серьезных побочных эффектов или прекращений из-за побочных эффектов. Степень и продолжительность подавления eTau увеличивались с дозой. После однократных доз ВПВ092, подавление eTau в СМЖ на 28 день колебалось от 65% до 96% при дозах в пределах от 70 мг до 4200 мг.

Способность ВПВ092 надежно подавлять концентрации свободного eTau в СМЖ в этой фазе 1 исследования демонстрирует, что ВПВ092 является полезным для лечения таупатий человека (например, прогрессирующего надъядерного паралича). Однократные дозы ВПВ092 были безопасными и хорошо переносимыми в дозах до 4200 мг.

Пример 2: Байесовская модель $E_{\max}$

Строили модель доза–ответ (Байесовская $E_{\max}$) концентрации в СМЖ против подавления eTau (смотрите, Фиг. 3). Байесовская модель $E_{\max}$ охватывала наблюдаемое подавление eTau достаточно хорошо.

Пример 3: Исследование многократной возрастающей дозы антитела против тау человека, ВПВ092, у пациентов с прогрессирующим надъядерным параличом

Цель данного исследования заключалась в оценке безопасности, переносимости и фармакокинетических (ФК) и фармакодинамических (ФД) эффектов ВПВ092 на внеклеточный тау (eTau) после внутривенных (ВВ) инфузий ВПВ092 каждые 4 недели (Р4Н) пациентам с прогрессирующим надъядерным параличом (ПНП). В частности, данное исследование было разработано для оценки профиля безопасности ВПВ092 и его способности снижать свободный Тау в СМЖ пациентов с ПНП.

Исходные демографические характеристики для данного исследования показаны на Фиг. 4. Это исследование было рандомизированным, двойным слепым, плацебо–контролируемым, с многократной возрастающей дозой испытанием 48 пациентов с ПНП, из которых 12 (25%) получали плацебо. Трем группам возрастающих доз (150 мг, 700 мг и 2100 мг), состоящим из 8 пациентов в группе, вводили ВВ инфузиями ВПВ092 (6 пациентов) или плацебо (2 пациента) Р4Н в течение 12 недель; 24 дополнительных пациента лечили ВПВ092 в дозе 2100 мг (18 пациентов) или плацебо (6 пациентов), с введением Р4Н в течение 12 недель. Смотрите Фиг. 5. Также всем пациентам была предоставлена возможность принять участие в открытом исследовании с продлением введения. Оценки безопасности, и образцы сыворотки и СМЖ получали в течение 12 недель. Оценивали параметры ФК (в сыворотке и СМЖ), измерения ФД (концентрации свободного eTau в СМЖ), а также соответствующие изменение и процентное изменение по сравнению с исходным значением. Применяли оценки клинических результатов, включая Шкалу оценки ПНП и английскую шкалу оценки повседневной активности.

Средний возраст пациентов составил $67,4 \pm 5,5$ лет; 54,2% были женщинами.

Концентрации ВПВ092 в сыворотке и СМЖ увеличивались с дозой. Процент пациентов, испытывающих побочные эффекты (ПЭ) был похож на таковой групп ВПВ092 и плацебо (~ 75%). Большинство ПЭ были умеренными. Смотрите Фиг. 6. Небыло ни одного случая смерти или прерываний из-за ПЭ. Сводная таблица параметров ФК в сыворотке для ВПВ092 показана на Фиг. 7. Среднее подавление свободного еТау в СМЖ составило примерно 90–96% (День 29) и 91–97% (День 85) для доз от 150 мг до 2100 мг. Несмотря на то, что концентрация в сыворотке и уменьшение свободного еТау в СМЖ увеличивались с дозой ВПВ092, наблюдалось значительное снижение свободного еТау в СМЖ со всеми дозами, используемыми в исследовании. Смотрите Фиг. 8 и 9.

Введение многократных доз ВПВ092 было безопасным и хорошо переносилось для доз вплоть до 2100 мг у пациентов с ПНП.

Пример 4: Выбор доз ВПВ092 исходя из моделированной ФК и подавления еТау

Используя расчетные параметры модели ФК–ФД и изменчивость этих параметров у пациентов ПНП, моделировали 1000 профилей, и получали временную динамику ФК в сыворотке и СМЖ, и ФД (еТау) в СМЖ для двух доз, а именно 2000 мг и 700 мг ВПВ092, которые вводили один раз каждые 4 недели (Р4Н). Концентрации еТау были преобразованы в процент подавления, по отношению к исходному значению каждого субъекта, перед суммированием на основе моделирования. В Таблице 1 ниже показаны сводные статистические данные по процентах подавления еТау по отношению к исходным уровням через 4 недели, 12 недель, 24 недели и 48 недель после режима введения дозы 2000 мг Р4Н.

Таблица 1: Сводные статистические данные по процентах подавления еТау по сравнению с исходным значением после 2000 мг Р4Н (моделированные)

Статистические данные	4 недели	12 недель	24 недель	48 недель
N	1000	1000	1000	1000
Медиана	96,46	97,46	97,57	97,58
Минимум	93,87	94,80	94,82	94,82
Максимум	98,25	98,92	99,03	99,04
10–тый процентиль	95,35	96,34	96,43	96,43
90–тый процентиль	97,37	98,25	98,39	98,40

Таблица 2 демонстрирует сводные статистические данные по процентам подавления еТау по отношению к исходным уровням через 4 недели, 12 недель, 24 недели и 48 недель после режима введения дозы 700 мг Р4Н.

Таблица 2: Сводные статистические данные по процентах подавления еТау по сравнению с исходным значением после 700 мг Р4Н (моделированные)

Статистические данные	4 недели	12 недель	24 недель	48 недель
N	1000	1000	1000	1000
Медиана	93,28	94,75	94,94	94,95
Минимум	88,75	89,97	90,04	90,04
Максимум	96,31	97,68	97,96	98,00
10–тый процентиль	91,85	93,15	93,27	93,28
90–тый процентиль	94,58	96,02	96,28	96,30

Обе дозы 2000 мг и 700 мг ВПВ092, вводимые Р4Н, приводили к надежному подавлению еТау в низшей точке. Доза 2000 мг ВПВ092 ассоциирована с несколько более высоким подавлением (от 3 до 5%) в низшей точке, чем доза 700 мг. Девяносто процентов всех субъектов, которым вводили дозу 2000 мг Р4Н, как ожидалось, имели процентное подавление еТау на уровне или выше 96% в низшей точке. Девяносто процентов всех субъектов, которым вводили дозу 700 мг Р4Н, как ожидалось, имели процентное подавление еТау на уровне или выше 93% в низшей точке.

С учетом надежного и стойкого подавления еТау вплоть до 12 недель после введения доз, составляющих 210 мг и больше, которые были изучены, и примерно в 2 раза более высоких концентраций ВПВ092 в СМЖ, наблюдаемых у пациентов ПНП по сравнению с здоровыми субъектами, введение доз ВПВ092 также может выполняться менее часто, например, один раз каждые 12 недель (Р12Н). Моделирования были выполнены с использованием той же модели ФК–ФД для дозы 2000 мг, которую вводили Р12Н. Подавление еТау подытожено в Таблице 3.

Таблица 3: Сводные статистические данные по процентах подавления еТау по сравнению с исходным значением после 2000 мг Р12Н (моделированные)

Статистические данные	4 недели	12 недель (в низшей точке)	24 недель (в низшей точке)	28 недель	48 недель (в низшей точке)
N	1000	1000	1000	1000	1000
Медиана	96,47	90,08	90,35	96,64	90,36
Минимум	93,46	74,05	74,13	93,54	74,13
Максимум	98,22	95,54	96,05	98,37	96,15
10–тый процентиль	95,35	86,01	86,20	95,46	86,21
90–тый	97,37	92,79	93,11	97,54	93,15

процентиль

Девяносто процентов всех субъектов, которым вводили дозу 2000 мг P12H, как ожидалось, имели процент подавления eTau, составляющий 86% или больше в низшей точке (то есть, в конце 12-недельного периода дозирования).

Тем не менее, ожидалось, что субъекты будут иметь подавление, составляющее 95% или больше в течение одного месяца сразу после инфузии, с легким ослаблением подавления в следующие два месяца.

В целом также ожидается, что дозирование P12D будет связано с надежным и стойким понижением eTau, и может быть предпочтительным для пациентов и медперсонала.

Пример 5: Оптимизация готовой формы ВПВ092 по составу наполнителя

В этой оптимизации стабильности наполнителя, ВПВ092 рассчитывали как 10 мг/мл в 20 мМ гистидинового буфера при pH 5,5, 6,0 и 6,5, содержащем 0,05% ПС-80 и 50 мкМ ДТРА, плюс либо 250 мМ сахарозы, либо 250 мМ сорбита.

Кроме того, ВПВ092 рассчитывали как 20 мг/мл и 50 мг/мл в 20 мМ гистидина при pH 6,0, содержащем 0,05% ПС-80, 50 мкМ ДТРА и 250 мМ сахарозы.

Перечень готовых форм приведен в Таблице 4.

Таблица 4. Сводные данные по готовым формам для исследования оптимизации наполнителя ВПВ092

Сокращение готовой формы	Буффер	pH	Сахар оза (мМ)	Сорб ит (мМ)	ПС -80 (%)	ДТРА (мкМ)	Концен- трация АФИ (мг/мл)
Е1	20 мМ	5,5	250	0	0,05	50	10
Е2	20 мМ	6,0	250	0	0,05	50	10
Е3	20 мМ	6,5	250	0	0,05	50	10
Е4	20 мМ	5,5	0	250	0,05	50	10
Е5	20 мМ	6,0	0	250	0,05	50	10
Е6	20 мМ	6,5	0	250	0,05	50	10
Е7	20 мМ	6,0	250	0	0,05	50	20
Е8	20 мМ	6,0	250	0	0,05	50	50

Все готовые формы хранили при 40 ± 2 °C/ $75 \pm 5\%$ ОВ (относительной влажности) в течение вплоть до трех месяцев, и при температуре 5 ± 3 °C и 25 ± 2 °C/ $60 \pm 5\%$ ОВ вплоть до 12 месяцев. Исходные образцы и образцы контрольных моментов времени оценивали на стабильность АФИ (активный фармацевтический ингредиент) по внешнему виду, pH, A_{280} , ВСЧЖ (высокоточный счетчик частиц в жидкости), ГФХ (гель-фильтрационная хроматография), КОХ (катионообменная хроматография), и ИФА активности. Анализ пептидного картирования проводили только в контрольные моменты времени – начало, два месяца и 12 месяцев. Micro-Flow Imaging проводили только в контрольный момент времени – три месяца. Способы анализа приведены в Таблице 5 и сводные данные по

анализу в каждый контрольный момент времени показаны в Таблице 6.

Таблица 5. Аналитический анализ исследования оптимизации наполнителя ВПВ092

Способ	Сообщаемый результат
Внешний вид	физическое состояние, цвет, прозрачность
рН	рН
Содержание белка по УФ	мг/мл
КОХ	% кислотных вариантов, % основного пика, % основных вариантов
ГФХ	% мономеров, % ВММ, % НММ
ВСЧЖ	совокупно число в мл при ≥ 2 мкм, ≥ 5 мкм, ≥ 10 мкм, ≥ 25 мкм
МFI	Микрочастицы (≥ 2 мкм, ≥ 5 мкм, ≥ 5 мкм с AR $\geq 0,85$, ≥ 10 мкм, ≥ 25 мкм)
ИФА активности	% относительной активности 3
Пептидное картирование	IPN007 химическая деградация 3

¹ Анализ проводили с прогонами $3 \times 0,5$ мл, включая данные из всех трех прогонов

² MFI проводили и сообщали только для контрольного момента времени – три месяца

³ ИФА и анализ пептидного картирования выполняли только в контрольные моменты времени – начало, два месяца, конец.

Таблица 6. Совокупный график исследования оптимизации наполнителя ВПВ092

Условия хранения	Начало	Месяцы					
		1	2	3	6	9	12
5 ± 3 °C	A	B	A	C	D	D	E
25 ± 2 °C/ $60 \pm 5\%$ ОВ		B	A	C	D	D	E
40 ± 2 °C/ $75 \pm 5\%$ ОВ		B	A	C			

A=Анализ в соответствии с Таблицей 2, за исключением MFI.

B=Анализ в соответствии с Таблицей 2, за исключением ИФА, MFI и пептидного картирования.

C=Анализ в соответствии с Таблицей 2, за исключением ИФА и пептидного картирования.

D=Анализ готовых форм E1–E3, E7 и E8 в соответствии с Таблицей 2, за исключением MFI, ИФА и пептидного картирования.

E=Анализ готовых форм E1–E3, E7 и E8 в соответствии с Таблицей 2, за исключением MFI.

Внешний вид

Все образцы во всех контрольных точках времени и условиях, за исключением одного, были оценены как прозрачные, бесцветные растворы, без каких-либо видимых частиц, связанных с продуктом. Было отмечено, что один образец (Е3, шесть месяцев, 25 ± 2 °C /60°5% ОВ), содержит одну большую белую частицу, которую посчитали загрязнением и не допустили дальнейшее тестирование этого конкретного образца.

Измерение pH

Все образцы во всех контрольных точках времени и условиях показывали значения pH, которые были в пределах $\pm 0,1$ pH единиц номинальных значений для каждой готовой формы. Поэтому, любые наблюдаемые различия в pH находились в пределах вариации способа.

Содержание белка согласно спектроскопии УФ/видимого спектра

Все образцы во все моменты времени и условиях показывали концентрации белка, которые не отличались значительно от их соответствующих начальных значений.

Все готовые формы, запланированные как 10 мг/мл (Е1 – Е6), демонстрируют концентрации белка между 9,8–11,4 мг/мл. Следует отметить, что измеренные концентрации готовых форм с сорбитом (Е4 – Е6) были примерно на 0,5 мг/мл выше, чем готовых форм с сахарозой (Е1 – Е3), но это просто отражает несколько более высокие концентрации из-за приготовления образцов. Готовая форма Е7 (запланированная как 20 мг/мл) варьирует в пределах 19,0–20,2 мг/мл, а Е8 (запланированная как 50 мг/мл) варьирует в пределах от 50,0–53,7 мг/мл. Содержание белка согласно А280 не продемонстрировало каких-либо существенных изменений в концентрации белка для всех контрольных моментов времени стабильности для любой проанализированной готовой формы.

Подсчет частиц (БСЧЖ)

Во всех готовых формах наблюдали увеличение числа крупных частиц (10 мкм и 25 мкм) по прошествии контрольных моментов времени стабильности. Тем не менее, не было обнаружено зависимости формирования частиц от температуры хранения. Готовые формы Е1 – Е3 продемонстрировали общее увеличение количества больших частиц до определения в контрольный момент времени 12 месяцев; любые различия между этими тремя готовыми формами существуют, вероятно, из-за вариации способа. Несмотря на то, что тенденции не были очень сильными относительно шума, следует отметить, что в образцах абсолютное количество частиц было значительным. Увеличения количества частиц были особенно заметными в готовых формах Е7 и Е8 (с 20 мг/мл и 50 мг/мл АФИ, соответственно); количество частицы 10 мкм в Е7 увеличилось с 12 частиц в исходный контрольный момент времени, до 1161 частиц в образце девятого месяца/25 °C/ 60% ОВ, количество частиц 10 мкм в Е8 увеличилось с 18 частиц в исходный контрольный момент времени до 1003 частиц в образце девятого месяца/25 °C/ 60% ОВ. Количества частиц в этих двух образцах также были значительно выше для других более долгосрочных контрольных моментов времени стабильности, чем исходные количества частиц. Различия между температурами хранения существовали, вероятно, из-за вариации способа. Для

готовых форм Е4 – Е6, которые анализировали только до третьего месяца, количества частиц до того момента времени были сопоставимы с теми, которые наблюдали в Е1 – Е3, и были меньшими, чем наблюдаемые в Е7 – Е8.

Гель-фильтрационная хроматография

В каждый контрольный момент времени, наблюдалось небольшое, но значительное снижение процента ВММ для всех готовых форм по мере увеличения температуры условий стабильности. В целом, как правило, зависимые от температуры различия в ВММ примесях были меньше для готовых форм (Е1 – Е3), приготовленных с 250 мМ сахарозы, чем для готовых форм (Е4 – Е6), приготовленных с помощью 250 мМ сорбита. На 12-месячный момент времени готовые формы Е2 и Е3 показали самую высокую чистоту основного пика, что указывает на наименьшую агрегацию и фрагментацию АФИ в этих готовых формах.

В пределах данных контрольного момента времени для каждой готовой формы не было каких-либо надежных доказательств увеличения содержания ВММ при любых условиях хранения. Трудность сравнения контрольных моментов времени делает затруднительным более отчетливый вывод. Однако, некоторое сравнение может быть сделано между контрольными моментами времени, когда характеристика контрольного образца в каждом ряде образцов является сопоставимой. Два таких контрольных момента времени представляли собой начальный и конечный контрольный момент времени (12 месяцев), для которых все прогоны контрольных образцов продемонстрировали $1,5 \pm 0,1\%$ ВММ. В этих двух контрольных моментах времени была небольшая разница в содержании ВММ для исследуемых образцов.

Для каждого контрольного момента времени, процент НММ, как наблюдалось, не изменялся существенно (увеличение на 0,1–0,3% для некоторых готовых форм и контрольных моментов времени/условий, для других не наблюдали изменение в проценте НММ).

Катионообменная хроматография

Процент кислых вариантов увеличивался с течением времени для всех готовых форм, и показывал большее увеличение с ростом температуры, и, как наблюдалось, был ниже при более низком рН. И наоборот, процент основных вариантов, при увеличении с течением времени и при более высокой температуре стабильности, был более низким с увеличением рН. Оказалось, не было каких-либо существенных различий в проценте либо кислотных, либо основных вариантов в образцах, приготовленных в более высоких концентрациях (Е7–20 мг/мл, Е8–50 мг/мл) по сравнению с сопоставимым образцом 10 мг/мл, при том же рН (6,0).

В целом, процент основного пика для образцов, которые тестировали до двенадцати месяцев (Е1 – Е3, Е7 – Е8) оказался сопоставимым для этих образцов для всех концентраций, которые были приготовлены с рН 5,5 и 6,0. Образец, приготовленный с рН 6,5 (Е3), показал несколько более низкий процент основного пика по сравнению с образцами с более низким значением рН (70,6% для Е3 по сравнению с 76,9% для Е2 на

12-ий месяц /25 °C/60% ОВ).

Активность согласно иммуноферментному анализу

Образцы продемонстрировали результаты определения активности в диапазоне 82–126%. Не оказалось какой-либо тенденции для процентной активности в зависимости от либо типа готовой формы, либо контрольных моментов времени стабильности/условий.

Пептидное картирование

Пептидные карты интерпретировали с учетом характерных особенностей, полученных с помощью ЖХ/МС. В отношении дезамидирования аспарагина в сайте N33 или N35 легкой цепи, не наблюдали каких-либо существенных отличий от замороженного контрольного образца в готовых формах, хранившихся при 5 °C, даже до 12-ти месяцев. При комнатной температуре (25 °C/60% ОВ), деамидирование выше фонового может быть обнаружено в готовых формах с pH 6,5 (Е3 и Е6) спустя два месяца. Наблюдали значительное деамидирование (увеличение >2% по сравнению с контролем), с зависимостью от pH, через 12 месяцев при 25 °C/60% ОВ. Аналогичное увеличение наблюдали спустя два месяца при 40 °C/75% ОВ, с четкой зависимостью от pH, но с аналогичными результатами для сорбита и сахарозы. Следует отметить, что уровни модификации в контрольном образце, измеренные с помощью УФ (6,1–8,3%), были обосновано похожи на те, которые были измерены для исходного материала с помощью ЖХ/МС (3,0%).

Дезамидирование аспарагина в сайтах N381 или N386 тяжелой цепи весьма соответствовало деамидированию сайтов легкой цепи. Не наблюдали существенных отличий готовых форм, хранившихся при 5 °C, от замороженных контрольных образцов, даже через 12 месяцев. При комнатной температуре (25 °C/60% ОВ), деамидирование выше фонового может быть обнаружено в готовых формах с pH 6,5 (Е3 и Е6) спустя два месяца. Наблюдали значительное деамидирование (увеличение >2% по сравнению с контролем), с зависимостью от pH, через 12 месяцев при 25 °C/60% ОВ. Аналогичное увеличение наблюдали спустя два месяца при 40 °C/75% ОВ, с четкой зависимостью от pH, но с аналогичными результатами для сорбита и сахарозы. Уровни модификации в контрольном образце, измеренные с помощью УФ (5,9– 6,8%), были похожи на те, которые были измерены для исходного материала с помощью ЖХ/МС (3,3%).

В отношении дезамидирования аспарагина в сайте N312 тяжелой цепи, не наблюдали каких-либо существенных отличий от замороженного контрольного образца в течение всего исследования. Даже в контрольные моменты времени – 12 месяцев, 25 °C/60% ОВ, и два месяца, 40 °C/75% ОВ, пиковые проценты существенно не отличалось от замороженного контрольного образца. Это может означать, что этот аспарагиновый сайт не восприимчив к дезамидированию, или что дополнительные разновидности присутствуют в моменты выхода пика, идентифицированного как модифицированный аспарагин, маскируя реакцию деамидирования. Эту теорию поддерживает то, что совокупная модификация N312 была несколько выше в контрольном образце при УФ-анализе (5,1–9,8%), чем в исходном материале при ЖХ/МС (2,8%). Поскольку

сукцинимидная форма Asn/Asp промежуточного соединения была представлена в наибольшем количестве в данных ЖХ/МС, фактическое деамидирование может просто быть ниже (<1%) во все моменты времени.

Гидроксилирование пролина и лизина, хоть и присутствует в значительном количестве в образцах с измененным составом, оказалось, не изменяется со временем, независимо от температуры хранения. Гидроксилирование P189 было очень устойчивым и неизменным во все контрольные моменты времени. Интересно то, что такое гидроксилирование пролина было ниже в замороженном контрольном образце. Уровни гидроксилирования пролина в контрольном образце, измеренные с помощью УФ (1,1–1,6%) были обосновано похожи на те, которые измерили с помощью ЖХ/МС (1,0%). Измерение гидроксилирования K121 дало гораздо большие различия в количествах. Однако, поскольку не наблюдалось каких-либо устойчивых тенденций, можно сделать вывод, что эти различия представляют собой аналитический шум. Уровни гидроксилирования лизина в контрольном образце, измеренные с помощью УФ (4,1–7,9%) были обосновано похожи на те, которые измерили в исходном материале с помощью ЖХ/МС (2,8%).

Окисление метионина в сайте M425 тяжелой цепи было достаточно подходящим для анализа. Маленькие, но предсказуемые, уровни окисления наблюдали во всех готовых формах. Окисление медленно увеличивалось в зависимости от времени и температуры, но не зависело от pH или компонентов готовой формы. Даже после двух месяцев при 40 °C/75% ОВ, окисление увеличилось только на 0,5%. Уровни модификации в контрольном образце, измеренные с помощью УФ (0,2–0,6%), были очень похожи на те, которые были измерены в исходном материале с помощью ЖХ/МС (0,3%).

Подсчет частиц (Micro-Flow Imaging)

Подсчет частиц с помощью MFI выполняли в контрольный момент времени три месяца. В целом, образцы, приготовленные с 250 мМ сорбита, оказалось, демонстрируют более низкие количества частиц при больших размерах частиц (10 мкм и 25 мкм). Среди этих образцов, приготовленных в 250 мМ сахарозы, готовая форма E2, как оказалось, демонстрирует немного более низкие количества частиц в целом.

Не оказалось существенного различия в количествах частиц между готовыми формами с различной концентрацией АФИ.

Другие варианты осуществления

В то время как изобретение было описано в сочетании с его подробным описанием, приведенное выше описание предназначено для иллюстрации и не ограничивает объем изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации находятся в пределах объема нижеследующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения таупатии у субъекта–человека, нуждающегося в этом, причем способ включает в себя внутривенное введение субъекту–человеку фиксированной дозы 2000 мг антитела против тау человека один раз каждые четыре недели, при этом указанное антитело против тау человека содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменную область легкой цепи иммуноглобулина (VL), при этом:

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

VH–CDR1 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16;

VH–CDR2 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17; и

VH–CDR3 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18; и

(b) VL содержит VL–CDR, причем:

VL–CDR1 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19;

VL–CDR2 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и

VL–CDR3 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм–деменцию, деменцию с аргентофильными частицами, амилоидную ангиопатию британского типа, церебральную амилоидную ангиопатию, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Крейтцфельда–Якоба, деменцию боксеров, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, синдром Дауна, лобно–височную деменцию (ЛВД), лобно–височную деменцию с паркинсонизмом, связанную с хромосомой 17, дегенерацию лобно–височной долей, болезнь Герстмана–Штраусслера–Шейнкера, болезнь Халлервордена–Шпатца, миозит с тельцами включения, множественную системную атрофию, миотоническую дистрофию, болезнь Ниманна–Пика типа C, не–гуамскую болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками, болезнь Пика, постэнцефалитический паркинсонизм, церебральную амилоидную ангиопатию с прионным белком, прогрессирующий подкорковый глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, мульти–инфарктную деменцию, инсульт, хроническую травматическую энцефалопатию, черепно–мозговую травму, сотрясение мозга, судороги, эпилепсию, или острую свинцовую энцефалопатию.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что таупатия представляет собой прогрессирующий надъядерный паралич.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера,

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что VH состоит из SEQ ID NO: 12 и VL состоит из SEQ ID NO: 13.

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что

антитело против тау человека содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь состоит из SEQ ID NO:14, а легкая цепь состоит из SEQ ID NO:15.

7. Фармацевтическая композиция, содержащая:

антитело против тау человека в концентрации 50 мг/мл,

гистидин в концентрации 20 мМ,

сахарозу в концентрации 250 мМ,

полисорбат-80 в концентрации 0,05% (масса/объем), и

50 мкМ диэтилентриаминпентауксусной кислоты (ДТРА)

причем антитело против тау человека содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH) и переменную область легкой цепи иммуноглобулина (VL), при этом:

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

VH-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16;

VH-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17; и

VH-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18; и

(b) VL содержит VL-CDR, причем:

VL-CDR1 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19;

VL-CDR2 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20; и

VL-CDR3 состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21, и

при этом композиция имеет pH 6,0.

8. Фармацевтическая композиция по п. 7, отличающаяся тем, что VH состоит из SEQ ID NO: 12 и VL состоит из SEQ ID NO: 13.

9. Фармацевтическая композиция по п. 7, отличающаяся тем, что антитело против тау человека содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелая цепь состоит из SEQ ID NO: 14, а легкая цепь состоит из SEQ ID NO: 15.

10. Способ лечения таупатии у субъекта-человека, нуждающегося в этом, причем указанный способ включает в себя внутривенное введение субъекту-человеку фармацевтической композиции по любому из пп. 7–9.

11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что антитело против тау человека вводят в фиксированной дозе 150 мг один раз каждые четыре недели.

12. Способ по п. 10, отличающийся тем, что антитело против тау человека вводят в фиксированной дозе 210 мг один раз каждые четыре недели.

13. Способ по п. 10, отличающийся тем, что антитело против тау человека вводят в фиксированной дозе 700 мг один раз каждые четыре недели.

14. Способ по п. 10, отличающийся тем, что антитело против тау человека вводят в фиксированной дозе 2000 мг один раз каждые четыре недели.

15. Способ по п. 10, отличающийся тем, что антитело против тау человека вводят в фиксированной дозе 2100 мг один раз каждые четыре недели.

16. Способ по п. 10, отличающийся тем, что антитело против тау человека вводят в

фиксированной дозе 4200 мг один раз каждые четыре недели.

17. Способ по любому из пп. 11–16, отличающийся тем, что фармацевтическую композицию вводят в течение по меньшей мере 12 недель.

18. Способ по любому из пп. 10–17, отличающийся тем, что таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз/комплекс паркинсонизм–деменцию, деменцию с аргентофильными частицами, амилоидную ангиопатию британского типа, церебральную амилоидную ангиопатию, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Крейтцфельда–Якоба, деменцию боксеров, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, синдром Дауна, лобно–височную деменцию (ЛВД), лобно–височную деменцию с паркинсонизмом, связанную с хромосомой 17, дегенерацию лобно–височной долей, болезнь Герстмана–Штраусслера–Шейнкера, болезнь Халлервордена–Шпатца, миозит с тельцами включения, множественную системную атрофию, миотоническую дистрофию, болезнь Ниманна–Пика типа С, не–гуамскую болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками, болезнь Пика, постэнцефалитический паркинсонизм, церебральную амилоидную ангиопатию с прионным белком, прогрессирующий подкорковый глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, мульти–инфарктную деменцию, инсульт, хроническую травматическую энцефалопатию, черепно–мозговую травму, сотрясение мозга, судороги, эпилепсию, или острую свинцовую энцефалопатию.

19. Способ по любому из пп. 10–17, отличающийся тем, что таупатия представляет собой прогрессирующий надъядерный паралич.

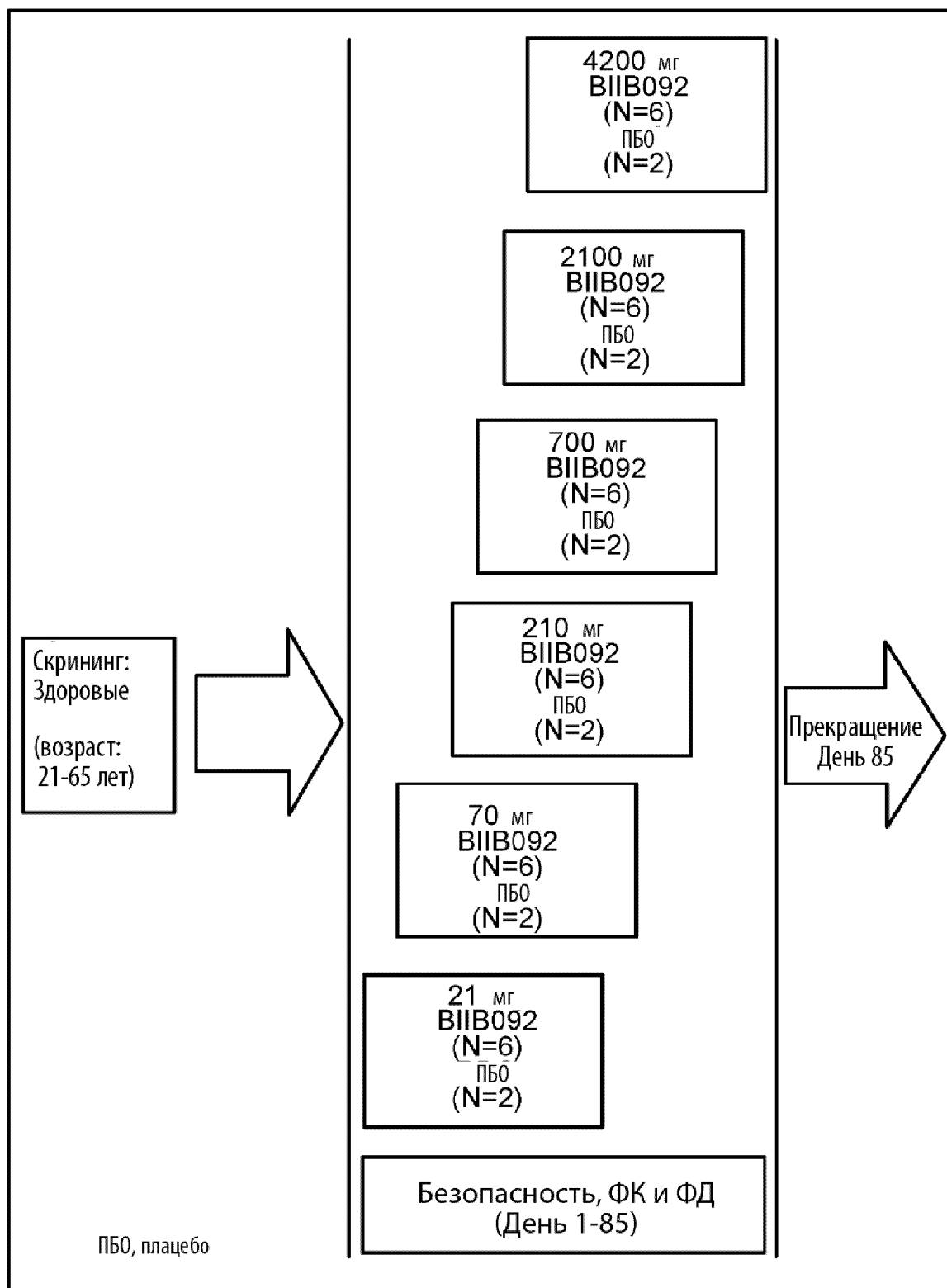
20. Способ по любому из пп. 10–17, отличающийся тем, что таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера.

По доверенности

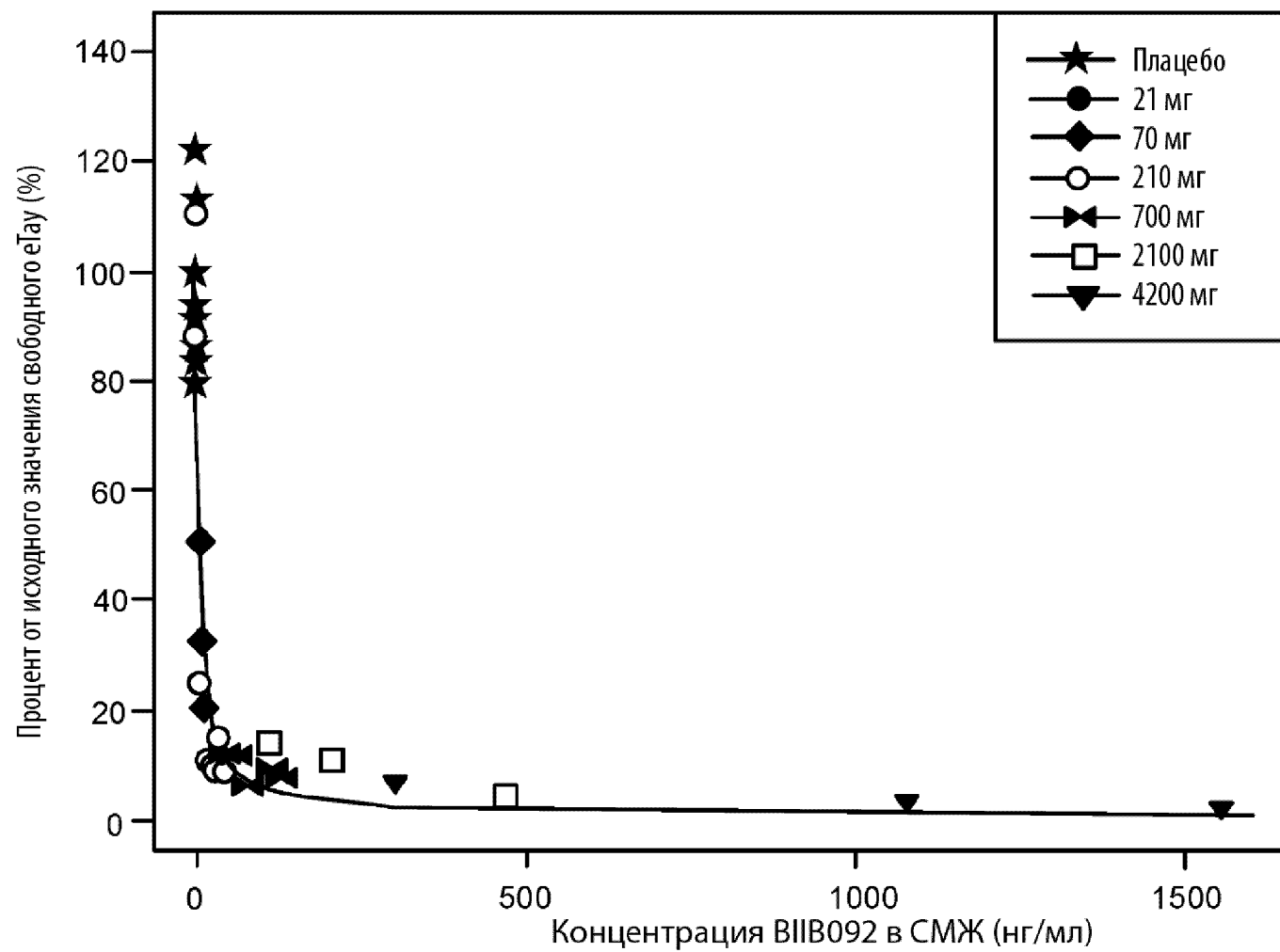
Последовательности eTay

		60
2N4R	MAEPRQEFVME	DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD
eTay1	AEPRQEFVME	DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD
eTay2	AEPRQEFVME	DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD
eTay3	AEPRQEFVME	DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD
eTay4	AEPRQEFVME	DHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGD
		120
2N4R	SETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTEIPEGTTAAEEAGIGDTPSLEDEAAG	
eTay1	-----	---AEEAGIGDTPSLEDEAAG
eTay2	-----	---AEEAGIGDTPSLEDEAAG
eTay3	-----	---AEEAGIGDTPSLEDEAAG
eTay4	-----	---AEEAGIGDTPSLEDEAAG
		180
2N4R	HVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKKIATRPGAAPPGQKGKANATRIPAKTPPAPK	
eTay1	HVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKKIATRPGAAPPGQKGKANATRIPAKTPPAPK	
eTay2	HVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKKIATRPGAAPPGQKGKANATRIPAKTPPAPK	
eTay3	HVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKKIATRPGAAPPGQKGKANATRIPAKTPPAPK	
eTay4	HVTQAR	
		240
2N4R	TPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAK	
eTay1	TPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVR	
eTay2	TPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSR	
		300
2N4R	SRLQTAPVPM	PDNLKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHV
		360
2N4R	PGGGSVQIVYKPVDLSKVT	SKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNI
		420
2N4R	THVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS	GDTSPRHLSNVSSSTGSDMV
		441
2N4R	DSPQLATLADEV	SASLAKQGL

Фиг. 1

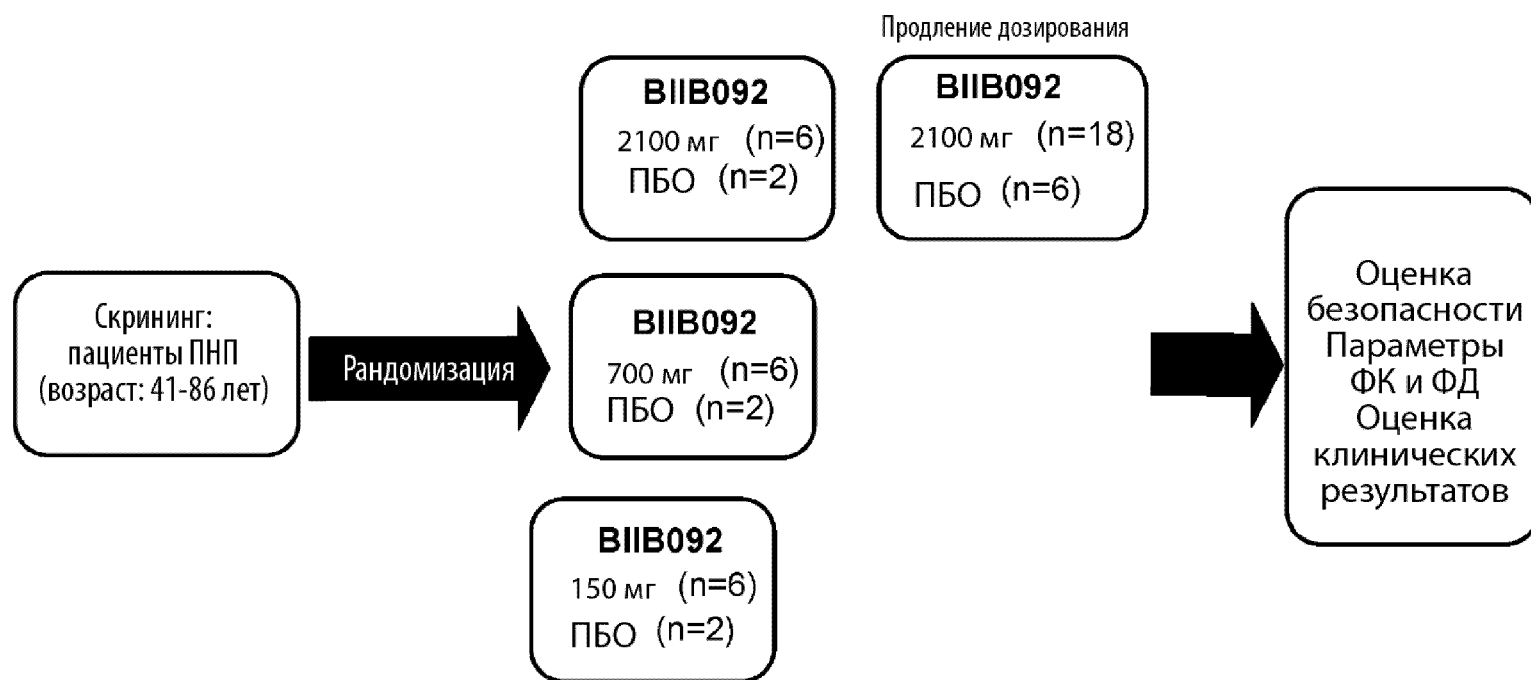


Фиг. 2



Фиг. 3

I_o 99%
 I_{max} 98%
 IC_{50} 5,7 нг/мл



ПБО, плацебо; ФК, фармакокинетика; ФД, фармакодинамика
[www.clinicaltrials.gov:NCT02460094](http://www.clinicaltrials.gov/NCT02460094)

Фиг. 4

Основные демографические характеристики

	ПБО (n=12)	150 мг (n=6)	700 мг (n=6)	2100 мг (n=6)	2100 мг (n=18)
Возраст, лет (среднее $\pm$ CO)	68.6 (6.0)	68.8 (6.6)	64.2 (6.4)	68.7 (6.4)	66.8 (4.1)
Пол (%)					
Мужчины	58.3	50.0	16.7	33.3	50
Женщины	41.7	50.0	83.3	66.7	50
Раса (%)					
Белые	83.3	100	100	66.7	94.4
Азиаты	0	0	0	16.7	0
Другие	16.7	0	0	16.7	5.6
Общий бал средней ШОПНП	33.8	32.5	35.3	29.2	37.8

ПБО, плацебо; ШОПНП, шкальная оценка ПНП; CO, среднеквадратическое отклонение

Фиг. 5

Сводная таблица побочных эффектов

	ПБО (n=12)	150 мг (n=6)	700 мг (n=6)	2100 мг (n=6)	2100 мг (n=18)
Пациенты с любым ПЭ, n (%)	9 (75.0)	4 (66.7)	4 (66.7)	4 (66.7)	15 (83.3)
ПЭ с $\geq 10\%$ встречаемости (все пациенты получали BMS-986168 комбинированно)					
Падение, n (%)	2 (16.7)	1 (16.7)	2 (33.3)	2 (33.3)	5 (27.8)
Травма, n (%)	1 (8.3)	0	0	1 (16.7)	4 (22.2)
ИМП, n (%)	1 (8.3)	1 (16.7)	1 (16.7)	1 (16.7)	3 (16.7)
Головная боль, n (%)	0	0	3 (50.0)	0	2 (11.1)

ПЭ, побочный эффект; ПБО, плацебо; ИМП, инфекция мочевыводящих путей

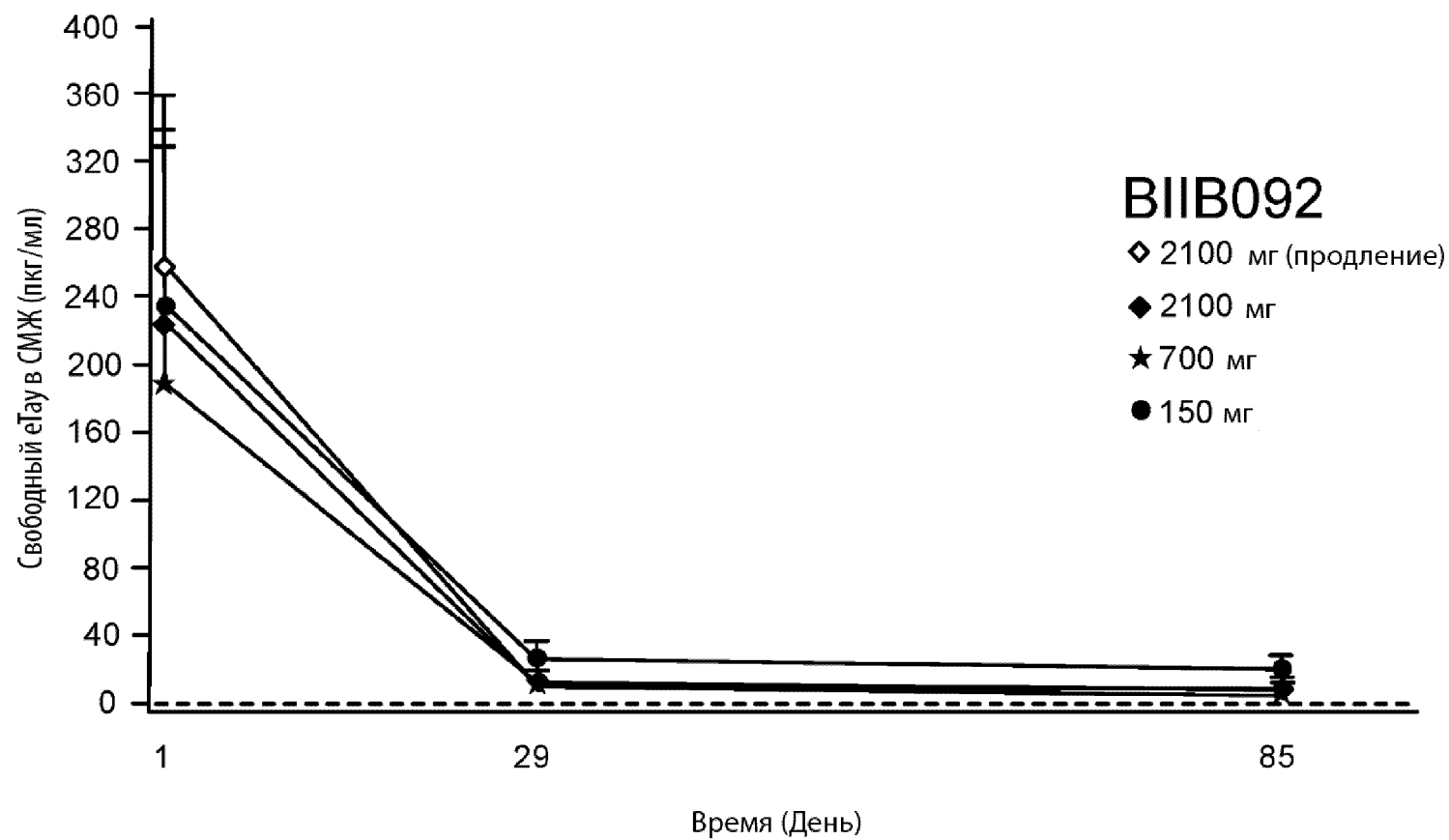
Фиг. 6

Сводная таблица параметров сывороточной ФК для ВІІВ092 (День 57)

Доза (мг) [n]	$C_{\max}$ (мкг/мл) ГС (КВ%)	$AUC_{[T_{au}]}$ (h-мкг/мл) ГС (КВ%)	$T_{\max}$ (ч) Медиана (диапазон)
150 [6]	84.3 (28.6)	21,466 (16.2)	1.45 (0.97-3.00)
700 [6]	368.7 (22.4)	127,494 (31.1)	2.23 (0.82-3.02)
2100 [6]	864.2 (21.1)	284,114 (19.6)	1.50 (1.50-3.00)
2100 18]	927.0 (29.4)	305,083 (24.6)	1.50 (0.97-5.00)

$AUC [T_{au}]$, концентрация (площадь под кривой); КВ, коэффициент вариации; $C_{\max}$, пиковая сывороточная концентрация; ГС, геометрическое среднее; $T_{\max}$, время до $C_{\max}$

Фиг. 7



Фиг. 8

Свободный eTaу в СМЖ как процент от исходного значения при дозировании ВІІВ092

Доза (мг) [n]	Процентное геометрическое среднее от исходного значения (95% ДИ)	
	День 29	День 85
150 [6]	10.3 (7.9-13.5)	8.8 (6.9-11.1)
700 [6]	6.9 (5.4-8.8)	5.0 (3.7-6.8)
2100 и 2100 (прод.) Комбинированно [24]	4.2 (3.4-5.1)	2.8 (2.3-3.5)

Исходное значение = скрининг
ДИ, доверительный интервал

Фиг. 9