



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.11.18

(21) Номер заявки
201690898

(22) Дата подачи заявки
2014.11.25

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

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ТАУПАТИИ

(31) **61/909,965**

(32) **2013.11.27**

(33) **US**

(43) **2016.09.30**

(86) **PCT/US2014/067360**

(87) **WO 2015/081085 2015.06.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АЙПИРИЭН, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Грисволд-Преннер Ирэн, Пэрри Грэм (US)

(74) Представитель:
Угрюмов В.М. (RU)

(56) YANAMANDRA KIRAN ET AL.: "Anti-Tau Antibodies that Block Tau Aggregate Seeding In Vitro Markedly Decrease Pathology and Improve Cognition In Vivo", NEURON, vol. 80, no. 2, 16 October 2013 (2013-10-16), pages 402-414, XP028757368, ISSN: 0896-6273, DOI: 10.1016/J.NEURON.2013.07.046 the whole document in particular, pages 405-406 and 409-411 & Kiran Yanamandra et al.: "Supplementary Information Anti-tau antibodies that block tau aggregate seeding in vitro markedly decrease pathology and improve cognition in vivo", 16 October 2013 (2013-10-16), XP055174817, Retrieved from the Internet: URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3924573/bin/NIHMS548975-supplement-Supplementary_data.docx [retrieved on 2015-03-09]
WO-AГ-2012049570

CHAI X. ET AL.: "Passive Immunization with Anti-Tau Antibodies in Two Transgenic Models: REDUCTION OF TAU PATHOLOGY AND DELAY OF DISEASE PROGRESSION", JOURNAL OF BIOLOGICAL

CHEMISTRY, vol. 286, no. 39, 30 September 2011 (2011-09-30), pages 34457-34467, XP055087176, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M111.229633 the whole document in particular, pages 34466-34467

WO-A2-2010144711

US-A1-2008050383

WO-A2-2012045882

GHOSHAL N.: "Tau Conformational Changes Correspond to Impairments of Episodic Memory in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease", EXPERIMENTAL NEUROLOGY, vol. 177, no. 2, 1 October 2002 (2002-10-01), pages 475-493, XP055089574, ISSN: 0014-4886, DOI: 10.1006/exnr.2002.8014 the whole document in particular, table 1

Einar M. Sigurdsson: "Tau-Focused Immunotherapy for Alzheimer's Disease and Related Tauopathies", Curr Alzheimer Res., 1 October 2009 (2009-10-01), pages 446-450, XP055081685, Retrieved from the Internet: URL: <http://europepmc.org/articles/PMC2891148?pdf=render> [retrieved on 2013-09-30] the whole document in particular, pages 3-4

KFOURY N. ET AL.: "Trans-cellular Propagation of Tau Aggregation by Fibrillar Species", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 287, no. 23, 1 June 2012 (2012-06-01), pages 19440-19451, XP055087124, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M112.346072 the whole document in particular, pages 19449-19450

CASTILLO-CARRANZA DIANA L. ET AL.: "Tau aggregates as immunotherapeutic targets", FRONTIERS IN BIOSCIENCE, vol. 5, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 426-438, XP055053507, ISSN: 1945-0516 the whole document in particular, page 431

WILLIAMS D.R.: "Tauopathies: classification and clinical update on neurodegenerative diseases associated with microtubule-associated protein tau", INTERNAL MEDICINE JOURNAL, vol. 36, no. 10, 1 October 2006 (2006-10-01), pages 652-660, XP055174109, ISSN: 1444-0903, DOI: 10.1111/j.1445-5994.2006.01153.x the whole document in particular, page 652

WO-A2-2014028777

(57) Изобретение относится к способам лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума путем введения индивидууму антитела к тау-белку. Предложены также способы лечения черепно-мозговой травмы и способы лечения инсульта у индивидуума путем введения индивидууму антитела к тау-белку.

Настоящая заявка испрашивает преимущество приоритета по предварительной заявке США на патент 61/909965 (поданной 27 ноября 2013 г.), которая включена в данное описание посредством отсылки.

Предшествующий уровень техники

Ассоциированный с микротрубочками тау-белок (protein Tau) присутствует в больших количествах в центральной нервной системе и синтезируется, в основном, нейронами.

Основная функция тау-белка состоит в стабилизации микротрубочек. Шесть изоформ тау-белка существуют в мозге взрослого человека; изоформы Тау являются продуктами альтернативного сплайсинга одного гена.

Таупатии представляют собой класс нейродегенеративных заболеваний, возникающих вследствие патологической агрегации тау-белка в так называемых нейрофибриллярных сплетениях (neurofibrillary tangles (NFT)) в головном мозге. Некоторые примеры таупатий включают лобно-височную деменцию (frontotemporal dementia (FTD)), болезнь Альцгеймера, прогрессирующий надъядерный паралич, кортико-базальную дегенерацию и дегенерацию лобно-височной доли.

Существует потребность в данной области техники в способах лечения таупатий.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к способам лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума.

Соответственно, в одном аспекте обеспечиваются способы лечения острой таупатии у индивидуума, причем упомянутый способ включает введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости индивидуума.

В одном из вариантов осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 72 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 48 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 36 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 24 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 12 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 8 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 7 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 4 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 2 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 1 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости в течение 30 мин с начала введения антитела к тау-белку.

В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 10%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 15%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 20%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 25%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 30%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 35%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 40%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 45%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 50%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня сво-

бодного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 55%. В другом варианте антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 60%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 65%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 70%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 75%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 80%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 85%. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости по меньшей мере на около 90%.

В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости до неопределяемого уровня. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку является эффективным для снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости до нормального уровня. В другом варианте осуществления пониженный уровень свободного тау-белка сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 2 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления пониженный уровень свободного тау-белка сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 5 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления пониженный уровень свободного тау-белка сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 10 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления пониженный уровень свободного тау-белка сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 24 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления пониженный уровень свободного тау-белка сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 7 дней с начала введения антитела к тау-белку. В некоторых случаях пониженный уровень свободного тау-белка сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 2 недели с начала введения антитела к тау-белку.

В одном варианте осуществления внеклеточная жидкость представляет собой плазму. В другом варианте осуществления внеклеточная жидкость представляет собой цереброспинальную жидкость. В другом варианте осуществления внеклеточная жидкость представляет собой межклеточную жидкость. В другом варианте осуществления внеклеточная жидкость представляет собой кровь.

Антитело к тау-белку можно вводить любым подходящим способом. Например, антитело к тау-белку можно вводить путем подкожного введения, путем интратекального введения или путем внутривенного введения.

В одном из вариантов осуществления антитело к тау-белку вводят в количестве от около 0,1 мг/кг массы тела до около 50 мг/кг массы тела. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку вводят в виде однократной болюсной инъекции. В другом варианте осуществления вводят несколько доз антитела к тау-белку (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 доз). В одном из вариантов осуществления, в котором вводят несколько доз антитела к тау-белку, любые две дозы антитела к тау-белку вводят с интервалом 3 или более дней друг от друга. В другом варианте осуществления, в котором вводят несколько доз антитела к тау-белку, любые две дозы антитела к тау-белку вводят с интервалом 5 или более дней друг от друга. В другом варианте осуществления, в котором вводят несколько доз антитела к тау-белку, любые две дозы антитела к тау-белку вводят с интервалом 7 или более дней друг от друга. В другом варианте осуществления, в котором вводят несколько доз антитела к тау-белку, любые две дозы антитела к тау-белку вводят с интервалом 2 или более недель друг от друга. В другом варианте осуществления, в котором вводят несколько доз антитела к тау-белку, любые две дозы антитела к тау-белку вводят с интервалом 4 или более недель друг от друга. В другом варианте осуществления, в котором вводят несколько доз антитела к тау-белку, любые две дозы антитела к тау-белку вводят с интервалом 2 или более месяцев друг от друга.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ лечения острой таупатии у индивидуума, причем данный способ включает введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации антитела к тау-белку в цереброспинальной жидкости (cerebrospinal fluid (CSF)) индивидуума. В одном варианте осуществления минимальная концентрация анти-тау антитела в цереброспинальной жидкости достигается в течение 1 ч с начала введения антитела к тау-белку. В другом варианте осуществления минимальная концентрация анти-тау антитела в цереброспинальной жидкости составляет по меньшей мере 20 нг/мл. В другом варианте осуществления минимальная концентрация анти-тау антитела в цереброспинальной жидкости составляет по меньшей мере 30 нг/мл. В другом варианте осуществления минимальная концентрация анти-тау антитела в цереброспинальной жидкости обеспечивает молярное отношение антитела к тау-белку и Тау в цереброспинальной жидкости, составляющее по меньшей мере 2:1. В другом варианте осуществления минимальная концентрация анти-тау антитела в цереброспинальной жидкости обеспечивает молярное отношение антитела к

тау-белку и Тау в цереброспинальной жидкости, составляющее по меньшей мере 2,5:1. В любом из вариантов осуществления, описанных выше или здесь, острая таупатия может представлять собой черепно-мозговую травму (например, диффузное аксональное повреждение головного мозга, сотрясение мозга, ушибы, повреждение от "противоудара", синдром второго воздействия, проникающую рану, синдром тряски младенца и синдром окружения. В любом из вариантов осуществления, описанных выше или здесь, острая таупатия может представлять собой инсульт. В любом из вариантов осуществления, описанных выше или здесь, острая таупатия может представлять собой хроническую травматическую энцефалопатию. Настоящее изобретение дополнительно относится к способу лечения черепно-мозговой травмы у индивидуума, причем данный способ включает введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости индивидуума. В некоторых случаях антитело вводят в течение 48 ч после черепно-мозговой травмы. В некоторых случаях антитело вводят в виде однократной дозы. В некоторых случаях антитело вводят в виде многократных доз. В некоторых случаях антитело вводят каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 6 недель, каждые 8 недель, каждые 3 месяца или каждые 6 месяцев.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ лечения инсульта у индивидуума, причем данный способ включает введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости индивидуума. В некоторых случаях антитело вводят в течение 48 ч после инсульта. В некоторых случаях антитело вводят в виде однократной дозы. В некоторых случаях антитело вводят в виде многократных доз. В некоторых случаях антитело вводят каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 6 недель, каждые 8 недель, каждые 3 месяца или каждые 6 месяцев.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ лечения острой таупатии у индивидуума, причем данный способ включает введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня свободного тау-белка во внеклеточной жидкости индивидуума в течение периода времени, достаточного для понижения уровней Аβ во внеклеточной жидкости. В одном из вариантов осуществления антитело вводят в виде однократной дозы. В другом варианте осуществления антитело вводят в виде многократных доз. В другом варианте осуществления антитело вводят каждую неделю, каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 6 недель, каждые 8 недель, каждые 3 месяца или каждые 6 месяцев. В любом из вариантов осуществления, описанных выше или здесь, уровень Аβ значительно понижается в течение периода времени, составляющего от около 5 дней до около 15 дней с начала введения антитела к тау-белку.

Любое подходящее антитело к тау-белку может быть использовано в способах, описанных в настоящем документе. Примером антитела к тау-белку служит hu-IPN002 (также известное как IPN007 и IPN002 вариант 2), содержащее тяжелую и легкую цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO: 37 и 41 соответственно, или его антигенсвязывающие фрагменты и варианты. hu-IPN002 представляет собой гуманизованное иммуноглобулиновое (IgG4), моноклональное антитело, которое связывается с внеклеточным Тау.

В одном из вариантов осуществления антитело содержит CDR-домены (от complementarity-determining regions, определяющие комплементарность области) тяжелой и легкой цепи или переменные области hu-IPN002. Соответственно, в одном из вариантов осуществления антитело содержит домены CDR1, CDR2 и CDR3 из VH-области hu-IPN002, имеющей последовательность, показанную в SEQ ID NO: 37, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 из VL-области hu-IPN002, имеющей последовательность, показанную в SEQ ID NO: 41. В другом варианте осуществления антитело содержит домены CDR1 CDR2 и CDR3 из тяжелой цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно, и домены CDR1 CDR2 и CDR3 из легкой цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO: 7, 8 и 9 соответственно. В другом варианте осуществления антитело содержит VH- и/или VL-области, имеющие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 37 и/или SEQ ID NO: 41 соответственно. В другом варианте осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновых кислот, показанных в SEQ ID NO: 29 и/или SEQ ID NO: 33 соответственно. В другом варианте осуществления антитело конкурирует за связывание с тем же эпитопом на Тау, что и упомянутые выше антитела, и/или связывается с ним. В другом варианте осуществления антитело имеет по меньшей мере около 90% идентичности аминокислотной последовательности переменной области с вышеупомянутыми антителами (например, по меньшей мере около 90%, 95% или 99% идентичности переменной области с SEQ ID NO: 37 или SEQ ID NO: 41).

В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, может специфически связываться с эпитопом в пределах аминокислот от 1 до 158 из 2N4R Тау. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, может специфически связываться с эпитопом в пределах аминокислот от 2 до 18 тау-белка. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, может специфически связываться с эпитопом в пределах аминокислот от 7 до 13 или из числа аминокислот от 25 до 30 тау-белка. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, мо-

жет специфически связываться с эпитопом в пределах аминокислот от 15 до 24 тау-белка. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, может специфически связываться с эпитопом в пределах аминокислот от 28 до 126 из 2N4R Тау. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, может специфически связываться с эпитопом в пределах аминокислот от 150 до 158 из 2N4R Тау. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, может связываться с линейным эпитопом. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, может связываться с эпитопом, который находится внутри тау-полипептида, имеющего по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью eTau4, изображенной на фиг. 9.

В другом варианте осуществления антитело к тау-белку, которое вводят, может представлять собой антитело к тау-белку, которое конкурирует за связывание с антителом, которое включает в себя: а) область легкой цепи, содержащую: i) домен CDR1 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 7; (ii) домен CDR2 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 8; и (iii) домен CDR3 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 9; и б) область тяжелой цепи, содержащую: (i) домен CDR1 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 10; (ii) домен CDR2 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 11; и (iii) домен CDR3 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 12. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку представляет собой антитело к тау-белку, которое включает в себя: а) область легкой цепи, содержащую: i) домен CDR1 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 7; (ii) домен CDR2 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 8; и (iii) домен CDR3 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 9; и б) область тяжелой цепи, содержащую: (i) домен CDR1 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 10; (ii) домен CDR2 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 11; и (iii) домен CDR3 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 12. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку представляет собой антитело к тау-белку, которое специфически связывается с эпитопом, независимо от фосфорилирования аминокислот внутри эпитопа. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку представляет собой гуманизированное антитело к тау-белку.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 показаны уровни IPN002 в плазме крови и в цереброспинальной жидкости (CSF) после однократной инъекции IPN002 яванским макакам.

На фиг. 2 изображен эффект IPN002 на уровне Тау в CSF (цереброспинальной жидкости) у яванских макак, получавших IPN002.

На фиг. 3 изображен эффект IPN002 на уровне белка Аβ в CSF у яванских макак, получавших IPN002.

На фиг. 4А и 4В показаны уровни hu-IPN002 в сыворотке крови не относящихся к человеку приматов (non-human primates, NHP), получавших 5 мг/кг (фиг. 4А) или 20 мг/кг (фиг. 4В) hu-IPN002.

На фиг. 5А и 5В показаны уровни hu-IPN002 в CSF не относящихся к человеку приматов, получавших 5 мг/кг (фиг. 5А) или 20 мг/кг (фиг. 5В) hu-IPN002.

На фиг. 6 представлены сводные фармакокинетические данные, изображенные на фиг. 4А и 4В и 5А и 5В.

На фиг. 7 изображен эффект от введения hu-IPN002 антитела на уровень свободного тау-белка в цереброспинальной жидкости не относящихся к человеку приматов, получавших 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002 антитела.

На фиг. 8 изображен эффект от введения hu-IPN002 антитела на уровень Аβ40 в CSF не относящихся к человеку приматов, получавших 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002 антитела.

На фиг. 9 представлена аминокислотная последовательность 2N4R Тау (SEQ ID NO: 72), выровненная с аминокислотной последовательностью eTau4 (SEQ ID NO: 71).

На фиг. 10 изображено наличие фрагментов Тау в CSF у лиц с вероятной хронической травматической энцефалопатией.

На фиг. 11А и 11В представлены аминокислотные последовательности VH-области (фиг. 11А) и VL-области (фиг. 11В) из IPN001. Определяющие комплементарность области (complementarity-determining regions (CDR)) выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

На фиг. 12А и 12В представлены аминокислотные последовательности VH-области (фиг. 12А) и VL-области (фиг. 12В) из IPN002. Определяющие комплементарность области (CDR) выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

На фиг. 13 представлена аминокислотная последовательность варианта 1 VH-области гуманизированного IPN002 и нуклеотидная последовательность, кодирующая данную аминокислотную последовательность.

На фиг. 14 представлена аминокислотная последовательность варианта 2 VH-области гуманизированного IPN002 и нуклеотидная последовательность, кодирующая данную аминокислотную последовательность.

На фиг. 15 представлена аминокислотная последовательность варианта 3 VH-области гуманизированного IPN002 и нуклеотидная последовательность, кодирующая данную аминокислотную последовательность.

На фиг. 16 представлена аминокислотная последовательность варианта 4 VH-области гуманизированного IPN002 и нуклеотидная последовательность, кодирующая данную аминокислотную последовательность.

На фиг. 17 представлена аминокислотная последовательность варианта 1 V_κ-области гуманизированного IPN002; и нуклеотидная последовательность, кодирующая данную аминокислотную последовательность.

На фиг. 18 представлена аминокислотная последовательность варианта 2 V_κ-области гуманизированного IPN002 и нуклеотидная последовательность, кодирующая данную аминокислотную последовательность.

На фиг. 19 представлена аминокислотная последовательность варианта 3 V_κ-области гуманизированного IPN002 и нуклеотидная последовательность, кодирующая данную аминокислотную последовательность.

На фиг. 20 представлена аминокислотная последовательность варианта 4 V_κ-области гуманизированного IPN002 и нуклеотидная последовательность, кодирующая данную аминокислотную последовательность.

На фиг. 21 представлены аминокислотные последовательности различных внеклеточных полипептидов Тау (SEQ ID NO:73-78, соответственно, в порядке появления).

На фиг. 22 изображен уровень hu-IPN002 в сыворотке крови не относящихся к человеку приматов, получавших 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 56-го дня после лечения.

На фиг. 23 изображен уровень hu-IPN002 в CSF не относящихся к человеку приматов, получавших 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 56-го дня после лечения.

На фиг. 24 изображены уровни свободного тау-белка в CSF не относящихся к человеку приматов, получавших 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 56-го дня после лечения.

На фиг. 25 изображены уровни Aβ40 в CSF не относящихся к человеку приматов, получавших 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 56-го дня после лечения.

На фиг. 26 изображен уровень hu-IPN002 в сыворотке крови не относящихся к человеку приматов, получавших 0,5 мг/кг, 2 мг/кг, 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 57-го дня после лечения.

На фиг. 27 изображен уровень hu-IPN002 в CSF не относящихся к человеку приматов, получавших 0,5 мг/кг, 2 мг/кг, 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 57-го дня после лечения.

На фиг. 28 изображены уровни свободного тау-белка в CSF у не относящихся к человеку приматов, получавших 0,5 мг/кг, 2 мг/кг, 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 57-го дня после лечения.

На фиг. 29А-29В сравниваются уровни свободного тау-белка в CSF не относящихся к человеку приматов, получавших 0,5 мг/кг, 2 мг/кг, 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 57-го дня после лечения.

На фиг. 30А-30В сравниваются уровни Aβ40 в CSF у не относящихся к человеку приматов, получавших 0,5 мг/кг, 2 мг/кг, 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 57-го дня после лечения, как оценено с использованием аналитической процедуры собственной разработки.

На фиг. 31А-31В сравниваются уровни Aβ40 в CSF у не относящихся к человеку приматов, получавших 0,5 мг/кг, 2 мг/кг, 5 мг/кг или 20 мг/кг hu-IPN002, вплоть до 57-го дня после лечения, как оценено с использованием анализа Millipore.

На фиг. 32 изображены уровни hu-IPN002 на 1-й день в сыворотке крови не относящихся к человеку приматов, которых лечили по схеме многократного дозирования hu-IPN002.

На фиг. 33 изображены уровни hu-IPN002 на 29-й день в сыворотке крови не относящихся к человеку приматов, которых лечили по схеме многократного дозирования hu-IPN002.

На фиг. 34 изображены уровни hu-IPN002 на 57-й день в сыворотке крови не относящихся к человеку приматов, которых лечили по схеме многократного дозирования hu-IPN002.

На фиг. 35 изображены уровни hu-IPN002 на 1-й день в CSF не относящихся к человеку приматов, которых лечили по схеме многократного дозирования hu-IPN002.

На фиг. 36 изображены уровни hu-IPN002 на 29-й день в CSF не относящихся к человеку приматов, которых лечили по схеме многократного дозирования hu-IPN002.

На фиг. 37 изображены уровни hu-IPN002 на 57-й день в CSF не относящихся к человеку приматов, которых лечили по схеме многократного дозирования hu-IPN002.

На фиг. 38 изображены уровни свободного тау-белка в CSF не относящихся к человеку приматов, которых лечили по схеме многократного дозирования hu-IPN002, вплоть до 112-го дня.

На фиг. 39 изображены уровни свободного тау-белка в CSF не относящихся к человеку приматов,

которых лечили по схеме многократного дозирования 20 мг/кг hu-IPN002 в дни 1, 29 и 57 (группа 2) по сравнению с контролем (группа 1), вплоть до 169-го дня.

На фиг. 40 изображены уровни Аβ40 в CSF не относящихся к человеку приматов, которых лечили по схеме многократного дозирования hu-IPN002, вплоть до 112-го дня.

На фиг. 41 представлены смоделированные концентрации свободного hu-IPN002 и свободного еТau в сыворотке крови и CSF у людей после 10 мрк внутривенного вливания.

На фиг. 42 представлен предсказанный профиль концентрации в человеческой плазме в зависимости от времени после режима дозирования 700 мг Q4W (пунктирная линия) и 700 мг нагрузочная доза + 280 мг Q4W (пунктирная линия).

На фиг. 43 представлен предсказанный профиль концентрации еТau в человеческой плазме в зависимости от времени после режима дозирования 700 мг Q4W (пунктирная линия) и 700 мг нагрузочная доза + 280 мг Q4W (пунктирная линия).

Определения.

Термины "антитела" и "иммуноглобулин" включают антитела или иммуноглобулины любого типа, фрагменты антител, которые сохраняют способность к специфическому связыванию с антигеном, включая, но не ограничиваясь ими, фрагменты Fab, Fv, ScFv и Fd, химерные антитела, гуманизированные антитела, одноцепочечные антитела, биспецифические антитела, а также слитые белки, содержащие антигенсвязывающую часть и белок, не являющийся антителом. Антитела могут быть помечены детектируемой меткой, например, радиоактивным изотопом, ферментом, образующим детектируемый продукт, флуоресцентным белком и т.п. Антитела могут быть дополнительно конъюгированы с другими группами, такими как члены специфично связывающихся пар, например, с биотином (член специфически связывающейся пары биотин-авидин), и т.п. Антитела также могут быть связаны с твердой подложкой, включая, но не ограничиваясь ими, полистирольные чашки или шарики и т.п. Термин также охватывает Fab', Fv, F(ab')₂ и/или другие фрагменты антител, которые сохраняют способность к специфическому связыванию с антигеном, и моноклональные антитела. Антитело может быть одновалентным или бивалентным.

Термин "гуманизированный иммуноглобулин", используемый в данном описании, относится к иммуноглобулину, содержащему участки иммуноглобулинов различного происхождения, в котором по меньшей мере один участок содержит аминокислотные последовательности человеческого происхождения. Например, гуманизированное антитело может содержать участки, происходящие из иммуноглобулина нечеловеческого происхождения с необходимой специфичностью, такого как мышинного, и из последовательностей иммуноглобулинов человеческого происхождения (например, химерный иммуноглобулин), соединенных вместе обычными химическими способами (например, синтетическим) или полученных в виде непрерывного полипептида с помощью способов генной инженерии (например, ДНК, кодирующая белковые участки химерного антитела, может быть экспрессирована с получением непрерывной полипептидной цепи). Другим примером гуманизированного иммуноглобулина является иммуноглобулин, содержащий одну или более иммуноглобулиновых цепей, содержащих домен CDR (от complementarity determining region, определяющая комплементарность область), происходящий из антитела нечеловеческого происхождения, и каркасную область, происходящую из легкой и/или тяжелой цепи человеческого происхождения (например, CDR-привитые антитела с изменениями в каркасной области или без них). Химерные или CDR-привитые одноцепочечные антитела также охватываются термином гуманизированный иммуноглобулин. См., например, Cabilly et al., U.S. Pat. No. 4816567; Cabilly et al., European Patent No. 0125023 B1; Boss et al., U.S. Pat. No. 4816397; Boss et al., European Patent No. 0120694 B1; Neuberger, M.S. et al., WO 86/01533; Neuberger, M.S. et al., European Patent No. 0194276 B1; Winter, U.S. Pat. No. 5225539; Winter, European Patent No. 0239400 B1; Padlan, E.A. et al., European Patent Application No. 0519596 A1. См. также, Ladner et al., U.S. Pat. No. 4946778; Huston, U.S. Pat. No. 5476786; и Bird, R.E. et al., Science, 242: 423-426 (1988)), применительно к одноцепочечным антителам. Например, гуманизированные иммуноглобулины могут быть получены с использованием синтетических и/или рекомбинантных нуклеиновых кислот для получения генов (например, кДНК), кодирующих желаемую гуманизированную цепь. Например, последовательности нуклеиновых кислот (например, ДНК), кодирующие гуманизированные переменные области, могут быть построены с использованием способов мутагенеза с PCR (ПЦР; полимеразная цепная реакция) для изменения последовательностей ДНК, кодирующих человеческую или гуманизированную цепь, такие как ДНК-матрица из предварительно гуманизированной переменной области (см., например, Kamman, M., et al., Nucl. Acids Res., 17: 5404 (1989)); Sato, K., et al., Cancer Research, 53: 851-856 (1993); Daugherty, B.L. et al., Nucleic Acids Res., 19(9): 2471-2476 (1991); и Lewis, A.P. and J.S. Crowe, Gene, 101: 297-302 (1991)). Используя те или иные подходящие способы, можно также легко получить варианты. Например, клонированные переменные области могут быть подвергнуты мутагенезу, и последовательности, кодирующие варианты с желаемой специфичностью, могут быть выбраны (например, из библиотеки фагов, см., например, Krebber et al., U.S. Pat. No. 5514548; Hoogenboom et al., WO 93/06213, опубликованная 1 апреля 1993)). "Фрагменты антитела" содержат участок интактного антитела, например антигенсвязывающий сайт или переменную область интактного антитела. Примеры фрагментов антитела включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; диатела; линейные

антитела (Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995)); одноцепочечные молекулы антитела; и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. Расщепление антител папаином дает два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых "Fab"-фрагментами, каждый с одним антигенсвязывающим сайтом, а также остаточный фрагмент "Fc", название которого отражает его способность легко кристаллизоваться. Обработка пепсином дает $F(ab')_2$ -фрагмент, который имеет два антигенсвязывающих сайта и по-прежнему способен перекрестно связываться к перекрестному связыванию антигена.

"Fv" представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный сайт распознавания и связывания антигена. Данный участок состоит из димера одного переменного домена тяжелой цепи и одного переменного домена легкой цепи, тесно связанных нековалентной связью. Именно в такой конфигурации взаимодействуют три CDR каждого переменного домена, составляя антигенсвязывающий сайт на поверхности димера VH-VL. В совокупности такие шесть CDR придают антителу антигенсвязывающую специфичность. Однако даже единичный переменный домен (или половина фрагмента Fv, содержащая только три CDR, специфичных к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с меньшим сродством, чем связывающий целиком сайт.

"Fab"-фрагмент также содержит константный домен легкой цепи и первый константный домен (first constant domain (CH1)) тяжелой цепи. Fab-фрагменты отличаются от Fab'-фрагментов добавлением нескольких остатков на карбоксильном конце CH1-домена тяжелой цепи, включая один или более цистеиновых остатков из шарнирной области антител. Fab'-SH в данном описании обозначает такие Fab'-фрагменты, в которых остаток(и) цистеина в константных доменах содержат свободную тиоловую группу. $F(ab')_2$ -фрагменты антител первоначально были получены в виде пары Fab'-фрагментов, содержащих между ними шарнирные цистеины. Известны также другие химические конъюгаты фрагментов антител. "Легкие цепи" антител (иммуноглобулинов) из любого вида позвоночных могут относиться к одному из двух четко различающихся типов, называемых каппа и лямбда, исходя из аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелых цепей, иммуноглобулины могут относиться к различным классам. Существует пять основных классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, а некоторые из них могут дополнительно подразделяться на подклассы (изотипы), например IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA и IgA2.

Фрагменты антител "одноцепочечный Fv" или "sFv" содержат домены VH и VL антитела, причем указанные домены находятся в одной полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами VH и VL, который позволяет sFv образовывать структуру, требуемую для связывания антигена. См. обзор по sFv: Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

Термин "диатела" относится к небольшим фрагментам антител с двумя антигенсвязывающими сайтами, причем данные фрагменты содержат переменный домен тяжелой цепи (VH), связанный с переменным доменом легкой цепи (VL) в одной и той же полипептидной цепи (VH-VL). С использованием линкера, который является слишком коротким для того, чтобы позволить спаривание между двумя доменами на одной и той же цепи, домены вынуждены спариваться с комплементарными доменами другой цепи, создавая при этом два антигенсвязывающих сайта. Диатела более подробно описаны, например, в EP 404097; WO 93/11161; и Hollinger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448. Используемый в настоящем описании термин "сродство (аффинность)" относится к константе равновесия для обратимого связывания двух агентов (например, антитело и антиген) и выражается в виде константы диссоциации (K_d). Сродство может быть по меньшей мере в 1 раз больше, по меньшей мере в 2 раза больше, по меньшей мере в 3 раза больше, по меньшей мере в 4 раза больше, по меньшей мере в 5 раз больше, по меньшей мере в 6 раз больше, по меньшей мере в 7 раз больше, по меньшей мере в 8 раз больше, по меньшей мере в 9 раз больше, по меньшей мере в 10 раз больше, по меньшей мере в 20 раз больше, по меньшей мере в 30 раз больше, по меньшей мере в 40 раз больше, по меньшей мере в 50 раз больше, по меньшей мере в 60 раз больше, по меньшей мере в 70 раз больше, по меньшей мере в 80 раз больше, по меньшей мере в 90 раз больше, по меньшей мере в 100 раз больше или по меньшей мере в 1000 раз больше, или больше, чем сродство антитела к посторонним аминокислотным последовательностям. Сродство антитела к белку-мишени может составлять, например, от около 100 до около 0,1 нМ, от около 100 нМ до около 1 пМ или от около 100 нМ до около 1 фМ или больше. Используемый в данном описании термин "авидность" относится к устойчивости комплекса из двух или нескольких агентов к диссоциации после разбавления. Термины "иммунореактивный" и "предпочтительно связывается" применяются взаимозаменяемым образом в отношении антител и/или антигенсвязывающих фрагментов.

Термин "связывание" относится к прямой ассоциации между двумя молекулами благодаря, к примеру, ковалентным, электростатическим, гидрофобным и ионным и/или водородным взаимодействиям, включая такие взаимодействия, как солевые мостики и водные мостики. Подходящее антитело к таубелку специфически связывается с эпитопом на полипептиде Тау. Неспецифическое связывание может относиться к связыванию со сродством, составляющим менее чем около 10⁻⁷ М, например связыванию со сродством, составляющим 10⁻⁶ М, 10⁻⁵ М, 10⁻⁴ М и т.д. В настоящем изобретении термин "CDR" или

"определяющая комплементарность область (complementarity determining region)" предназначен для обозначения несмежных антигенсвязывающих сайтов, найденных в варибельной области полипептидов и тяжелой и легкой цепей. CDR были описаны Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991); Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); и MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), где определения включают перекрытия или подмножества аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. В любом случае, применение любого из данных определений в отношении CDR антитела или привитых антител либо их вариантов предназначено для использования в рамках термина, который определен и используется в данном описании. Аминокислотные остатки, которые охватывают CDR, определенные в каждой из вышеприведенных работ, для сравнения приведены ниже в табл. 1.

Таблица 1

Определения CDR

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
CDR1 V _H	31-35	26-32	30-35
CDR2 V _H	50-65	53-55	47-58
CDR3 V _H	95-102	96-101	93-101
CDR1 V _L	24-34	26-32	30-36
CDR2 V _L	50-56	50-52	46-55
CDR3 V _L	89-97	91-96	89-96

¹ Нумерация остатков следует номенклатуре Kabat et al., см. выше.

² Нумерация остатков следует номенклатуре Chothia et al., см. выше.

³ Нумерация остатков следует номенклатуре MacCallum et al., см. выше.

В настоящем изобретении термин "каркас" в применении к варибельной области антитела служит для обозначения всех аминокислотных остатков вне доменов CDR в варибельной области антитела. Каркас варибельной области обычно представляет собой прерывистую аминокислотную последовательность приблизительно от 100 до 120 аминокислот в длину, но к нему относятся только те аминокислоты, которые находятся вне доменов CDR. Используемый в данном описании термин "каркасная область" предназначен для обозначения каждого домена каркаса, который отделен областями CDR.

"Выделенное" антитело представляет собой антитело, которое было идентифицировано и отделено и/или извлечено из компонента своего естественного окружения. Примесными компонентами естественного окружения являются материалы, которые будут мешать диагностическим или терапевтическим применениям антитела, и они могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые вещества. В некоторых вариантах осуществления антитело подвергается очистке (1) более чем на 90%, более чем на 95% или более чем на 98% от массы антитела, определенной способом Лоури, например более чем на 99 мас.%, (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с помощью центрифужного секвенатора, или (3) до гомогенности способом электрофореза с додецилсульфатом натрия в полиакриламидном геле (SDS-PAGE) в восстановительных или невосстановительных условиях с использованием окраски Кумаси синим или серебром. Выделенное антитело включает антитело *in situ* внутри рекомбинантных клеток, так как по меньшей мере один компонент естественного окружения антитела отсутствует. В некоторых случаях выделенное антитело получают посредством по меньшей мере одной стадии очистки. Термин "эпитоп" или "антигенная детерминанта" относится к участку на антигене, с которым специфически связывается иммуноглобулин или антитело. Эпитопы могут быть образованы как из смежных аминокислот, так и несмежных аминокислот, чье соседнее расположение обусловлено третичной структурой белка. Эпитопы, образованные из смежных аминокислот, как правило, сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, чье образование обусловлено третичной структурой, как правило, теряются при обработке с денатурирующими растворителями. Эпитоп, как правило, включает в себя по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Способы определения того, какие эпитопы связываются данным антителом (т.е. картирование эпитопов), хорошо известны в данной области техники и включают, например, анализы с помощью иммуноблоттинга и иммунопреципитации, в которых перекрывающиеся или смежные пептиды тау-белка тестируются на способность к взаимодействию с данным антителом анти-Тау. Способы определения пространственной конформации эпитопов включают способы, известные в данной области и описанные в настоящем документе, например рентгеновскую кристаллографию и двумерный ядерный магнитный резонанс (см., например, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G.E. Morris, Ed. (1996)). Другие способы включают, например, способы картирования эпитопов, такие как рентгеновский анализ кристаллов комплексов антиген:антитело, который обеспечивает атомное разрешение эпитопа. Другие способы контролируют связывание антитела с фрагментами антигена или мутированными вариантами антигена, где потерю связывания, обусловленную модификацией аминокис-

лотного остатка в последовательности антигена, часто рассматривают как указание на эпитопную компоненту. Кроме того, можно также использовать вычислительные комбинаторные способы картирования эпитопов. Данные способы основаны на способности антитела, представляющего интерес, к сродству с выделенными определенными короткими пептидами из комбинаторных фаговых пептидных библиотек. Затем такие пептиды рассматриваются как зонды для установления эпитопа, соответствующего антителу, которое использовали для скрининга пептидной библиотеки. Для картирования эпитопов также были разработаны вычислительные алгоритмы, которые, как было показано, картируют конформационные прерывистые эпитопы.

Термин "картирование эпитопов" относится к процессу идентификации молекулярных детерминант для распознавания антигена антителом.

Термин "связывается с одним и тем же эпитопом", применительно к двум или более антителам, означает, что антитела связываются с одними и теми же, перекрывающимися или охватывающими непрерывными или прерывистыми сегментами аминокислотных остатков. Специалистам в данной области техники понятно, что фраза "связывается с одним и тем же эпитопом" не обязательно означает, что антитела связываются с точно теми же самыми аминокислотными остатками. Определенные аминокислотные остатки, с которыми связываются антитела, могут отличаться. Например, первое антитело может связываться с сегментом аминокислотных остатков, который полностью охвачен сегментом аминокислотных остатков, связанных со вторым антителом. В другом примере первое антитело связывается с одним или более сегментами аминокислотных остатков, которые существенно перекрывают один или более сегментов, связанных вторым антителом. Для целей данного изобретения считается, что такие антитела "связываются с одним и тем же эпитопом".

Соответственно, настоящим изобретением также охватываются антитела, которые связываются с эпитопом на тау-белке, который содержит весь эпитоп или часть эпитопа, распознаваемого конкретными антителами, описанными в настоящем изобретении (например, тот же самый или перекрывающийся участок или участок между или охватывающий участок).

Настоящим изобретением также охватываются антитела, которые конкурируют за связывание с тау-белком с антителами, описанными в настоящем документе. Антитела, которые конкурируют за связывание, могут быть идентифицированы с использованием обычных способов. Такие способы включают, например, иммуноферментный анализ, который показывает способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с антигеном-мишенью, т.е. анализ конкурентного связывания. Конкурентное связывание определяют в анализе, в котором тестируемый иммуноглобулин ингибирует специфическое связывание эталонного антитела с общим для них антигеном, таким как тау-белок. Известны многочисленные типы анализов конкурентного связывания, например, твердофазный прямой или непрямой радиоиммуноанализ (radioimmunoassay (RIA)), твердофазный прямой или непрямой иммуноферментный анализ (enzyme immunoassay (EIA)), сэндвич-анализ конкуренции (см. Stahl et al., *Methods in Enzymology* 9:242 (1983)); твердофазный прямой EIA биотин-авидин (см. Kirkland et al., *J. Immunol.* 137:3614 (1986)); твердофазный анализ прямого мечения, твердофазный сэндвич-анализ прямого мечения (см. Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)); твердофазный RIA с прямым мечением с использованием метки I-125 (см. Morel et al., *Mol. Immunol.* 25(1):7 (1988)); твердофазный EIA с прямым мечением биотин-авидин (Cheung et al., *Virology* 176:546 (1990)); и RIA с прямым мечением (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990)). Как правило, такой анализ включает использование очищенного антигена, связанного с твердой поверхностью или клетками, несущей(ми) немеченный тестовый иммуноглобулин или помеченный эталонный иммуноглобулин. Конкурентное ингибирование измеряют путем определения количества метки, связанной с твердой поверхностью или с клетками в присутствии тестового иммуноглобулина. Обычно тестовый иммуноглобулин присутствует в избытке. Обычно, когда конкурирующее антитело присутствует в избытке, оно будет ингибировать специфическое связывание эталонного антитела с общим антигеном по меньшей мере на от 50 до 55%, от 55 до 60%, от 60 до 65%, от 65 до 70%, от 70 до 75% или более. Термины "полипептид", "пептид" и "белок", используемые в настоящем описании взаимозаменяемым образом, относятся к полимерной форме аминокислот любой длины, которая может включать в себя генетически закодированные и негенетически закодированные аминокислоты, химически или биохимически модифицированные или дериватизированные аминокислоты, и полипептиды, имеющие модифицированные пептидные остовы. Данный термин включает слитые белки, включая, но не ограничиваясь ими, слитые белки с гетерологичной аминокислотной последовательностью, слитые с гетерологичными и гомологичными лидерными последовательностями, с N-концевыми остатками метионина или без них; иммунологически меченые белки; и т.п.

Используемые в настоящем описании термины "обработка", "лечение" и т.п. относятся к получению желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Данный эффект может быть профилактическим в терминах полного или частичного предотвращения заболевания или его симптома и/или может быть терапевтическим в терминах частичного или полного излечения заболевания и/или неблагоприятного эффекта, связанного с болезнью. "Лечение", как используется в настоящем описании, охватывает любое лечение заболевания у млекопитающего, в частности у человека, и включает: (а) предотвращение возникновения заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но

такой диагноз у него все еще не был поставлен; (b) ингибирование заболевания, т.е. блокирование его развития; и (c) облегчение заболевания, т.е. вызывая его регресс.

Термины "индивидуум", "субъект", "хозяин" и "пациент", которые используются в настоящем описании взаимозаменяемым образом, относятся к млекопитающему, включая, но не ограничиваясь ими, мышиных (крысы, мыши), не относящихся к человеку приматов, людей, собачьих, кошачьих, копытных (например, непарнокопытных, коров, овец, свиней, коз) и т.д.

Термин "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" означает такое количество антитела к тау-белку, которое при введении млекопитающему или другому субъекту для лечения заболевания достаточно для осуществления лечения заболевания. "Терапевтически эффективное количество" варьирует в зависимости от антитела к тау-белку, заболевания и его тяжести и возраста, массы и т.д. у подлежащего лечению субъекта.

Используемые в настоящем описании термины "фиксированная доза", "постоянная доза" и "постоянная фиксированная доза" используются взаимозаменяемым образом и относятся к дозе, которая вводится пациенту без учета массы или площади поверхности тела (body surface area (BSA)) пациента. Фиксированная или постоянная доза, следовательно, не предусмотрена в виде мг/кг, а, скорее, как абсолютное количество агента (например, антитела к тау-белку).

Используемый в описании термин "доза, основанная на площади поверхности тела (BSA)", относится к дозе (например, антитела к тау-белку), которая корректируется с учетом площади поверхности тела (BSA) отдельного пациента. Основанная на BSA доза может быть предоставлена в виде мг/кг массы тела. Были опубликованы различные расчеты для определения BSA без прямого измерения, наиболее широко используемыми из которых является формула Du Bois (см. Du Bois D., Du Bois E.F. (Jun 1916) Archives of Internal Medicine 17 (6): 863-71; и Verbraecken, J. et al. (Apr 2006). Metabolism - Clinical and Experimental 55 (4): 515-24). Другие примеры формул BSA включают в себя формулу Мостеллер (Mosteller R.D. N. Engl. J. Med., 1987; 317:1098), формулу Хэйкока (Haycock G.B., et al., J. Pediatr 1978, 93:62-66), формулу Gehan and George (Gehan E.A., George S.L., Cancer Chemother Rep. 1970, 54:225-235), формулу Бойда (Current, J.D. (1998), The Internet Journal of Anesthesiology 2 (2); and Boyd, Edith (1935), University of Minnesota. The Institute of Child Welfare, Monograph Series, No. x. London: Oxford University Press), формулу Фудзимото (Fujimoto S., et al., Nippon Eiseigaku Zasshi 1968; 5:443-50), формулу Такахира (Fujimoto S., et al., Nippon Eiseigaku Zasshi 1968; 5:443-50) и формулу Шлиха (Schlich E., et al., Ernährungs Umschau 2010; 57:178-183). "Биологический образец" охватывает разнообразие типов образцов, полученных от индивидуума, и может быть использован в качестве диагностического или следящего анализа. Данное определение охватывает кровь и другие жидкие образцы биологического происхождения, образцы твердых тканей, таких как образец биопсии или культуры тканей или клеток, полученных из них, и их потомство. Определение также включает в себя образцы, которые были изменены каким-либо образом после их приобретения, например путем обработки реагентами, солюбилизации или обогащения для получения определенных компонентов, таких как полинуклеотиды. Термин "биологический образец" охватывает клинический образец, а также включает в себя клетки в культуре, клеточные супернатанты, клеточные лизаты, сыворотку, плазму, биологическую жидкость и образцы ткани. Термин "биологический образец" включает в себя мочу, слону, цереброспинальную жидкость, фракции крови, такие как плазма и сыворотка, и т.п.

Термин "острая таупатия", как он использован в настоящем описании, относится к заболеванию, расстройству или состоянию, связанному с внезапным началом аномального повышения уровня Тау (например, повышения по сравнению с нормальным, контрольным уровнем Тау) во внеклеточной жидкости (например, цереброспинальной жидкости (cerebrospinal fluid (CSF)), межклеточной жидкости (interstitial fluid (ISF)), крови или фракции крови (например, фракции крови, такой как сыворотка или плазма крови) субъекта, например, повышение уровня Тау во внеклеточной жидкости после поражения, связанного с физическим нарушением в мозге субъекта и/или связанными с ним тканями центральной нервной системы. Такое поражение, как правило, сопровождается последующим повышением уровня Тау во внеклеточной жидкости (например, CSF, ISF, крови и/или фракции крови (например, в плазме)) в течение относительно короткого периода времени, например в течение нескольких недель или месяцев (или более короткого периода времени). Примеры таких поражений включают, но не обязательно ограничиваются ими, физическую травму (например, травму головы) и инсульт. Неограничивающими примерами острых таупатий являются инсульт, хроническая травматическая энцефалопатия, черепно-мозговая травма, сотрясение мозга, судороги, эпилепсия (например, синдром Драве (Dravet) (также известный как тяжелая миоклоническая эпилепсия младенчества (SMEI)) и острая свинцовая энцефалопатия.

Фраза "черепно-мозговая травма (traumatic brain injury)" (также известная как "ЧМТ, TBI") является одной из форм приобретенного повреждения головного мозга, которое возникает, когда повреждение головного мозга вызывает травма (например, травма головного мозга, вызванная внешней силой). Например, TBI может возникнуть, когда голова внезапно и жестко сталкивается с предметом (например, во время падения, автомобильной аварии, спортивного мероприятия или любого количества различных способов) или когда предмет пронзает череп и входит в мозговую ткань. Оба типа TBI могут привести к ушибу ткани головного мозга, кровоизлиянию в мозг, большим или малым ранам в головном мозге и/или

повреждению нервов вследствие сдвигающих сил. Мозг может также испытать ряд вторичных типов повреждений, таких как отек, лихорадка, судороги или дисбаланс неврологических химических веществ. Симптомы ТВИ могут быть легкими, умеренными или тяжелыми, в зависимости от степени повреждения головного мозга. Пациент с легкой ТВИ может остаться в сознании или может потерять сознание на протяжении нескольких секунд или минут. Другие симптомы легкой ТВИ включают головную боль, спутанность сознания, дурноту, головокружение, помутнение зрения или усталость глаз, звон в ушах, неприятный привкус во рту, усталость или вялость, изменение режима сна, изменения в поведении или изменения настроения и проблемы с памятью, концентрацией, вниманием или мышлением. Пациент с умеренной или тяжелой ТВИ может проявлять такие же симптомы, но может также иметь головную боль, которая становится хуже или не проходит, повторяющуюся рвоту или тошноту, конвульсии или судороги, неспособность пробудиться от сна, дилатацию одного или обоих зрачков глаз, невнятную речь, онемение или слабость в конечностях, потерю координации и повышение спутанности сознания, беспокойства или волнения. Примеры черепно-мозговой травмы включают, но не ограничиваются ими, диффузное аксональное повреждение головного мозга, сотрясение мозга, ушибы, повреждение от "противоудара", синдром второго воздействия, проникающую рану, синдром тряски младенца и синдром окружения (Locked In Syndrome).

"Хроническая таупатия" используется в настоящем описании для обозначения в целом состояния, связанного с постепенным началом повышения уровня тау-белка во внеклеточной жидкости субъекта, например, с накоплением тау-белка во внеклеточной жидкости (например, CSF, ISF, крови и/или фракциях крови (например, плазме)) в течение относительно длительного периода времени, например на протяжении нескольких лет, например десятилетиями. Хронические таупатии включают, но не ограничиваются ими, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз/паркинсонизм-деменцию, болезнь аргирофильных зерен, проявляющуюся деменцией, амилоидную ангиопатию британского типа, церебральную амилоидную ангиопатию, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменцию боксеров, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, синдром Дауна, лобно-височную деменцию (frontotemporal dementia (FTD)), лобно-височную деменцию с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17, дегенерацию лобной и височной долей, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера (Gerstmann-Straussler-Scheinker), болезнь Hallervorden-Spatz, миозит с включёнными тельцами, множественную системную атрофию, миотоническую дистрофию, заболевание Niemann-Pick тип C, не являющееся болезнью Гуама заболевание двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками, болезнь Пика (Pick), постэнцефалитический паркинсонизм, прион-протеин-церебральную амилоидную ангиопатию, прогрессивный субкортикальный глиоз, прогрессивный надъядерный паралич, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков (Tangle only dementia) и мультиинфарктную деменцию.

Перед тем как перейти к дальнейшему описанию настоящего изобретения, следует иметь в виду, что данное изобретение не ограничивается конкретными описанными в нем вариантами осуществления, поскольку они, конечно, могут варьировать. Также нужно иметь в виду, что применяемая в настоящем описании терминология предназначается только для описания конкретных вариантов осуществления изобретения, но не для ограничения, поскольку сфера действия настоящего изобретения должна ограничиваться только прилагаемой формулой изобретения. Если приводится диапазон значений, то нужно иметь в виду, что каждое промежуточное значение, до десятых долей единицы из нижнего предела, если только из контекста четко не следует иное, между верхней и нижней границей данного диапазона, и любое другое указанное или промежуточное значение в указанном диапазоне охватывается настоящим изобретением. Верхний и нижний пределы данных меньших диапазонов могут быть независимо включены в меньшие диапазоны и также охватываются данным изобретением, с учетом любого конкретно исключенного предела в указанном диапазоне. Если же указанный диапазон включает одну или обе границы, то исключаящие их диапазоны также включены в настоящее изобретение. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют те же значения, которые обычно подразумеваются специалистами в области техники, к которой принадлежит данное изобретение. Хотя любые способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в настоящем изобретении, также могут быть использованы на практике или при тестировании настоящего изобретения, предпочтительные способы и материалы описаны ниже. Все приведенные здесь публикации включены в настоящее описание посредством ссылки для изложения и описания способов и/или материалов, в связи с которыми данные публикации приводятся.

Следует отметить, что в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают в себя значения множественного числа, если только из контекста явно не следует иное. Таким образом, например, ссылка на "антитело к тау-белку" включает в себя множество таких антител к тау-белку и ссылка на "таупатию" включает в себя ссылку на одну или более таупатий и их эквивалентов, известных специалистам в данной области техники, и так далее. Следует также отметить, что формула изобретения может быть составлена таким образом, чтобы она исключала любые необязательные элементы. При этом данное заявление должно служить априорным основанием для использования такой исключительной терминологии, как "исключительно", "только" и т.п., в связи с указанием эле-

ментов формулы либо для использования "отрицательных" ограничений. Следует понимать, что определенные признаки изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов осуществления, также могут быть представлены в сочетании в одном варианте осуществления. Наоборот, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления, также могут быть представлены отдельно или в любой подходящей подкомбинации. Все комбинации вариантов осуществления, относящихся к настоящему изобретению конкретно охватываются настоящим изобретением и описаны в данном документе, как если бы каждая комбинация была индивидуально и явным образом раскрыта. Кроме того, все подкомбинации различных вариантов осуществления и их элементов также конкретно охватываются настоящим изобретением и описаны в данном документе, как если бы каждая такая подкомбинация была индивидуально и в явном виде раскрыта в настоящем описании.

Рассмотренные в настоящем описании публикации представлены исключительно для их изложения до срока подачи настоящей заявки. При этом ничто не должно истолковываться как признание того, будто настоящее изобретение не может превосходить такую публикацию в силу более раннего, чем они, изобретения. Кроме того, приведенные даты публикации могут отличаться от действительных дат публикации, которые могут нуждаться в независимом подтверждении.

Подробное описание

Настоящее изобретение относится к способам лечения таупатии у индивидуума.

Способы лечения таупатии

Настоящее изобретение относится к способам лечения таупатии, например острой таупатии. Способы, как правило, включают введение индивидууму, нуждающемуся в этом, эффективного количества антитела к тау-белку или фармацевтической композиции, содержащей антитело к тау-белку. В некоторых случаях антитело к тау-белку специфически связывается с эпитопом в N-концевой области тау-белка. В некоторых случаях антитело к тау-белку специфически связывается с эпитопом в N-концевой области внеклеточного тау-белка (extracellular Tau (eTau)). В некоторых случаях антитело является гуманизированным. В некоторых случаях внеклеточная жидкость является цереброспинальной жидкостью (CSF), интерстициальной жидкостью (ISF), кровью или фракцией крови (например, фракцией крови, такой как сыворотка или плазма). В некоторых случаях таупатией является острая таупатия, такая как инсульт, хроническая травматическая энцефалопатия, черепно-мозговая травма, сотрясение мозга, судороги, эпилепсия (например, синдром Драве (также известный как тяжелая миоклоническая эпилепсия младенчества (Severe Myoclonic Epilepsy of Infancy (SMEI))) и острая свинцовая энцефалопатия. Как описано у Gheysa et al., понижение уровня Tau может оказывать терапевтический эффект при синдроме Драве и других трудноизлечимых генетических эпилепсиях (Ann Neurol. 2014 Sep; 76(3): 443-56). Соответственно, способы, описанные в настоящем описании, могут быть полезны при лечении любой острой таупатии, включая, например, эпилепсии (например, синдром Драве).

В некоторых случаях уровень свободного тау-белка понижается. "Свободный тау-белок" относится к тау-полипептиду, который не связан с антителом к тау-белку. В одном варианте осуществления свободный тау-белок является внеклеточным тау-белком (eTau). Общий тау-белок включает в себя свободный тау-белок и тау-белок, который связан с анти-тау антителом. В некоторых случаях уровень общего тау-белка понижается. В некоторых случаях уровень связанного тау-белка (тау-белка, связанного с анти-тау антителом) во внеклеточной жидкости увеличивается.

Настоящее изобретение относится к способам лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума, причем данный способ включает введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для существенного понижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в цереброспинальной жидкости, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке крови или плазме)) у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) значительно понижается в течение 36 ч с начала введения антитела к тау-белку. Например, в некоторых случаях эффективное количество антитела к тау-белку представляет собой количество, которое является эффективным для существенного понижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости в течение 48 ч, 36 ч, в течение 24 ч, в течение 12 ч, в течение 8 ч, в течение 4 ч, в течение 2 ч, в течение 1 ч в течение 30 мин, в течение 15 мин или в течение 5 мин с начала введения антитела к тау-белку. Например, в некоторых случаях эффективное количество антитела к тау-белку представляет собой количество, которое является эффективным для существенного понижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости в течение от 5 до около 10 мин, от около 10 до около 15 мин, около 15 до около 30 мин, около 30 мин до около 1 ч, от около 1 до около 2 ч, от около 2 до около 4 ч, от около 4 до около 8 ч, от около 8 до около 12 ч, от около 12 до около 24 ч, от около 24 до около 36 ч, от около 24 до около 48 ч или от около 36 до около 48 ч. Значительное понижение уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в CSF, ISF, крови или фракции крови (например, сыворотке или плазме)) индивидуума представляет собой понижение по меньшей мере на 10%, понижение по меньшей мере на 15%, понижение по меньшей мере на 20%, понижение по мень-

шей мере на 25%, понижение по меньшей мере на 30%, понижение по меньшей мере на 40%, понижение по меньшей мере на 45%, понижение по меньшей мере на 50%, понижение по меньшей мере на 75%, понижение по меньшей мере на 80%, понижение по меньшей мере на 85%, понижение по меньшей мере на 90%, понижение по меньшей мере на 95% или понижение более чем на 90%. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости понижается до нормального контрольного уровня (например, около 100 пг/мл). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости понижается до неопределяемого уровня. В некоторых случаях внеклеточной жидкостью является CSF. В других случаях внеклеточной жидкостью является интерстициальная жидкость (ISF). В других случаях внеклеточной жидкостью является плазма. В других случаях внеклеточной жидкостью является цельная кровь. В других случаях внеклеточной жидкостью является сыворотка крови.

Настоящее изобретение относится к способу лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума. Способ обычно включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в цереброспинальной жидкости, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке крови или плазме)) индивидуума. Значительное снижение уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума представляет собой понижение по меньшей мере на 10%, понижение по меньшей мере на 15%, понижение по меньшей мере на 20%, понижение по меньшей мере на 25%, понижение по меньшей мере на 30%, понижение по меньшей мере на 40%, понижение по меньшей мере на 45%, понижение по меньшей мере на 50%, понижение по меньшей мере на 75%, понижение по меньшей мере на 80%, понижение по меньшей мере на 85%, понижение по меньшей мере на 90%, понижение по меньшей мере на 95% или понижение более чем на 90%. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости понижается до нормального контрольного уровня (например, около 100 пг/мл). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости понижается до неопределяемого уровня. В некоторых случаях внеклеточной жидкостью является CSF. В других случаях внеклеточной жидкостью является интерстициальная жидкость (ISF). В других случаях внеклеточной жидкостью является плазма. В других случаях внеклеточной жидкостью является сыворотка. В других случаях внеклеточной жидкостью является цельная кровь.

В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в цереброспинальной жидкости, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке крови или плазме)) индивидуума, где антитело к тау-белку является эффективным для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости в течение 48 ч с начала введения антитела к тау-белку. Например, в некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума, причем антитело к тау-белку является эффективным, чтобы значительно снизить уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума, причем антитело к тау-белку является эффективным, чтобы значительно снизить уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости за период времени от около 15 до около 30 мин, от около 30 мин до 1 ч, от около 1 до около 2 ч, от около 2 до около 4 ч, от около 4 до около 8 ч, от около 8 до около 12 ч, от около 12 до около 24 ч, от около 24 до около 36 ч или от около 36 до около 48 ч.

В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в CSF, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке крови или плазме)) индивидуума, где пониженный уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 2 ч с начала введения антитела к тау-белку. Например, в некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в

количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума, причем пониженный уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 2 ч, по меньшей мере 4 ч, по меньшей мере 8 ч, по меньшей мере 12 ч, по меньшей мере 24 ч, по меньшей мере 36 ч, по меньшей мере 48 ч, по меньшей мере 72 ч, по меньшей мере 96 ч, по меньшей мере 120 ч, по меньшей мере 144 ч, по меньшей мере 168 ч или более 168 ч с начала введения антитела к тау-белку. Например, в некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума, причем пониженный уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) сохраняется в течение периода времени от около 2 до около 4 ч, от около 4 до около 8 ч, от около 8 до около 12 ч, от около 12 до около 24 ч, от около 24 до около 36 ч, от около 36 до около 48 ч, от около 48 до около 72 ч, от около 72 до около 96 ч, от около 96 до около 120 ч, от около 120 до около 144 ч, от около 144 до 168 ч или более 168 ч (например, 8 дней, 10 дней, 14 или более дней 14 дней). В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума, где пониженный уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) сохраняется в течение периода времени, составляющего по меньшей мере 7 дней, по меньшей мере 10 дней, по меньшей мере 2 недели или по меньшей мере 4 недели. Например, в некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума, где пониженный уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) сохраняется в течение периода времени от около 7 дней до около 10 дней, от около 10 дней до 2 недель или от около 2 недель до 4 недель, или более 4 недель (например, 3 месяца, 4 месяца, 6 месяцев или более чем 6 месяцев).

В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в CSF, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке крови или плазме)) индивидуума, где пониженный уровень тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) сохраняется в течение периода времени, который предусматривает уменьшение уровня А β во внеклеточной жидкости (например, в CSF, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке или плазме)). Например, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения уровень А β во внеклеточной жидкости значительно понижается в течение периода времени от около одного дня до около 25 дней с начала введения антитела к тау-белку. Например, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения уровень А β во внеклеточной жидкости значительно понижается в течение периода времени от около 1 дня до около 5 дней, от около 5 дней до около 10 дней, от около 10 дней до около 15 дней, от около 15 дней до 20 дней или от около 20 дней до 25 дней с начала введения антитела к тау-белку. Антитело к тау-белку может быть введено для обеспечения непрерывного подавления уровней А β в течение долгого времени. А β включает в себя А β 40 и А β 42. В некоторых случаях понижаются уровни А β 40. В некоторых случаях понижаются уровни А β 42. В некоторых случаях понижаются оба уровня А β 40 и А β 42. "Значительное понижение" в уровнях А β представляет собой понижение по меньшей мере на 5%, понижение по меньшей мере на 10%, понижение по меньшей мере на 15%, понижение по меньшей мере на 20%, понижение по меньшей мере на 25%, понижение по меньшей мере на 30%, понижение по меньшей мере на 40%, понижение по меньшей мере на 45%, понижение по меньшей мере на 50% или понижение более чем на 50% в уровне А β по сравнению с уровнем А β в отсутствие введения антитела к тау-белку (например, по сравнению с уровнем А β до введения антитела к тау-белку). В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в цереброспинальной жидкости, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке крови или плазме)) индивидуума, где внеклеточной жидкостью является CSF. В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума, где внеклеточной жидкостью является ISF. В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума, где внеклеточной жидко-

В некоторых случаях антитело к тау-белку вводят в количестве, составляющем от около 0,1 до около 0,5 мг/кг массы тела, от около 0,5 до около 1 мг/кг массы тела, от около 1 до около 5 мг/кг массы тела, от около 5 до около 10 мг/кг массы тела, от около 10 до около 15 мг/кг массы тела, от около 15 до около 20 мг/кг массы тела, от около 20 до около 25 мг/кг массы тела, от около 25 до около 30 мг/кг массы тела, от около 30 до около 35 мг/кг массы тела, от около 35 до около 40 мг/кг массы тела, от около 40 до около

45 мг/кг массы тела, или от около 45 до около 50 мг/кг массы тела, или более чем 50 мг/кг массы тела; и антитело к тау-белку вводят в виде многократных доз, например, начальную дозу антитела к тау-белку вводят не позднее 30 мин, не позднее 1 ч, не позднее 2 ч, не позднее 4 ч, не позднее 8 ч, не позднее 12 ч, не позднее 24 ч, не позднее 2 дней, не позднее 4 дней, не позднее 1 недели, не позднее 2 недель, не позднее 4 недель или не позднее 2 месяцев после инсульта, связанного с физическим нарушением в головном мозге субъекта и/или ассоциированных тканях центральной нервной системы, что приводит к повышенным уровням тау-белка; и последующую дозу антитела к тау-белку вводят в течение периода времени, составляющего от около 1 ч до 1 года или более (например, от около 1 до около 4 ч, от около 4 до около 8 ч, от около 8 до около 12 ч, от около 12 до около 24 ч, от около 24 ч до около 2 дней, от около 2 до около 4 дней, от около 4 до около 7 дней, от около 1 недели до около 2 недель, от около 2 до около 4 недель, от около 4 недель до около 2 месяцев, от около 2 до около 4 месяцев, от около 4 до около 6 месяцев, от около 6 месяцев до около 1 года или более 1 года), с начала введения первой дозы антитела к тау-белку.

В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в цереброспинальной жидкости, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке крови или плазме)) индивидуума, где антитело к тау-белку вводят в виде однократной болюсной инъекции.

В других случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) по настоящему изобретению включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для значительного снижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости (например, в цереброспинальной жидкости, ISF, крови или фракции крови (например, в сыворотке крови или плазме)) индивидуума, где антитело к тау-белку вводят в нескольких дозах (например, 2, 3, 4, 5 или более дозах). Когда вводят многократные дозы, интервал дозирования может составлять каждый час, каждые 2 ч, каждые 3 ч, каждые 4 ч, каждые 5 ч, каждые 6 ч, каждые 7 ч, каждые 8 ч, каждые 9 ч, каждые 10 ч, каждые 12 ч, каждые 24 ч, каждые 48 ч, каждые 3 дня, каждые 4 дня, каждые 5 дней, каждые 6 дней, каждые 7 дней и т.д.

Настоящее изобретение относится к способу лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума, причем данный способ включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации антитела к тау-белку в цереброспинальной жидкости (CSF) индивидуума. В некоторых случаях минимальная концентрация анти-тау антитела в CSF достигается в течение 30 мин с начала введения антитела к тау-белку. В некоторых случаях минимальная концентрация анти-тау антитела в CSF достигается в течение 1 ч с начала введения антитела к тау-белку. В некоторых случаях минимальная концентрация антитела к тау-белку в CSF достигается в течение 48 ч, в течение 36 ч, в течение 24 ч, в течение 12 ч, в течение 8 ч, в течение 4 ч, в течение 2 ч, в течение 1 ч или в течение 30 мин (или менее 30 мин) с начала введения антитела к тау-белку. В некоторых случаях минимальная концентрация анти-тау антитела в CSF достигается в течение периода времени, составляющего от около 15 до около 30 мин, от около 30 мин до около 1 ч, от около 1 до около 2 ч, от около 2 до около 4 ч, от около 4 до около 8 ч, от около 8 до около 12 ч, от около 12 до около 24 ч, от около 24 до около 36 ч или от около 36 до около 48 ч. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению для лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации антитела к тау-белку в CSF у индивидуума, где минимальная концентрация анти-тау антитела в CSF составляет по меньшей мере 20 нг/мл. Например, в некоторых случаях способ по настоящему изобретению для лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации антитела к тау-белку в CSF у индивидуума, где минимальная концентрация анти-тау антитела в CSF составляет по меньшей мере 20 нг/мл, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 125, по меньшей мере 150, по меньшей мере 175, по меньшей мере 200, по меньшей мере 250, по меньшей мере 300, по меньшей мере 350, по меньшей мере 400, по меньшей мере 450, по меньшей мере 500, по меньшей мере 550, по меньшей мере 600, по меньшей мере 650, по меньшей мере 700, по меньшей мере 750 или по меньшей мере 800 нг/мл. Например, в некоторых случаях способ по настоящему изобретению для лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации анти-Тау антител в CSF у индивидуума, где минимальная концентрация анти-тау антитела в CSF составляет от около 20 до около 30 нг/мл, от около 30 до около 40 нг/мл, от около 40 до около 50 нг/мл, от около 50 до около 60 нг/мл, от около 60 до около 75 нг/мл, от около 75 до около 100 нг/мл, от около 100 до около 150 нг/мл, от около 150 до около 200 нг/мл, от около 200 до около 250 нг/мл, от около 250 до около 300 нг/мл, от около 300 до около 350 нг/мл, от около 350 до около 400 нг/мл, от около 400 до около 450 нг/мл, от около 450 до около 500 нг/мл, от около 500 до около 550 нг/мл, от около 550 до около 600 нг/мл, от около 600 до около 700 нг/мл, от около 700 до около 800 нг/мл или более чем 800 нг/мл.

В некоторых случаях способ по настоящему изобретению для лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации антитела к тау-белку в цереброспинальной жидкости у индивидуума, где минимальная концентрация анти-тау антитела в цереброспинальной жидкости обеспечивает молярное отношение анти-тау антитела к тау-белку в цереброспинальной жидкости, которое составляет по меньшей мере 2:1. Например, в некоторых случаях способ по настоящему изобретению для лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации антитела к тау-белку в цереброспинальной жидкости у индивидуума, где минимальная концентрация анти-тау антитела в цереброспинальной жидкости обеспечивает молярное отношение анти-тау антитела к тау-белку в цереброспинальной жидкости, которое составляет по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 2,5:1, по меньшей мере 3:1, по меньшей мере 3,5:1, по меньшей мере 4:1, по меньшей мере 4,5:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 6:1, по меньшей мере 7:1, по меньшей мере 8:1, по меньшей мере 9:1 или по меньшей мере 10:1.

В некоторых случаях способ по настоящему изобретению для лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации антитела к тау-белку в цереброспинальной жидкости у индивидуума, где острая таупатия представляет собой черепно-мозговую травму. В некоторых случаях способ по настоящему изобретению для лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума включает в себя введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для обеспечения минимальной концентрации антитела к тау-белку в цереброспинальной жидкости у индивидуума, где острая таупатия представляет собой инсульт.

Настоящее изобретение относится к способам лечения черепно-мозговой травмы (TBI) у индивидуума, причем данные способы, как правило, включают введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для существенного понижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума. В некоторых случаях антитело вводят в течение 48 ч после черепно-мозговой травмы. В некоторых случаях антитело вводят в течение 48 ч, в течение 36 ч, в течение 24 ч, в течение 12 ч, в течение 8 ч, в течение 4 ч, в течение 2 ч, в течение 1 ч или в течение 30 мин (или менее чем 30 мин) после TBI.

Настоящее изобретение относится к способам лечения инсульта у индивидуума, причем данные способы, как правило, включают введение индивидууму антитела к тау-белку в количестве, эффективном для существенного понижения уровня тау-белка (например, общего тау-белка и/или свободного тау-белка) во внеклеточной жидкости индивидуума. В некоторых случаях антитело вводят в течение 48 ч после инсульта. В некоторых случаях антитело вводят в течение 48 ч, в течение 36 ч, в течение 24 ч, в течение 12 ч, в течение 8 ч, в течение 4 ч, в течение 2 ч, в течение 1 ч или в течение 30 мин (или менее чем 30 мин) после инсульта.

Количество свободного тау-белка, например, свободного внеклеточного тау-белка (eTau), не связанного с антителом анти-eTau во внеклеточной жидкости, может быть определено следующим образом. Количество свободного тау-белка может быть определено с помощью способа, предусматривающего: а) контактирование иммобилизованного антитела с образцом внеклеточной жидкости (например, CSF, ISF, сыворотки, крови или плазмы), полученным от индивидуума, где иммобилизованное антитело конкурирует за связывание с eTau с анти-eTau антителом, которое вводят индивидууму, и где контактирование происходит в условиях, подходящих для связывания несвязанного eTau с иммобилизованным антителом; и б) определение количества eTau, связанного с иммобилизованным антителом. Количество eTau, связанного с иммобилизованным антителом, является показателем количества eTau, не связанного с антителом к тау-белку в образце. В некоторых случаях количество eTau, связанного с иммобилизованным антителом, определяется с использованием третьего антитела, имеющего детектируемую метку, которое не конкурирует с иммобилизованным антителом за связывание с eTau.

Антитела.

Антитела к тау-белку (или домены VH/VL или CDR, происходящие из них), подходящие для использования в настоящем изобретении, могут быть получены с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. В качестве альтернативы могут быть использованы признанные в данной области антитела к тау-белку. Также могут быть использованы антитела, которые связываются с тем же эпитопом и/или конкурируют с любым из таких известных в данной области антител за связывание с тау-белком.

Служащее примером антитело к тау-белку представляет собой hu-IPN002 (также известно как IPN007 и IPN002 Variant 2), содержащее тяжелую и легкую цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO: 37 и 41 соответственно, или его антигенсвязывающие фрагменты и их варианты. hu-IPN002 является гуманизированным моноклональным антителом, иммуноглобулином (IgG4), которое связывается с внеклеточным тау-белком.

В других вариантах осуществления антитело содержит тяжелую и легкую цепь, области CDR или вариабельные области hu-IPN002. Соответственно, в одном из вариантов осуществления антитело со-

держит домены CDR1, CDR2 и CDR3 из VH-области hu-IPN002, имеющей последовательность, показанную в SEQ ID NO: 37, и домены CDR1, CDR2 и CDR3 из VL-области hu-IPN002, имеющей последовательность, показанную в SEQ ID NO: 41. В другом варианте осуществления антитело содержит домены CDR1 CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NO: 10, 11 и 12 соответственно, и домены CDR1 CDR2 и CDR3 легкой цепи, имеющие последовательности, показанные в SEQ ID NOS: 7, 8 и 9 соответственно. В другом варианте осуществления антитело содержит VH- и/или VL-области, имеющие аминокислотные последовательности, показанные в SEQ ID NO: 37 и/или SEQ ID NO: 41 соответственно. В другом варианте осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL), кодируемые последовательностями нуклеиновых кислот, показанных в SEQ ID NO: 29 и/или SEQ ID NO: 33 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения антитело конкурирует за связывание с тем же эпитопом на тау-белке, что и упомянутые выше антитела, и/или связывается с ним. В другом варианте осуществления изобретения антитело имеет по меньшей мере около 90% идентичности аминокислотной последовательности переменной области с вышеупомянутыми антителами (например по меньшей мере около 90%, 95% или 99% идентичности переменной области с SEQ ID NO: 37 или SEQ ID NO: 41).

В одном варианте осуществления антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), представляет собой гуманизированное антитело, которое связывается с эпитопом Тау-белка, который находится в пределах аминокислот от 2 до 176 Тау-белка, например в пределах аминокислот от 2 до 15, аминокислот от 15 до 24, аминокислот от 24 до 50, аминокислот от 2 до 25, аминокислот от 15 до 50, аминокислот от 50 до 75, аминокислот от 40 до 60, аминокислот от 75 до 100, аминокислот от 60 до 80, аминокислот от 100 до 125, аминокислот от 80 до 115, аминокислот от 125 до 150, аминокислот от 115 до 140, аминокислот от 150 до 176 или аминокислот от 140 до 160 тау-белка. Примеры полипептидов тау изображены на фиг. 9; антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии, может быть гуманизированным антителом, которое специфически связывается с эпитопом в полипептиде тау, показанном на фиг. 9.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), представляет собой гуманизированное антитело, которое связывается с эпитопом в пределах аминокислот от 15 до 24 тау-белка.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), представляет собой антитело, которое связывается с эпитопом тау-белка, который находится в пределах аминокислот от 1 до 158 тау-белка, например, в пределах аминокислот от 1 до 15, аминокислот от 7 до 13, аминокислот от 2 до 18, аминокислот от 15 до 24, аминокислот от 19 до 46, аминокислот от 24 до 50, аминокислот от 2 до 25, аминокислот от 25 до 30, аминокислот от 15 до 50, аминокислот от 28 до 126, аминокислот от 50 до 75, аминокислот от 40 до 60, аминокислот от 75 до 100, аминокислот от 60 до 80, аминокислот от 100 до 125, аминокислот от 80 до 115, аминокислот от 125 до 150, аминокислот от 115 до 140 или аминокислот от 150 до 158 тау-белка, где нумерация аминокислоты основана на номере аминокислоты в 2N4R тау-белка, например, как изображено на фиг. 9. В некоторых случаях антитело является гуманизированным. В некоторых случаях способы по настоящему изобретению включают лечение таупатии (например, острой таупатии) путем введения антитела к тау-белку, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 1 до 158 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на аминокислотной последовательности 2N4R тау-белка, изображенной на фиг. 9. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 2 до 18 тау-белка. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, является линейным эпитопом, и при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 2 до 68 тау-белка. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с полипептидом Tau4, имеющим по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 71. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с линейным эпитопом внутри полипептида тау, в котором эпитоп находится в пределах аминокислот от 2 до 68 тау-белка. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с линейным эпитопом внутри тау-полипептида, где эпитоп находится в пределах аминокислот от 15 до 24 тау-белка. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 7 до 13 тау-белка, например аминокислоты EFEVMED (SEQ ID NO: 21). В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в

пределах аминокислот от 25 до 30 тау-белка, например аминокислоты DQGGYT (SEQ ID NO: 22). В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 28 до 126 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на аминокислотной последовательности 2N4R Тау, изображенной на фиг. 9. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 150 до 158 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на аминокислотной последовательности 2N4R Тау, изображенной на фиг. 9. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 19 до 46 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на аминокислотной последовательности 2N4R Тау, изображенной на фиг. 9.

В некоторых случаях способ по настоящему изобретению включает лечение таупатии (например, острой таупатии) путем введения антитела, которое специфически связывает внеклеточный тау-белок (еТау), при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 1 до 158 из еТау, где нумерация аминокислот основана на аминокислотной последовательности 2N4R Тау, изображенной на фиг. 9. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с еТау, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 2 до 18 из еТау. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с еТау, при этом эпитоп, связанный с антителом, является линейным эпитопом, и при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 2 до 68 из еТау. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с полипептидом еТау4, имеющим по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO:71. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с линейным эпитопом внутри полипептида еТау4, в котором эпитоп находится в пределах аминокислот от 2 до 68 из еТау4. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывает линейный эпитоп внутри полипептида еТау4, в котором эпитоп находится в пределах аминокислот от 15 до 24 из еТау4. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается еТау, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 7 до 13 из еТау, например аминокислоты EFEVMED (SEQ ID NO: 21). В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с еТау, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 25 до 30 из еТау, например аминокислоты DQGGYT (SEQ ID NO: 22). В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается с еТау, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 28 до 126 из еТау, где нумерация аминокислот основана на аминокислотной последовательности 2N4R Тау, изображенной на фиг. 9. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается еТау, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 150 до 158 из еТау, где нумерация аминокислот основана на аминокислотной последовательности 2N4R Тау, изображенной на фиг. 9. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое вводят, специфически связывается еТау, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 19 до 46 из еТау, где нумерация аминокислот основана на аминокислотной последовательности 2N4R Тау, изображенной на фиг. 9. Настоящее изобретение относится к способу лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума. Данный способ обычно включает в себя введение индивидууму: а) эффективного количества антитела (например, моноклонального антитела), причем данное антитело необязательно может представлять собой гуманизированное антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау; или б) фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное антитело. Антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау (необязательно гуманизированного антитела, например моноклонального антитела) и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), представляет собой антитело, которое связывается с эпитопом тау, который находится в пределах аминокислот от 1 до 158 тау-белка, например в пределах аминокислот от 1 до 15, аминокислот от 7 до 13, аминокислот от 2 до 18, аминокислот от 15 до 24, аминокислот от 19 до 46, аминокислот от 24 до 50, аминокислот от 2 до 25, аминокислот от 25 до 30, аминокислот от 15 до 50, аминокислот от 28 до 126, аминокислот от 50 до 75, аминокислот от 40 до 60, аминокислот от 75 до 100, аминокислот от 60 до 80, аминокислот от 100 до 125, аминокислот от 80 до 115, аминокислот от 125 до 150, аминокислот от 115 до 140 или аминокислот от 150 до 158 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на номере аминокислоты в 2N4R Тау, например, как изображено на фиг. 9. В некоторых случаях антитело является гуманизированным.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), является гуманизированным антителом анти-тау по настоящему изобретению. В некоторых случаях антитело представляет собой гуманизированное антитело, которое связывается с эпито-

пом (например, линейным эпитопом) в пределах аминокислот от 15 до 24 тау-белка.

В некоторых случаях способ лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума предусматривает введение индивидууму эффективного количества антитела к тау-белку, для которого не требуется присутствие вставки 2N тау-белка для связывания с тау-белком. В некоторых случаях эпитоп, распознанный антителом анти-тау, подходящим для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии, не находится внутри вставки 2N тау-белка. Вставка 2N тау-белка включает в себя аминокислоты от 45 до 102 из аминокислотной последовательности 2N4R, изображенной на фиг. 9.

В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 2 до 68 тау-белка. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с внеклеточным тау-белком (eTau), при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 2 до 68 eTau. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с eTau, при этом эпитоп, связанный с антителом, является линейным эпитопом, и при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 2 до 68 из eTau. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с полипептидом eTau4, имеющим по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 48. В некоторых случаях антитело к тау-белку, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с линейным эпитопом внутри полипептида eTau4, и при этом данный эпитоп находится в пределах аминокислот от 2 до 68 из eTau4. В любом из упомянутых выше вариантов осуществления антитело может быть гуманизированным.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, содержит аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 1 до 158 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на 2N4R-форме тау-белка, например, как изображено на фиг. 9. В некоторых из данных вариантов осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых из данных вариантов осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, включает в себя аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 2 до 18 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на 2N4R-форме тау-белка, например, как изображено на фиг. 9. В некоторых из данных вариантов осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых из данных вариантов осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, включает в себя аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 7 до 13 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на 2N4R-форме тау-белка, например, как изображено на фиг. 9. В некоторых из данных вариантов осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых из данных вариантов осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, включает в себя аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 25 до 30 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на 2N4R-форме тау-белка, например, как изображено на фиг. 9. В некоторых из данных вариантов осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых из данных вариантов осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, включает в себя аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 28 до 126 тау-белка, где нумерация

аминокислот основана на 2N4R-форме тау-белка, например, как изображено на фиг. 9. В некоторых из данных вариантов осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых из данных вариантов осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

В некоторых случаях антитело, которое связывается с N-концевой областью полипептида тау-белка и которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению лечения таупатии (например, острой таупатии), специфически связывается с тау-белком, при этом эпитоп, связанный с антителом, включает в себя аминокислотные остатки в пределах аминокислот от 150 до 158 тау-белка, где нумерация аминокислот основана на 2N4R-форме тау-белка, например, как изображено на фиг. 9. В некоторых из данных вариантов осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых из данных вариантов осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

В некоторых случаях антитело к тау-белку, подходящее для применения в способе по настоящему изобретению, представляет собой антитело к тау-белку, которое специфически связывается с эпитопом в N-концевой области полипептида тау-белка (например, линейный эпитоп в аминоконцевой (N-концевой) части тау-белка, например, в пределах аминокислот от 1 до 25 тау-белка, в пределах аминокислот от 1 до 18 тау-белка, в пределах аминокислот от 9 до 18 тау-белка (где аминокислоты от 1 до 18 тау-белка представляют собой MAEPKQEFVEMEDHAGTY; SEQ ID NO: 23), в пределах аминокислот от 15 до 44 тау-белка, в пределах аминокислот от 13 до 24 тау-белка или в пределах аминокислот от 15 до 24 тау-белка (где аминокислоты от 15 до 24 тау-белка представляют собой: AGTYGLGDRK (SEQ ID NO: 24) В некоторых случаях антитело является гуманизированным, например одна или более каркасных областей варибельной области тяжелой цепи и/или варибельной области легкой цепи включает в себя последовательности, происходящие из каркасной области человеческого иммуноглобулина.

В некоторых случаях гуманизированное моноклональное антитело, которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению, специфически связывается с эпитопом внутри фрагмента в пределах аминокислот от 15 до 24 из полипептида тау-белка. В некоторых случаях эпитоп не содержит фосфорилированную аминокислоту. В некоторых случаях эпитоп не содержит нитрированную аминокислоту. В некоторых случаях эпитоп содержит фосфорилированную аминокислоту, нитрированную аминокислоту или как фосфорилированную аминокислоту, так и нитрированную аминокислоту.

В некоторых случаях антитело, которое подходит для применения в способе по настоящему изобретению, является гуманизированным. Гуманизация каркасной области(ей) снижает риск того, что антитело вызовет ответную реакцию человеческих антимышиных антител (human-anti-mouse-antibody (НАМА)) в организме человека. Известные в данной области техники способы определения иммунного ответа можно выполнять, чтобы контролировать реакцию НАМА у определенного пациента или в ходе клинических испытаний. У пациентов, которым вводят гуманизированные антитела, можно провести оценку иммуногенности в начале и на протяжении введения терапии. Ответная реакция НАМА измеряется, например, выявлением антител к гуманизированному терапевтическому реагенту в образцах сыворотки от пациента с помощью способа, известного в данной области, включая технологию поверхностного плазмонного резонанса (BIACORE) и/или твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Во многих случаях подходящее гуманизированное антитело к тау-белку, по существу, не вызывает реакцию НАМА у человека. В некоторых случаях подходящее гуманизированное антитело к тау-белку уменьшило иммуногенный потенциал, как определено с помощью анализа EpiScreen™, который проводят с использованием обедненных CD8⁺-клетками мононуклеарных клеток периферической крови. В некоторых случаях подходящее гуманизированное антитело к тау-белку демонстрирует индекс стимуляции (Stimulation Index), составляющий менее 2,0.

Некоторые аминокислоты из каркасных остатков человеческой варибельной области выбираются для замещения на основе их возможного влияния на CDR-конформацию и/или связывание с антигеном. Неестественное соседство мышиных CDR-областей с человеческой варибельной каркасной областью может приводить к неестественным конформационным затруднениям, которые, если их не скорректировать посредством замещения некоторых аминокислотных остатков, приводят к потере сродства, необходимого для связывания.

Выбор аминокислотных остатков для замещения может быть определен, частично, с помощью компьютерного моделирования. Компьютерное оборудование и программное обеспечение для получения трехмерных изображений молекул иммуноглобулинов известны в данной области техники. В целом, молекулярные модели получают, исходя из известных структур иммуноглобулиновых цепей или их доменов. Цепи, которые должны быть смоделированы, сравниваются для поиска сходства аминокислотной последовательности с цепями или доменами известных трехмерных структур, и цепи или домены, которые обнаруживают самую высокую степень сходства, выбирают в качестве отправной точки для построения молекулярной модели. Упомянутые цепи или домены, разделяющие по меньшей мере 50% идентичности последовательности, выбраны для моделирования, например, те, которые разделяют по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90% или более чем 90% идентичности последовательности или более, выбраны для моделирования. Известные исходные структуры модифицируют с учетом различий между фактическими аминокислотами в моделируемых цепях или доменах иммуноглобулина и таковыми в исходной структуре. Модифицированные структуры затем собирают в составной иммуноглобулин. В за-

ключение, полученную модель совершенствуют путем энергетической минимизации и проверки того, чтобы все атомы находились на соответствующих расстояниях друг от друга и чтобы длины связей и углы находились внутри химически допустимых диапазонов.

CDR-домены и каркасные области таковы, как определено Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 and 1991). Альтернативное структурное определение было предложено Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901 (1987); *Nature* 342:878 (1989); и *J. Mol. Biol.* 186:651 (1989) (совместно именуемые как "Chothia"). Когда каркасные остатки, согласно определению Kabat, см. выше, представляют собой остатки структурной петли, согласно определению Chothia, см. выше, то аминокислоты, присутствующие в мышинном антителе, могут быть выбраны для подстановки в гуманизированное антитело. Остатки, которые "прилегают к области CDR", включают в себя аминокислотные остатки в положениях, непосредственно примыкающих к одной или более CDR в первичной последовательности цепи гуманизированного иммуноглобулина, например, в положениях, непосредственно примыкающих к области CDR, по определению Kabat, или CDR, по определению Chothia (см., например, Chothia and Lesk *JMB* 196:901 (1987)). Такие аминокислоты, что очень вероятно, будут взаимодействовать с аминокислотами в CDR, и, если выбраны из акцептора, искажать донорные CDR и уменьшать аффинность. Кроме того, смежные аминокислоты могут взаимодействовать непосредственно с антигеном (Amit et al., *Science*, 233:747 (1986)), и отбор данных аминокислот из донора может быть желательным, чтобы сохранить все антигенные контакты, которые обеспечивают аффинность в исходном антителе. Антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать гуманизированную каркасную область легкой цепи; и гуманизированную каркасную область тяжелой цепи, причем выделенное антитело конкурирует за связывание с эпитопом в N-концевой области полипептида тау-белка с антителом, которое включает в себя а) область легкой цепи, содержащую: i) CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 7; (ii) CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 8; и (iii) CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 9; и б) область тяжелой цепи, содержащую: (i) CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 10; (ii) CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 11; и (iii) CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 12. В некоторых случаях область легкой цепи и область тяжелой цепи присутствуют в виде отдельных полипептидов. В других случаях область легкой цепи и область тяжелой цепи присутствуют в одном полипептиде. Выделенное антитело может включать в себя тяжелую цепь, которая содержит константную область изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В других случаях антитело представляет собой Fv, ScFv, Fab, F(ab')₂, или Fab'. Антитело может содержать ковалентно связанный непептидный синтетический полимер, например, когда синтетический полимер представляет собой полимер поли(этиленгликоль). В некоторых случаях выделенное антитело слито, непосредственно или через линкер, с молекулой-носителем, пептидом или белком, который способствует преодолению гематоэнцефалического барьера. В некоторых случаях эпитоп, связанный с выделенным антителом, находится в пределах аминокислот от 15 до 24 полипептида тау-белка. Гуманизированная каркасная область легкой цепи выделенного антитела может включать в себя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных замен, изображенных в табл. 3. Гуманизированная каркасная область тяжелой цепи выделенного антитела содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 аминокислотных замен, изображенных в табл. 2.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать: а) область легкой цепи, содержащую: i) одну, две или три определяющие комплементарность области (CDR) антитела IPN001, где CDR таковы, как определено Kabat (см., например, табл. 1, выше; и Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991)).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя а) область легкой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR VL антитела IPN001; и ii) гуманизированную каркасную область легкой цепи; и б) область тяжелой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR VH антитела IPN001; и б) гуманизированную каркасную область тяжелой цепи; где CDR из VH и VL таковы, как определено Kabat (см., например, табл. 1; и Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991)). В некоторых из данных вариантов осуществления антитело к тау-белку включает гуманизированную каркасную область VH и/или VL.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя а) область легкой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR VL антитела IPN001 и ii) гуманизированную каркасную область легкой цепи; и б) область тяжелой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR VH антитела IPN001 и б) гуманизированную каркасную область тяжелой цепи; где CDR VH и VL таковы, как определено Chothia (см., например, табл. 1, и Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901 (1987)).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя а) область легкой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR VL антитела

IPN002 и ii) гуманизованную каркасную область легкой цепи; и b) область тяжелой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR VH антитела IPN002 и b) гуманизованную каркасную область тяжелой цепи; где CDR VH и VL таковы, как определено Kabat (см., например, табл. 1, и Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991)).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя: а) область легкой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR VL антитела IPN002; и ii) гуманизованную каркасную область легкой цепи; и b) область тяжелой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR VH антитела IPN002; и b) гуманизованную каркасную область тяжелой цепи; где CDR VH и VL таковы, как определено Chothia (см., например, табл. 1, см. выше, и Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901 (1987)).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя а) область легкой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR, выбранных из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3; и ii) гуманизованную каркасную область легкой цепи; и b) область тяжелой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR, выбранных из SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 и SEQ ID NO: 6; и ii) гуманизованную каркасную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя а) область легкой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR, выбранных из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9; и ii) гуманизованную каркасную область легкой цепи; и b) область тяжелой цепи, содержащую: i) одну, две или три CDR, выбранных из SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12; и ii) гуманизованную каркасную область тяжелой цепи.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя а) область легкой цепи, содержащую: i) домен CDR1 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 7; (ii) домен CDR2 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 8; (iii) домен CDR3 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 9; и (IV) гуманизованную каркасную область легкой цепи; и b) область тяжелой цепи, содержащую: (i) домен CDR1 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 10; (ii) домен CDR2 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 11; (iii) домен CDR3 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 12; и (IV) гуманизованную каркасную область тяжелой цепи.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую одну, две или три CDR тяжелой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, выбранную из одной или более из SEQ ID NO: 4, 5 и 6; и одну, две, три, или четыре FR-области (каркасные области), которые являются гуманизованными. Например, в некоторых вариантах осуществления подходящее антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая содержит, по порядку от N-конца к С-концу, гуманизованную FR1 тяжелой цепи; CDR1, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4; гуманизованную FR2 тяжелой цепи; CDR2, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; гуманизованную FR3 тяжелой цепи; CDR3, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6; и гуманизованную FR4 тяжелой цепи.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя одну, две или три CDR легкой цепи, имеющих полипептидную последовательность, выбранную из одной или более из SEQ ID NO: 1, 2 и 3; и одну, две, три или четыре FR-области, которые являются гуманизованными. Например, в некоторых вариантах осуществления подходящее антитело содержит вариабельную область легкой цепи, которая включает в себя, по порядку от N-конца к С-концу, гуманизованную FR1 легкой цепи; CDR1, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1; гуманизованную FR2 легкой цепи; CDR2, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2; гуманизованную FR3 легкой цепи; CDR3, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3; и гуманизованную FR4 легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя одну, две или три CDR тяжелой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, выбранную из одной или более из SEQ ID NO: 10, 11 и 12; и одну, две, три или четыре FR-области, которые являются гуманизованными. Например, в некоторых вариантах осуществления подходящее антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая содержит, по порядку от N-конца к С-концу, гуманизованную FR1 тяжелой цепи; CDR1, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 10; гуманизованную FR2 тяжелой цепи; CDR2, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 11; гуманизованную FR3 тяжелой цепи; CDR3, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 12; и гуманизованную FR4 тяжелой цепи.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя одну, две или три CDR легкой цепи, имеющих полипептидную последователь-

ность, выбранную из одной или более из SEQ ID NO: 7, 8 и 9; и одну, две, три, или четыре FR-области, которые являются гуманизированными. Например, в некоторых вариантах осуществления подходящее антитело содержит вариабельную область легкой цепи, которая включает в себя, по порядку от N-конца к С-концу, гуманизированную FR1 легкой цепи; CDR1, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7; гуманизированную FR2 легкой цепи; CDR2, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8; гуманизированную FR3 легкой цепи; CDR3, имеющую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 9; и гуманизированную FR4 легкой цепи.

Аминокислотные последовательности VH и VL из IPN001 изображены на фиг. 11A и 11B. Области CDR (по определению Kabat) выделены в тексте жирным шрифтом и подчеркнуты. Аминокислотные последовательности VH и VL из IPN002 изображены на фиг. 12A и 12B. Области CDR (по определению Kabat) выделены в тексте жирным шрифтом и подчеркнуты. SEQ ID NO: 1-12 являются следующими:

RSSQTILHSNGNTYLE (SEQ ID NO:1);
 KVSKRFS (SEQ ID NO:2);
 FQGSLVPWA (SEQ ID NO:3);
 SYGMS (SEQ ID NO:4);
 TISSSGSRITYFPDSVKG (SEQ ID NO:5);
 TWDGAMDY (SEQ ID NO:6);
 KSSQSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:7);
 KVSNRFS (SEQ ID NO:8);
 FQGSLVPWA (SEQ ID NO:9);
 KYGMS (SEQ ID NO:10);
 TISSSGSRITYFPDSVKG (SEQ ID NO:11);
 SWDGAMDY (SEQ ID NO:12).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 11B и показанной в SEQ ID NO: 13.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 11A и показанной в SEQ ID NO: 14.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 12B, показанной в SEQ ID NO: 15.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 12A и показанной в SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 13 (вариант 1 VH).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 14 (вариант 2 VH).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 15 (вариант 3 VH).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 16 (вариант 4 VH).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению,

тению, может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 17 (вариант 1 Vк).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 18 (вариант 2 Vк).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 19 (вариант 3 Vк).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности, изображенной на фиг. 20 (вариант 4 Vк).

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 замен аминокислот в каркасе (FR), относительно аминокислотных последовательностей FR парентерального антитела IPN002, изображенных в табл. 2.

Таблица 2

Варианты VH

Положение аминокислоты	IPN002 (Парентеральное антитело)	VH Вариант 1	VH Вариант 2	VH Вариант 3	VH Вариант 4
FR1					
3	H	H	H	Q	Q
19	K	R	R	R	R
FR2					
40	T	A	A	A	A
42	D	G	G	G	G
44	R	G	G	G	G
FR3					
66	Q	R	R	R	R
83	S	S	N	N	N
85	L	S	L	L	L
86	K	K	R	R	R
87	S	S	A	A	A
93	S	S	S	S	A
FR4					
108	S	S	T	T	T

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, включающую замещение H → Q в положении аминокислоты 3 в FR1 VH и/или замещение K → R в положении аминокислоты 19 в FR1 VH.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую замещение T → A в положении аминокислоты 40 в FR2 VH, и/или замещение D → G в положении аминокислоты 42 в FR2 VH, и/или замещение R → G в положении аминокислоты 44 в FR2 VH.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариабельную область тяжелой цепи, включающую замещение Q → R в положении аминокислоты 66 в FR3 VH, и/или замещение S → N в положении аминокислоты 83 FR3 VH, и/или замещение L → S в положении аминокислоты 85 в FR3 VH, и/или замещение K → R в положении аминокислоты 86 в последовательности FR3, и/или замещение S → A в положении аминокислоты 87 в FR3 VH, и/или замещение S → A в положении аминокислоты 93 в VH FR3.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может включать в себя вариабельную область тяжелой цепи, включающую замещение S → T в положении аминокислоты 108 в FR4 VH. В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может включать в себя, по порядку от N-конца к С-концу, VH-область, содержащую EVX1LVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFSFS (SEQ ID NO: 25); CDR VH1, как

показано на фиг. 2А; WVRQAPGKGEWVA (SEQ ID NO: 26); CDR VH2, как показано на фиг. 2А; RFTISRDNANTLYLQMX2SX3X4X5EDTAMYCYX6I (SEQ ID NO: 27); CDR VH3, как показано на фиг. 2А; WGQGTGX7VTVSS (SEQ ID NO: 44), где X1 представляет собой H или Q; X2 представляет собой S или N; X3 представляет собой S или L; X4 представляет собой K или R; X5 представляет собой S или A; X6 представляет собой S или A; и X7 представляет собой S или T.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариательную область легкой цепи, содержащую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных замен в каркасе (FR), относительно аминокислотных последовательностей FR парентерального антитела IPN002, изображенных в табл. 3.

Таблица 3

Варианты Vk					
Положение аминокислоты	IPN002 (Парентеральное антитело)	Vk Вариант 1	Vk Вариант 2	Vk Вариант 3	Vk Вариант 4
FR1					
3	L	L	V	V	V
7	T	S	S	S	S
14	S	T	T	T	T
17	D	Q	Q	Q	Q
18	Q	P	P	P	P
FR2					
45	K	Q	Q	Q	Q
48	V	V	V	V	I
FR3					
83	L	V	V	V	V
85	T	T	T	V	V
FR4					
104	L	V	V	V	V

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариательную область легкой цепи, содержащую замещение L → V в аминокислотном положении 3 в FR1 VL, и/или замещение T → S в положении аминокислоты 7, в FR1 VL, и/или замещение S → T в положении аминокислоты 14 в FR1 VL, и/или замещение D → Q в аминокислотном положении 17 в FR1 VL, и/или замещение Q → P в аминокислотном положении 18 в FR1 VL.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариательную область легкой цепи, включающую замещение K → Q в положении аминокислоты 45 из FR2 VL и/или замещение V → I в положении аминокислоты 48 FR2 VL.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариательную область легкой цепи, содержащую замещение L → V в положении аминокислоты 83 из последовательности FR3 VL и/или замещение T → V в аминокислотном положении 85 FR3 VL.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать вариательную область легкой цепи, содержащей замещение L → V в положении аминокислоты 104 FR4 VL. В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может включать в себя, по порядку от N-конца к C-концу, VL-область, содержащую: DVX1MTQSPLSLPVTLGQPASISC (SEQ ID NO: 45); CDR VL1, как показано на фиг. 12B; WYLQKPGQSPQLLX2Y (SEQ ID NO: 46); CDR VL2, как показано на фиг. 12B; GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVYGX3YYC (SEQ ID NO: 47); CDR VL3, как показано на фиг. 2B; FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 48); где X1 представляет собой L или V; X2 представляет собой V или I; и X3 представляет собой T или V.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя

- вариант VH 1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 13; и вариант Vk 1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 17;
- вариант VH 1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 13; и вариант Vk 2, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 18;
- вариант VH 1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 13; и вариант Vk 3, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 19;
- вариант VH 1, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 13; и вариант Vk 4, содержащий аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 20;

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя, по порядку от N-конца к С-концу: FR1-область легкой цепи; CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1; FR2-область легкой цепи; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2; FR3-область легкой цепи; CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3; необязательно FR4-область легкой цепи; область линкера; необязательно FR1-область тяжелой цепи; CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID: 4; FR2-область тяжелой цепи; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; FR3-область тяжелой цепи; CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6; и FR4-область тяжелой цепи. В некоторых из данных вариантов осуществления одна или более из FR-областей является гуманизированной FR-областью. В некоторых из данных вариантов осуществления каждая из областей FR является гуманизированной FR-областью. Область линкера может составлять от около 5 аминокислот до около 50 аминокислот (а.к.) в длину, например от около 5 а.к. до около 10 а.к., от около 10 а.к. до около 15 а.к., от около 15 а.к. до около 20 а.к., из около 20 а.к. до около 25 а.к., от около 25 а.к. до около 30 а.к., от около 30 а.к. до около 35 а.к., от около 35 а.к. до около 40 а.к., от около 40 а.к. до около 45 а.к., или от около 45 а.к. до около 50 а.к. в длину. В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя, в порядке от N-конца к С-концу, FR1-область тяжелой цепи; CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID: 4; FR2-область тяжелой цепи; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5; FR3-область тяжелой цепи; CDR3, со-

держащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6; необязательно FR4-область тяжелой цепи; линкер; необязательно FR1-область легкой цепи; CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1; FR2-область легкой цепи; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2; FR3-область легкой цепи; CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3; и FR4-область легкой цепи. В некоторых из данных вариантов осуществления одна или более из FR-областей является гуманизированной FR-областью. В некоторых из данных вариантов осуществления каждая из областей FR является гуманизированной FR-областью. Область линкера может составлять от около 5 аминокислот до около 50 аминокислот в длину, например от около 5 а.к. до около 10 а.к., от около 10 а.к. до около 15 а.к., от около 15 а.к. до около 20 а.к., из около 20 а.к. до около 25 а.к., от около 25 а.к. до около 30 а.к., от около 30 а.к. до около 35 а.к., от около 35 а.к. до около 40 а.к., от около 40 а.к. до около 45 а.к., или от около 45 а.к. до около 50 а.к. в длину.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя, по порядку от N-конца к C-концу, FR1-область легкой цепи; CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7; FR2-область легкой цепи; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8; FR3-область легкой цепи; CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 9; необязательно FR4-область легкой цепи; область линкера; необязательно FR1-область тяжелой цепи; CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 10; FR2-область тяжелой цепи; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 11; FR3-область тяжелой цепи; CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 12; и FR4-область тяжелой цепи. В некоторых из данных вариантов осуществления одна или более из FR-областей является гуманизированной FR-областью. В некоторых из данных вариантов осуществления каждая из областей FR является гуманизированной FR-областью. Область линкера может составлять от около 5 аминокислот до около 50 аминокислот в длину, например от около 5 а.к. до около 10 а.к., от около 10 а.к. до около 15 а.к., от около 15 а.к. до около 20 а.к., из около 20 а.к. до около 25 а.к., от около 25 а.к. до около 30 а.к., от около 30 а.к. до около 35 а.к., от около 35 а.к. до около 40 а.к., от около 40 а.к. до около 45 а.к., или от около 45 а.к. до около 50 а.к. в длину.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя, в порядке от N-конца к C-концу, FR1-область тяжелой цепи; CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 10; FR2-область тяжелой цепи; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 11; FR3-область тяжелой цепи; CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 12; необязательно FR4-область тяжелой цепи; линкер; необязательно FR1-область легкой цепи; CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7; FR2-область легкой цепи; CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8; FR3-область легкой цепи; CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 9; и FR4-область легкой цепи. В некоторых из данных вариантов осуществления одна или более из FR-областей является гуманизированной FR-областью. В некоторых из данных вариантов осуществления каждая из областей FR является гуманизированной FR-областью. Область линкера может составлять от около 5 аминокислот до около 50 аминокислот в длину, например от около 5 а.к. до около 10 а.к., от около 10 а.к. до около 15 а.к., от около 15 а.к. до около 20 а.к., из около 20 а.к. до около 25 а.к., от около 25 а.к. до около 30 а.к., от около 30 а.к. до около 35 а.к., от около 35 а.к. до около 40 а.к., от около 40 а.к. до около 45 а.к., или от около 45 а.к. до около 50 а.к. в длину.

Линкеры, подходящие для применения в качестве антитела, включают "гибкие линкеры". Если они присутствуют, линкерные молекулы, как правило, обладают достаточной длиной, чтобы позволить некоторое гибкое движение между связанными областями. Длина линкерных молекул обычно составляет приблизительно от 6 до 50 атомов. Линкерные молекулы могут также представлять собой, например, олигомеры арилацетилена, этиленгликоля, содержащие от 2 до 10 мономерных единиц, диамины, дикислоты, аминокислоты или их комбинации. Другие линкерные молекулы, которые могут связываться с полипептидами, могут быть использованы в свете данного описания.

Подходящие линкеры могут быть легко выбраны и могут иметь любую подходящую из различных длин, например от 1 аминокислоты (например, Gly) до 20 аминокислот, от 2 аминокислот до 15 аминокислот, от 3 аминокислот до 12 аминокислот, включая от 4 аминокислот до 10 аминокислот, от 5 аминокислот до 9 аминокислот, от 6 аминокислот до 8 аминокислот или от 7 аминокислот до 8 аминокислот, и могут составлять 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 аминокислот.

Примеры гибких линкеров включают полимеры глицина (G)_n, полимеры из глицина и серина (включая, например, (GS)_n, (SGGS)_n (SEQ ID NO: 49) и (GGGS)_n (SEQ ID NO: 50), где n представляет собой целое число, по меньшей мере один), полимеры из глицина и аланина, полимеры из аланина и серина и другие гибкие линкеры, известные в данной области техники. Глициновые и глицин-сериновые полимеры представляют интерес, так как обе эти аминокислоты не обладают выраженной структурой и, следовательно, могут служить в качестве нейтрального соединительного звена между компонентами.

Полимеры из глицина представляют особый интерес, поскольку глицин имеет доступ к значительно большему конформационному ϕ - ψ пространству, чем даже аланин, и стерически существенно менее ограничен, чем остатки с более длинными боковыми цепями (см. Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)). Примеры гибких линкеров включают, но без ограничения, GGSG (SEQ ID NO: 51), GGSGG (SEQ ID NO: 52), GSGSG (SEQ ID NO: 53), GSGGG (SEQ ID NO: 54), GGGSG (SEQ ID NO: 55), GSSSG (SEQ ID NO: 56) и т.п. Специалисту в данной области будет понятно, что конструкция пептида, конъюгированного с любым элементом, описанным выше, может включать в себя линкеры, которые являются полностью или частично гибкими, таким образом, что линкер может включать в себя гибкий линкер, а также одну или более частей, которые придают менее гибкую структуру.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, представляет собой фрагмент антитела, Fv, ScFv, Fab, F(ab')₂ или Fab'. Таким образом, настоящее изобретение относится к выделенному антителу, причем данное антитело представляет собой Fv, ScFv, Fab, F(ab')₂ или Fab', и при этом антитело конкурирует за связывание с эпитопом в N-концевой области Тау-полипептида с антителом, которое содержит: а) область легкой цепи, содержащую: i) домен CDR1 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 7; ii) домен CDR2 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 8; и iii) домен CDR3 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 9; и б) область тяжелой цепи, содержащую: (i) домен CDR1 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 10; (ii) домен CDR2 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 11; и (iii) домен CDR3 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 12. В некоторых из данных вариантов осуществления выделенное антитело включает в себя одну, две, три или четыре гуманизированные каркасные области из VL, как описано выше. В некоторых из данных вариантов осуществления выделенное антитело содержит одну, две, три, или четыре гуманизированные каркасные области из VH, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, представляет собой антитело ScFv. В некоторых вариантах осуществления антитело к тау-белку по настоящему изобретению включает в себя мультимеры ScFv. Например, в некоторых вариантах осуществления подходящее антитело представляет собой димер ScFv (например, включает в себя два tandemных ScFv (scFv2)), тример ScFv (например, включает в себя три tandemа ScFv (scFv3)), тетрамер ScFv (например, включает в себя четыре tandemа ScFv (scFv4)) или является мультимером из более чем четырех ScFv (например, в tandemе). Мономеры ScFv могут быть связаны в tandemе с помощью линкеров из от около 2 аминокислот до около 10 аминокислот (а.к.) в длину, например 2 а.к., 3 а.к., 4 а.к., 5 а.к., 6 а.к., 7 а.к., 8 а.к., 9 а.к. или 10 а.к. в длину. Подходящие линкеры включают, например, (Gly)_x, где x является целым числом от 2 до 10. Другими подходящими линкерами являются те, которые описаны выше. В некоторых вариантах осуществления каждый из мономеров ScFv в мультимере ScFv является гуманизированным, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, содержит константную область иммуноглобулина (например, Fc-область). Fc-область, если она присутствует, может быть человеческой Fc-областью. Если присутствуют константные области, антитело может содержать как легкую цепь, так и константные области тяжелой цепи. Подходящая константная область тяжелой цепи включает области CH1, шарнирную область, CH2, CH3 и CH4. Антитела, описанные в настоящем описании, включают в себя антитела, имеющие все типы константных областей, включая IgM, IgG, IgD, IgA и IgE, и любой изотип, включая IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Пример подходящей Fc-области тяжелой цепи представляет собой Fc человеческого изотипа IgG1. В некоторых случаях область тяжелой цепи представляет собой Fc изотипа IgG4. В некоторых из данных вариантов осуществления шарнирная область содержит замену S241P. См., например, Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105. Константные области легкой цепи могут быть лямбда или каппа. Подходящее антитело (например, гуманизированное антитело) может содержать последовательности из более чем одного класса или изотипа. Антитела могут быть экспрессированы в виде тетрамеров, содержащих две легкие и две тяжелые цепи, в виде отдельных тяжелых цепей, легких цепей, в виде Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv или в виде одноцепочечных антител, в которых переменные домены тяжелой и легкой цепи связаны через спейсер.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, содержит человеческую константную область легкой цепи и человеческую константную область тяжелой цепи, и при этом выделенное антитело конкурирует за связывание с эпитопом в N-концевой области полипептида тау с антителом, которое включает в себя: а) область легкой цепи, содержащую: i) домен CDR1 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 7; ii) домен CDR2 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 8; и (iii) домен CDR3 VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 9; и б) область тяжелой цепи, содержащую: (i) домен CDR1 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 10; (ii) домен CDR2 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 11; и (iii) домен CDR3 VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 12. В некоторых из данных вариантов осуществ-

ления выделенное антитело включает в себя одну, две, три или четыре гуманизированные каркасные области из VL, как было описано выше. В некоторых из данных вариантов осуществления выделенное антитело содержит одну, две, три или четыре гуманизированные каркасные области из VH, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может содержать свободную тиоловую (-SH) группу на карбоксильном конце, при этом свободная тиоловая группа может использоваться для присоединения антитела ко второму полипептиду (например, другому антителу, включая подходящее антитело), каркасу, носителю и т.д.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, включает в себя одну или несколько не встречающихся в природе аминокислот. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения не встречающаяся в природе аминокислота содержит карбонильную группу, ацетильную группу, аминооксигруппу, гидразиновую группу, гидразидную группу, семикарбазидную группу, азидную группу или алкиновую группу. См., например, патент США № 7632924, где описаны типичные не встречающиеся в природе аминокислоты. Включение не встречающейся в природе аминокислоты может обеспечивать присоединение к полимеру, второму полипептиду, каркасу и т.п. Например, можно получить подходящее антитело, соединенное с водорастворимым полимером, при взаимодействии водорастворимого полимера (например, ПЭГ), содержащего карбонильную группу, с антителом, где антитело содержит неприродную аминокислоту, содержащую аминоксигруппу, гидразиновую, гидразидную или семикарбазидную группу. В качестве другого примера можно получить подходящее антитело, соединенное с водорастворимым полимером, при взаимодействии соответствующего антитела, содержащего алкинсодержащую аминокислоту, с водорастворимым полимером (например, ПЭГ), содержащим азидную группу; в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения азидная или алкиновая группа соединяется с молекулой ПЭГ амидной связью. "Не встречающаяся в природе аминокислота" означает такую аминокислоту, которая не является одной из 20 распространенных аминокислот или пирролизина или селеноцистеина. Другими терминами, которые могут применяться как синонимы термину "не встречающаяся в природе аминокислота", являются "не природная аминокислота", "неприродная аминокислота", "аминокислота неприродного происхождения" и различные их варианты с написанием через дефис и без него. Термин "не встречающаяся в природе аминокислота" также включает, без ограничения, аминокислоты, которые получаются при модификации (например, посттрансляционной модификации) аминокислот природного происхождения (в том числе 20 распространенных аминокислот или пирролизина и селеноцистеина), но сами они не встраиваются трансляционным комплексом в растущую полипептидную цепь. Примеры таких не встречающихся в природе аминокислот включают, но не ограничиваются ими, N-ацетилглюкозаминил-L-серин, N-ацетилглюкозаминил-L-треонин и O-фосфотирозин.

В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, связано (например, ковалентно связано) с полимером (например, полимером, не являющимся полипептидом). Подходящие полимеры включают, например, биосовместимые полимеры и водорастворимые биосовместимые полимеры. Подходящие полимеры включают синтетические полимеры и природные полимеры. Подходящие полимеры включают, например, замещенные или незамещенные линейные или разветвленные полиалкиленовые, полиалкениловые или полиоксиалкиленовые полимеры или разветвленные либо неразветвленные полисахариды, например гомо- или гетерополисахарид. Подходящие полимеры включают, например, сополимер этилена и винилового спирта (широко известные под общим названием EVON или под торговой маркой EVAL); полибутилметакрилат; поли(гидроксивалерат); поли(L-молочную кислоту); поликапролактон; поли(лактид-ко-гликолид); поли(гидроксibuтират); поли(гидроксibuтират-ко-валерат); полидиоксанон; полиортоэфир; полиангидрид; поли(гликолевую кислоту); поли(D,L-молочную кислоту); поли(гликолевая кислота-ко-триметилен-карбонат); полифосфоэфир; полифосфоэфируретан; поли(аминокислоты); цианоакрилаты; поли(триметиленкарбонат); поли(иминокарбонат); сополи(простой эфир-сложные эфиры) (например, сополимеры поли(этиленоксид)-поли(молочной кислоты) (PEO/PLA)); полиалкиленоксалаты; полифосфазены; такие биомолекулы, как фибрин, фибриноген, целлюлоза, крахмал, коллаген и гиалуроновая кислота; полиуретаны; силиконы; полиэфиры; полиолефины; сополимеры полиизобутилена и этилена- α -олефинов; акриловые полимеры и сополимеры; винилгалогенидные полимеры и сополимеры, такие как поливинилхлорид; поливиниловые простые эфиры, такие как поливиниловый эфир; поливинилиденгалогениды, такие как поливинилиденфторид и поливинилиденхлорид; полиакрилонитрил; поливиниловые кетоны; поливиниловые ароматические углеводороды, такие как полистирол; поливиниловые сложные эфиры, такие как поливинилацетат; такие сополимеры виниловых мономеров друг с другом и с олефинами, как сополимеры этилена-метилметакрилата, сополимеры акрилонитрила-стирола, ацетонитрил-бутадиенстиреновые (ABS) смолы и сополимеры этилена-винилацетата; полиамиды, такие как Nylon 66 и поликапролактамы; алкидные смолы; поликарбонаты; полиоксиметилены; полиимиды; полиэфиры; эпоксидные смолы; полиуретаны; вискоза; триацетат вискозы; целлюлоза; ацетат целлюлозы; бутират целлюлозы; ацетат-бутират целлюлозы; целлофан; нитрат целлюлозы; пропионат целлюлозы; простые эфиры целлюлозы; аморфный тефлон; поли(этиленгликоль); и карбоксиметилцеллюлоза.

Подходящие синтетические полимеры включают незамещенные и замещенные линейные или разветвленные поли(этиленгликоль), поли(пропиленгликоль), поли(виниловый спирт) и их производные, например замещенный поли(этиленгликоль), такой как метоксиполи(этиленгликоль), и его производные. Подходящие природные полимеры включают, например, альбумин, амилозу, декстран, гликоген и их производные.

Средняя молекулярная масса подходящих полимеров может составлять от 500 до 50000 Да, например от 5000 до 40000 Да или от 25000 до 40000 Да. Например, в некоторых вариантах осуществления, в которых соответствующее антитело содержит полимер поли(этиленгликоль) (ПЭГ) или метоксиполи(этиленгликоль), данный ПЭГ или полимер метоксиполи(этиленгликоль) может иметь молекулярную массу с интервалом от около 0,5 до 1 кДа, от около 1 до 5 кДа, от 5 до 10 кДа, от 10 до 25 кДа, от 25 до 40 кДа или от 40 до 60 кДа. Как отмечалось выше, в некоторых вариантах осуществления подходящее антитело ковалентно связано с полимером ПЭГ. В некоторых вариантах осуществления мультимер ScFv ковалентно связан с полимером ПЭГ. См., например, Albrecht et al. (2006) *J. Immunol. Methods* 310:100. Способы и реагенты, подходящие для ПЭГилирования белка, хорошо известны в данной области, и они приводятся, например, в патенте США № 5849860. Подходящий для конъюгирования с белком ПЭГ обычно растворим в воде при комнатной температуре и имеют общую формулу $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$, где R представляет собой водород или защитную группу, такую как алкильная или алканольная группа, и где n представляет собой целое число от 1 до 1000. Если R является защитной группой, то обычно она содержит от 1 до 8 атомов углерода.

ПЭГ, конъюгированный с антителом, может быть линейным. Конъюгируемый с белком ПЭГ также может быть разветвленным. Разветвленные производные ПЭГ включают, к примеру, описанные в патенте США № 5643575 "звездчатые ПЭГ" и многоручевые ПЭГ могут быть такими, как описанные в каталоге Shearwater Polymers, Inc. catalog "Polyethylene Glycol Derivatives 1997-1998". Звездчатые ПЭГ описаны в данной области техники, включая, например, описанные в патенте США № 6046305. В некоторых вариантах осуществления антитело, подходящее для применения в способе по изобретению, может быть гликозилировано, например подходящее антитело может содержать ковалентно связанную углеводную или полисахаридную группу. Гликозилирование антител, как правило, является либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанное относится к присоединению углеводного остатка к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X обозначает любую аминокислоту, за исключением пролина, являются последовательностями распознавания для ферментативного присоединения углеводной группы к боковой цепи аспарагина. Так, наличие любой из данных трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикарбоксилу, чаще всего серину или треонину, хотя может использоваться и 5-гидроксипролин или 5-гидроксизисин.

Добавление сайтов гликозилирования к антителу удобно осуществляется путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или несколько из вышеописанных трипептидных последовательностей (для N-связанных сайтов гликозилирования). Изменение также может осуществляться путем добавления или замещения на один или несколько остатков серина или треонина в последовательности исходного антитела (для O-связанных сайтов гликозилирования). Аналогичным образом, удаление сайтов гликозилирования может осуществляться путем изменения аминокислот в нативных сайтах гликозилирования антитела. Подходящее антитело в некоторых вариантах осуществления должно содержать "рентгеноконтрастную" метку, например метку, которую можно легко визуализировать, к примеру, с помощью рентгеновских лучей. Рентгеноконтрастные материалы хорошо известны специалистам в данной области техники. Наиболее распространенными рентгеноконтрастными материалами являются соли йода, брома или бария. Также известны и другие рентгеноконтрастные материалы, которые включают, без ограничения, органические производные висмута (например, см. патент США № 5939045), рентгеноконтрастные мультиметанолы (см. патент США № 5346981), висмуторганические композиты (см., например, патент США № 5256334), рентгеноконтрастные мультимерные комплексы бария (см., например, патент США № 4866132) и т.п.

Подходящее антитело может быть ковалентно связано со второй молекулой (например, липидом, полипептидом, отличным от данного антитела, синтетическим полимером, углеводом и т.п.) при помощи, например, глутарового альдегида, гомобифункционального сшивающего агента или гетеробифункционального сшивающего агента. Глутаральдегид сшивает полипептиды через их аминогруппы.

Гомобифункциональные сшивающие агенты (например, гомобифункциональный имидозфир, гомобифункциональный N-гидроксисукцинимидовый (NHS) эфир или гомобифункциональный сшивающий агент, реагирующий с сульфгидрильными группами) содержат две или несколько идентичных реагирующих молекул и могут использоваться в одностадийной реакционной процедуре, в которой сшивающий агент добавляется в раствор, содержащий смесь подлежащих сшиванию полипептидов. Гомобифункциональный NHS-эфир и имидозфир сшивают аминокислоты полипептидов. При слегка щелочном значении pH имидозфир реагирует только с первичными аминами с образованием имидоаминов и не влияют на общий заряд сшитого полипептида. Гомобифункциональные сшивающие реагенты,

реагирующие с сульфгидрильными группами, включают бисмалеимидгексан (bismaleimidhexane (BMH)), 1,5-дифтор-2,4-динитробензол (1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzene (DFDNB)) и 1,4-ди-(3',2'-пиридилдитио)пропиоамидобутан (1,4-di-(3',2'-pyridyldithio)propinoamido butane (DPDPB)).

Гетеробифункциональные сшивающие реагенты содержат одну или несколько различных реагирующих групп (например, реагирующую с аминами группу и реагирующую с сульфгидрилами группу) и сшиваются с одним из полипептидов через реагирующую с аминами группу или реагирующую с сульфгидрилами группу, а затем реагируют с другим полипептидом через непрореагировавшую группу. Существует множество гетеробифункциональных галоацетильных сшивающих реагентов, а также пиридилди-сульфидных сшивающих реагентов. Карбодиимиды служат классическим примером гетеробифункциональных сшивающих реагентов для конъюгирования карбоксилатов с аминами, что дает амидную связь.

Подходящее антитело в некоторых вариантах осуществления должно содержать детектируемую метку. Подходящие детектируемые метки включают любую композицию, детектируемую спектроскопическим, фотохимическим, биохимическими, иммунохимическим, электрическим, оптическим или химическим способом. Подходящие детектируемые метки включают, без ограничения, магнитные шарики (например, Dynabeads™), флуоресцентные красители (например, флуоресцеин изотиоцианат, техасский красный, родамин, зеленый флуоресцентный белок, красный флуоресцентный белок, желтый флуоресцентный белок и т.п.), радиоактивные метки (например, ^3H , ^{125}I , ^{35}S , ^{14}C или ^{32}P), ферменты (например, пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, люциферазу и другие, широко используемые в ферментном иммуносорбентном анализе (ELISA)) и колориметрические метки, такие как коллоидное золото или цветные стеклянные или пластиковые (например, полистироновые, полипропиленовые, латексные и т.д.) шарики.

В некоторых вариантах осуществления подходящее антитело содержит контрастное вещество или радиоизотоп, при этом контрастное вещество или радиоактивный изотоп должно подходить для применения в визуализации, например, при проведении визуализации на людях. Неограничивающие примеры меток включают такой радиоизотоп, как ^{123}I (йод), ^{18}F (фтор), ^{99}Tc (технеций), ^{111}In (индий) и ^{67}Ga (галлий), и такой контрастный агент, как гадолиний (Gd), диспрозий и железо. Радиоактивные изотопы Gd (^{153}Gd) также доступны и подходят для процедур визуализации, проводимых на других млекопитающих. Подходящее антитело может быть помечено с использованием стандартных методик. Например, подходящее антитело может быть йодировано при помощи хлорамина Т или 1,3,4,6-тетрахлор-3а,6а-дифенилгликолурила. При фторировании фтор добавляют к антителу анти-Тав в процессе синтеза реакцией замещения ионов фтора. См. обзоры по синтезу белков с такими радиоизотопами: Muller-Gartner, H., TIB Tech., 16:122-130 (1998) и Saji, H., Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst., 16(2):209-244 (1999). Подходящее антитело также может быть помечено контрастным веществом при помощи стандартных методик. Например, подходящее антитело может быть помечено Gd путем конъюгирования с антителом низкомолекулярных хелатов Gd, таких как Gd-диэтилентриаминпентауксусная кислота (GdDTPA) или Gd тетраацетилдодекантетрауксусная кислота (GdDOTA). См. Caravan et al., Chem. Rev. 99:2293-2352 (1999) и Lauffer et al., J. Magn. Reson. Imaging, 3:11-16 (1985). Подходящее антитело может быть помечено Gd, например, путем конъюгирования с антителом хелатов полилизин-Gd. Например, см. Curtet et al., Invest. Radiol., 33(10):752-761 (1998). С другой стороны, подходящее антитело может быть помечено Gd путем инкубирования парамагнитных полимеризованных липосом, содержащих липид-хелатор Gd, с авидином и биотинилированным антителом. Например, см. Sipkins et al., Nature Med., 4:623-626 (1998).

Подходящие флуоресцентные белки, которые могут быть присоединены к подходящему антителу, включают, без ограничения, зеленый флуоресцентный белок (GFP) из *Aequoria victoria*, либо его мутант или производное, например, как описано в патентах США №№ 6066476; 6020192; 5985577; 5976796; 5968750; 5968738; 5958713; 5919445; 5874304; например, Enhanced GFP, многие такие GFP, которые являются коммерчески доступными, например, от Clontech, Inc.; красный флуоресцентный белок; желтый флуоресцентный белок; любые из целого ряда флуоресцентных и окрашенных белков из видов *Anthozoan*, как описано, например, у Matz et al. (1999) Nature Biotechnol. 17:969-973; и т.п.

В некоторых вариантах осуществления антитело должно быть связано (например, ковалентно или нековалентно связано) с партнером по слиянию, например, лигандом; эпителиальной меткой; пептидом; белком, отличающимся от антитела; и т.п. Подходящие партнеры по слиянию включают пептиды и полипептиды, которые придают повышенную стабильность *in vivo* (например, увеличение времени полувыведения из сыворотки); облегчают очистку, например, полигистидиновые последовательности (His)_n, например 6His (SEQ ID NO: 57), и т.п.; обеспечивают секрецию слитого белка из клетки; обеспечивают эпителиальную метку, например, GST, гематоглютинин (HA, например, YPYDVPDYA; SEQ ID NO: 58), FLAG (например, DYKDDDDK; SEQ ID NO: 59), с-мус (например, EQKLISEEDL; SEQ ID NO:60) и т.п.; обеспечивают детектируемый сигнал, например фермент, который генерирует детектируемый продукт (например, β -галактозидаза, люцифераза), или белок, который сам детектируется, например зеленый флуоресцентный белок, красный флуоресцентный белок, желтый флуоресцентный белок и т.д.; обеспечивают мультимеризацию, например такой мультимеризационный домен, как Fc-части иммуноглобулина; и т.п.

Слияние может также включать в себя обеспечивающий средство домен, включая пептидные по-

следовательности, которые могут взаимодействовать с партнером по связыванию, например, иммобилизованном на твердой подложке, применяющимся для идентификации или очистки. Последовательные единичные аминокислоты, такие как гистидин, при слиянии с белком могут использоваться для одностадийной очистки слитого белка путем высокоаффинного связывания со смолой на колонке, такой как никель-сефароза. Типичные домены сродства включают His5 (HHHHH) (SEQ ID NO: 61), HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO: 57), C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO: 60), Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO: 59), StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO: 62), гемагглютинин, например HA-тег (YPYDVPDYA; SEQ ID NO: 58), глутатион-S-трансферазу (GST), тиоредоксин, целлюлозосвязывающий домен, RYIRS (SEQ ID NO: 63), Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO: 64), хитин-связывающий домен, S-пептид, пептид T7, SH2-домен, C-концевой PHK-тег, WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO: 65), металл-связывающие домены, например цинк-связывающие домены или кальций-связывающие домены, такие как домены кальций-связывающих белков, например кальмодулина, тропонина С, кальциневрина В, легкой цепи миозина, рековерина, S-модулина, визинина, VILIP, нейрокальцина, гиппокальцина, фрексенина, кальтрактина, большой субъединицы кальпаина, белков S100, парвальбумина, кальбиндина D9K, кальбиндина D28K, а также кальренин, интеины, биотин, стрептавидин, MyoD, лейциновые молнии и мальтозосвязывающий белок.

Подходящее антитело в некоторых вариантах осуществления должно быть слито с полипептидом, который связывается с эндогенным рецептором гематоэнцефалического барьера (blood brain barrier (BBB)). Связывание подходящего антитела с полипептидом, связывающимся с эндогенным рецептором BBB, облегчает прохождение через BBB, например, в рассматриваемом способе лечения (см. ниже), включающем введение данного антитела индивидууму, нуждающемуся в этом. Подходящие полипептиды, которые связываются с эндогенными рецепторами BBB, включают антитела, например, моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с эндогенным рецептором BBB. Подходящие эндогенные рецепторы BBB включают, но не ограничиваются ими, инсулиновый рецептор, трансферриновый рецептор, лептиновый рецептор, липопротеиновый рецептор и рецептор инсулиноподобного фактора роста. Например, см. публикации патента США № 2009/0156498.

В качестве примера подходящее антитело к тау-белку может быть биспецифическим антителом, содержащим первый антигенсвязывающий участок, который специфически связывается с эпитопом полипептида тау-белка; и второй антигенсвязывающий участок, который связывается с эндогенным рецептором BBB. Например, в некоторых случаях подходящее антитело к тау-белку представляет собой биспецифическое антитело, содержащее первый антигенсвязывающий участок, который специфически связывается с эпитопом полипептида тау-белка; и второй антигенсвязывающий участок, который связывается с трансферриновым рецептором.

Например, подходящее антитело к тау-белку может быть слито с пептидом, который облегчает прохождение через BBB, при этом пептид имеет длину от около 15 до около 25 аминокислот и содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 85% идентичности аминокислотной последовательности с одним из следующих пептидов: Angiopep-1 (TFFYGGCRGKRNNFKTEEY; SEQ ID NO: 66); Angiopep-2 (TFFYGGSRGKRNNFKTEEY; SEQ ID NO: 67); Cys-Angiopep-2 (CTFFYGGSRGKRNNFKTEEY; SEQ ID NO: 68); Angiopep-2-Cys (TFFYGGSRGKRNNFKTEEYC; SEQ ID NO: 69); и апротининовый фрагмент (TFVYGGCRAKRNNFKS; SEQ ID NO: 70). См., например, публикации патентов США 2011/0288011 и 2009/0016959. Пептид, который облегчает прохождение через BBB, может быть слит с N-концом области легкой цепи анти-Тау, с C-концом области легкой цепи анти-Тау, с N-концом области тяжелой цепи антитела к тау-белку, с C-концом области тяжелой цепи антитела к тау-белку, с N-концом одноцепочного антитела к тау-белку, с C-концом одноцепочного антитела к тау-белку и т.д.

В некоторых вариантах осуществления подходящее антитело содержит модификацию полиаминами. Модификация подходящего антитела полиаминами повышает проницаемость модифицированного антитела для BBB. Подходящее антитело может быть модифицировано полиаминами природными или синтетическими. Например, см. патент США № 5670477. Подходящие природные полиамины включают путресцин, спермидин, спермин, 1,3-диаминпропан, норспермидин, син-гомоспермидин, термин, термоспермин, кальдопентамин, гомокальдопентамин и канавалмин. Особенно подходят путресцин, спермидин и спермин. Синтетические полиамины представлены эмпирической формулой $C_xH_yN_z$, могут быть циклическими или ациклическими, разветвленными или неразветвленными, углеводородными цепями из от 3 до 12 атомов углерода, которые дополнительно включают в себя от 1 до 6 групп NR или N(R)₂, где R представляет собой H, (C₁-C₄)-алкил, фенил или бензил. Полиамины могут быть присоединены к антителу при помощи любого стандартного способа сшивания. В некоторых вариантах осуществления подходящее антитело подвергают модификации так, чтобы оно включало углеводную часть, где углеводный фрагмент может быть ковалентно связан с антителом. В некоторых вариантах осуществления подходящее антитело модифицировано так, чтобы оно включало липидную группу, где липидная группа может быть ковалентно связана с антителом. Подходящие липидные группы включают, например, N-жирные ацильные группы, такие как N-лауроил, N-олеоил и др.; жирный амин, такой как додециламин, олеоил

амин и т.д.; C₃-C₁₆ с длинной цепью, алифатической липид и т.п. Например, см. патент США. № 6638513. В некоторых вариантах осуществления подходящее антитело заключено в липосомы.

Комбинированная терапия.

Антитело к тау-белку может вводиться нуждающемуся в этом индивидууму само по себе (например, в виде монотерапии); или в виде комбинированной терапии с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами. Например, антитело к тау-белку можно вводить в виде комбинированной терапии с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами для лечения инсульта или для лечения ТВИ.

"В комбинации с", как используется в настоящем описании, относится к применениям, когда, например, первое соединение вводится на протяжении всего курса введения второго соединения; когда первое соединение вводят в течение периода времени, который перекрывается с введением второго соединения, например, когда введение первого соединения начинается перед введением второго соединения и введение первого соединения заканчивается до окончания введения второго соединения; когда введение второго соединения начинается до введения первого соединения и введение второго соединения заканчивается до окончания введения первого соединения; когда введение первого соединения начинается до введения второго соединения и введение второго соединения заканчивается до окончания введения первого соединения; когда введение второго соединения начинается до введения первого соединения и введение первого соединения заканчивается до окончания введения второго соединения. Таким образом, "в комбинации" может также относиться к лечебной схеме, включающей введение двух или более соединений. Выражение "в комбинации с", используемое в данном описании, также относится к введению двух или более соединений, которые могут вводиться в одних и тех же или различных композициях, одними и теми же или различными способами и в одной и той же лекарственной форме или лекарственной форме другого типа.

Лица, подлежащие лечению.

Лица, подходящие для лечения с использованием антитела к тау-белку, включают лиц, которым был поставлен диагноз таупатия (например, острая таупатия); лиц, подвергающихся большому риску развития таупатии, чем население в целом (например, физические лица, имеющие генетическую предрасположенность к развитию таупатии); военнослужащих и т.п. В некоторых случаях физическое лицо является человеком в возрасте от менее чем 10 лет до 10 лет; от 10 лет до около 15 лет; от около 15 лет до около 20 лет или от около 20 лет до около 30 лет. В некоторых случаях физическое лицо является взрослым человеком. В некоторых случаях физическое лицо является взрослым человеком в возрасте от около 20 лет до около 30 лет; в возрасте 30 лет и старше; в возрасте 40 лет и старше, в возрасте 50 лет и старше, в возрасте 60 лет и старше, 70 лет и старше или 80 лет и старше. Например, взрослый человек может быть в возрасте от 40 лет до 50 лет, от 50 лет до 60 лет, от 60 лет до 70 лет или старше 70 лет. В некоторых случаях физическое лицо является персоной, которая имеет ТВИ. В некоторых случаях физическое лицо является тем, кто перенес инсульт.

Лекарственные формы.

В способах по изобретению антитело к тау-белку может вводиться в организм любым стандартным способом, способным принести требуемый терапевтический эффект или диагностический эффект. Так, данный агент может входить в целый ряд лекарственных форм для лечебного применения. В частности, антитело к тау-белку может быть заключено в фармацевтические композиции вместе с подходящими, фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями и может быть приготовлено в виде препаратов в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной форме, таких как таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, инъекции, ингаляторы и аэрозоли.

В фармацевтических дозированных формах антитело к тау-белку может вводиться в виде фармацевтически приемлемых солей, или они могут применяться сами по себе или в подходящей ассоциации, а также в комбинации с другими фармацевтически активными соединениями. Следующие способы и наполнители приводятся только для примера и никоим образом не для ограничения.

Для пероральных препаратов антитело к тау-белку может применяться само по себе или в комбинации с соответствующими добавками для составления таблеток, порошков, гранул или капсул, к примеру, с обычными добавками, такими как лактоза, маннитол, кукурузный крахмал или картофельный крахмал; со связующими веществами, такими как кристаллическая целлюлоза, производные целлюлозы, гуммиарабик, кукурузный крахмал или желатины; с дезинтегрирующими веществами, такими как кукурузный крахмал, картофельный крахмал или натриевая карбоксиметилцеллюлоза; со смазывающими веществами, такими как тальк или стеарат магния; а если нужно, то с разбавителями, буферными веществами, консервантами и ароматизаторами.

Антитело к тау-белку может быть заключено в препараты для инъекций путем растворения, суспендирования или эмульгирования его в водном или неводном растворителе, таком как растительное или другие подобные масла, синтетические кислые алифатические глицериды, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоль; а если нужно, то с обычными добавками, такими как солюбилизаторы, изотонические вещества, суспендирующие вещества, эмульгаторы, стабилизаторы и консерванты.

Фармацевтические композиции, содержащие антитело к тау-белку, получают смешиванием антитела, имеющего требуемую степень чистоты, с необязательно физиологически приемлемыми носителями, эксципиентами, стабилизаторами, детергентами, буферами и/или изотоническими веществами. Приемлемые носители, наполнители и/или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозах и концентрациях и включают буферы, такие как фосфатный, цитратный и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту, глутатион, цистеин, метионин и лимонную кислоту; консерванты (такие как этанол, бензиловый спирт, фенол, м-крезол, п-хлор-м-крезол, метил- или пропилпарабены, хлорид бензалкония или их комбинации); аминокислоты, такие как аргинин, глицин, орнитин, лизин, гистидин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, изолейцин, лейцин, аланин, фенилаланин, тирозин, триптофан, метионин, серин, пролин и их комбинации; моносахариды, дисахариды и другие углеводы; низкомолекулярные (менее чем около 10 остатков) полипептиды; белки, такие как желатин или сывороточный альбумин; хелатирующие агенты, такие как EDTA; сахара, такие как трегалоза, сахароза, лактоза, глюкоза, манноза, мальтоза, галактоза, фруктоза, сорбоза, рафиноза, глюкозамин, N-метилглюкозамин, галактозамин и нейраминаовая кислоты; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как Tween, Brij Pluronic, Тритон-Х или полиэтиленгликоль (PEG; ПЭГ).

Фармацевтическая композиция может находиться в жидком виде, лиофилизованном виде или жидком виде, восстановленном из лиофилизованной формы, при этом лиофилизированный препарат должен быть восстановлен стерильным раствором перед введением. Стандартная методика восстановления лиофилизованной композиции состоит в добавлении туда объема чистой воды (обычно эквивалентного объему, удаленному при лиофилизации); однако при получении фармацевтических композиций для парентерального введения можно использовать растворы, содержащие антибактериальные средства; см. также Chen (1992) Drug Dev Ind Pharm 18, 1311-54. Типичные концентрации антител в фармацевтической композиции могут составлять около 1 до около 200 мг/мл, или от около 50 до около 200 мг/мл, или от около 150 до около 200 мг/мл.

Водный препарат антитела можно готовить в забуференном растворе, например, при pH с интервалом от около 4,0 до около 7,0, или от около 5,0 до около 6,0, или, альтернативно, около 5,5. Примеры буферов, подходящих для pH в данном диапазоне, включают фосфатный, гистидиновый, цитратный, сукцинатный, ацетатный буфер и буфера из других органических кислот. Концентрация буфера может составлять от 1 до 100 мМ или от 5 до 50 мМ, в зависимости, например, от буфера и требуемой тоничности состава.

В лекарственную форму антитела может входить вещество для модулирования тоничности состава. Типичными веществами для поддержания тоничности являются хлорид натрия, хлорид калия, глицерин и любой другой компонент из группы аминокислот, сахаров, а также их комбинации. В некоторых вариантах осуществления водные формы являются изотоническими, хотя могут подойти и гипертонические или гипотонические растворы. Термином "изотонический" обозначаются растворы с такой же тоничностью, как и другой раствор, с которым он сравнивается, такой как физиологический солевой раствор или сыворотка. Вещества для поддержания тоничности могут применяться в количестве от 5 до 350 мМ, например, в количестве от 100 до 350 мМ.

В состав лекарственной формы антитела также может быть добавлено поверхностно-активное вещество для уменьшения агрегации заключенного в нем антитела и/или чтобы свести к минимуму образование частиц в композиции и/или уменьшить адсорбцию. Типичными поверхностно-активными веществами являются полиоксиэтиленсорбитановые эфиры жирных кислот (Tween), алкиловые эфиры полиоксиэтилена (Brij), алкилфениловые эфиры полиоксиэтилена (Triton-X), сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена (Poloxamer, Pluronic) и додецил сульфат натрия (SDS). Примерами подходящих полиоксиэтиленсорбитановых эфиров жирных кислот являются полисорбат 20 (продается под торговой маркой Tween 20™) и полисорбат 80 (продается под торговой маркой Tween 80™). Примерами подходящих сополимеров полиоксиэтилена и полиоксипропилена являются те, которые продаются под наименованием Pluronic F68 или Poloxamer 188™. Примерами подходящих алкиловых эфиров полиоксиэтилена являются те, которые продаются под торговой маркой Brij™. Типичные концентрации поверхностно-активного вещества составляют от 0,001 до 1% мас./об.

Для защиты лабильного активного ингредиента (например, белка) от дестабилизирующих условий в процессе лиофилизации также можно добавлять лиопротекторы. Например, известные лиопротекторы включают сахара (в том числе глюкозу и сахарозу); полиолы (в том числе маннитол, сорбитол и глицерин); и аминокислоты (в том числе аланин, глицин и глутаминовую кислоту). Лиопротекторы можно включать в количестве от 10 до 500 мМ.

В некоторых вариантах осуществления подходящая лекарственная форма включает антитело к тау-белку, а также одно или несколько из вышеприведенных веществ (например, поверхностно-активное вещество, буфер, стабилизатор, изотонический агент) одного или нескольких консервантов, таких как этанол, бензиловый спирт, фенол, м-крезол, п-хлор-м-крезол, метил- или пропилпарабен, бензалконий хлорид и их комбинации. В других вариантах осуществления консервант входит в состав, например, в концентрации от 0,001 до 2% (мас./об.).

Например, подходящая лекарственная форма может представлять собой жидкую или лиофилизированную форму, пригодную для парентерального введения, и может содержать: от 1 до 200 мг/мл антитела к тау-белку; от 0,001 до 1% по меньшей мере одного поверхностно-активного вещества; от 1 до 100 мМ буфера; необязательно от 10 до 500 мМ стабилизатора и от 5 до 305 мМ поддерживающего тоничность вещества; и имеет pH от 4,0 до 7,0.

В качестве другого примера подходящая парентеральная лекарственная форма представляет собой жидкую или лиофилизированную форму, содержащую от 1 до 200 мг/мл антитела к тау-белку; 0,04% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ сахарозы; и имеет pH 5,5.

В качестве другого примера подходящая лекарственная форма представляет собой лиофилизированную форму, содержащую: 1) 15 мг/мл антитела к тау-белку; 0,04% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ сахарозы; и имеет pH 5,5; или 2) 75 мг/мл антитела к тау-белку; 0,04% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ сахарозы; и имеет pH 5,5; или 3) 75 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ сахарозы; и имеет pH 5,5; или 4) 75 мг/мл антитела к тау-белку; 0,04% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ трегалозы; и имеет pH 5,5; или 5) 75 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ трегалозы; и имеет pH 5,5.

В качестве другого примера подходящая лекарственная форма представляет собой жидкую форму, содержащую: 1) 7,5 мг/мл антитела к тау-белку; 0,022% мас./об. Tween 20; 120 мМ L-гистидина и 125 мМ сахарозы; и имеет pH 5,5; или 2) 37,5 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; мМ L-гистидина и 125 мМ сахарозы; и имеет pH 5,5; или 3) 37,5 мг/мл антитела к тау-белку; 0,01% мас./об. Tween 20; 10 мМ L-гистидина и 125 мМ сахарозы; и имеет pH 5,5; или 4) 37,5 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 10 мМ L-гистидина; 125 мМ трегалозы; и имеет pH 5,5; или 5) 37,5 мг/мл антитела к тау-белку; 0,01% мас./об. Tween 20; 10 мМ L-гистидина и 125 мМ трегалозы; и имеет pH 5,5; или 6) 5 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ трегалозы; и имеет pH 5,5; или 7) 75 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ маннитола; и имеет pH 5,5; или 8) 75 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 140 мМ хлорида натрия; и имеет pH 5,5; или 9) 150 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ трегалозы; и имеет pH 5,5; или 10) 150 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 250 мМ маннитола; и имеет pH 5,5; или 11) 150 мг/мл антитела к тау-белку; 0,02% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 140 мМ хлорида натрия; и имеет pH 5,5; или 12) 10 мг/мл антитела к тау-белку; 0,01% мас./об. Tween 20; 20 мМ L-гистидина и 40 мМ хлорида натрия; и имеет pH 5,5.

Антитело к тау-белку может применяться в составе аэрозоля для введения путем ингаляции. Антитело к тау-белку может входить в состав находящихся под давлением приемлемых вытеснителей, таких как дихлордиформетан, пропан, азот и др. Более того, антитело к тау-белку может входить в состав суппозиторий при смешивании с различными основами типа эмульгирующих основ или водорастворимых основ. Данное антитело может вводиться интаректально через суппозитории. Суппозитории могут включать носители, такие как масло какао, карбовакс и полиэтиленгликоли, которые плавятся при температуре тела, но затвердевают при комнатной температуре.

Могут предусматриваться единичные стандартные лекарственные формы для перорального или ректального введения, такие как сиропы, эликсиры и суспензии, при этом каждая единица дозирования, например чайная ложка, столовая ложка, таблетка или свеча, содержит заданное количество композиции, содержащей один или более ингибиторов. Аналогичным образом, единичные стандартные лекарственные формы для инъекций или внутривенного введения могут содержать антитело к тау-белку в композиции в виде раствора в стерильной воде, нормальном физиологическом растворе или другом фармацевтически приемлемом носителе.

Термин "единичная стандартная лекарственная форма" в настоящем изобретении относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для человека или животных, причем каждая единица содержит заранее определенное количество антитела к тау-белку по настоящему изобретению, рассчитанное в количестве, достаточном для получения требуемого эффекта, вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем.

Спецификации для антитела к тау-белку могут зависеть от конкретного используемого антитела и того эффекта, который нужно получить, а также фармакодинамики по каждому антителу в хозяине.

Другие способы введения также найдут применение в способе по настоящему изобретению. Например, подходящее антитело может быть заключено в суппозитории, а в некоторых случаях в аэрозоли и интраназальные композиции. В случае суппозиторий в состав носителя должны входить традиционные связывающие вещества и такие носители, как полиалкиленгликоли или триглицериды. Такие суппозитории могут быть получены из смесей, содержащих активный ингредиент с интервалом от 0,5 до 10% (мас./мас.), например от 1 до 2%.

Интраназальные лекарственные формы обычно включают носители, которые не вызывают раздражения слизистой оболочки носа и не нарушают существенно цилиарную функцию. Можно использовать такие разбавители, как вода, водный солевой раствор или другие известные субстанции. Интраназальные формы также могут содержать консерванты, включая, но не ограничиваясь ими, хлорбутанол и бензал-

коний хлорид. Может присутствовать и поверхностно-активное вещество для усиления всасывания антигена слизистой оболочкой.

Антитело к тау-белку может вводиться в виде формы для инъекций. Обычно композиции для инъекций готовятся в виде жидких растворов или суспензий; также можно приготовить твердые формы, пригодные для растворения или суспендирования в жидком носителе перед инъекцией. Препарат также может быть эмульгирован или антитело инкапсулировано в липосомных носителях.

Подходящими носителями являются, к примеру, вода, физиологический раствор, декстроза, глицерин, этанол и др. и их комбинации. Кроме того, если желательно, носитель может содержать небольшое количество вспомогательных веществ, таких как увлажняющих или эмульгирующих веществ или pH-буферных веществ. Фактические способы получения таких дозированных форм известны или должны быть известны специалистам в данной области. Например, см. Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 17th edition, 1985. Вводимая композиция или лекарственная форма, в любом случае, должна содержать количество антигена к тау-белку, адекватное для достижения требуемого состояния у подлежащего лечению субъекта.

Фармацевтически приемлемые эксципиенты, такие как переносчики, адъюванты, носители или разбавители, являются общедоступными. Более того, общедоступными являются и такие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, как средства доведения pH и буферные вещества, средства доведения тоничности, стабилизаторы, смачивающие вещества и др.

В некоторых вариантах осуществления антитело к тау-белку входит в состав формы с контролируемым высвобождением. Препараты с замедленным высвобождением могут быть получены хорошо известными способами. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащих антитело, при этом матрицы имеют вид формованных изделий, например пленок или микрокапсул. Примеры матриц с замедленным высвобождением включают полиэферы, сополимеры L-глутаминовой кислоты и этил-L-глутамата, не разлагающийся этилен-винил ацетат, гидрогели, полилактиды, разлагающиеся сополимеры молочной и гликолевой кислоты и поли-D-(-)-3-оксимасляная кислота. Возможную потерю биологической активности и возможные изменения в иммуногенности антител, содержащихся в препаратах с замедленным высвобождением, можно предотвратить с помощью соответствующих добавок, контролируя содержание влаги и путем разработки специфических композиций полимерных матриц.

Контролируемое высвобождение в пределах объема настоящего изобретения может означать любую из целого ряда дозовых форм с замедленным высвобождением. Следующие термины можно рассматривать как практически эквивалентные контролируемому высвобождению в целях настоящего изобретения: продолжительное высвобождение, контролируемое высвобождение, замедленное высвобождение, депо, постепенное высвобождение, продолжительное высвобождение, запрограммированное высвобождение, длительное высвобождение, пропорциональное высвобождение, продленное высвобождение, депонированное, замедленное, медленное высвобождение, распределенное высвобождение, затяжное высвобождение, фиксированное по времени, замедленное выделение, длительное выделение, последовательное выделение, лекарства длительного действия, продолжительного действия, неоднократного действия, медленного действия, затяжного действия и растянутого высвобождения. Дополнительное обсуждение этих терминов приведено в Lesczek Krowczynski, Extended-Release Dosage Forms, 1987 (CRC Press, Inc.).

Различные технологии контролируемого высвобождения охватывают очень широкий круг дозированных лекарственных форм. Технологии контролируемого высвобождения включают, без ограничения, физические системы и химические системы.

Физические системы включают, без ограничения, резервуарные системы с контролирующими скоростью мембранами, такие как микроинкапсулирование, макроинкапсулирование и мембранные системы; резервуарные системы без контролирующих скорость мембран, такие как полые волокна, ультрамикропористая триацетатцеллюлоза и пористые полимерные субстраты и пены; монолитные системы, включая системы, физически растворенные в непористых, полимерных или эластомерных матрицах (например, незэродируемых, эродируемых, пропускающих окружающие вещества и разлагаемых), и материалы, физически диспергированные в непористых, полимерных или эластомерных матрицах (например, незэродируемых, эродируемых, пропускающих окружающие вещества и разлагаемых); ламинированные структуры, включая резервуарные слои, химически сходные или несходные с внешними контрольными слоями; и другие физические методы, такие как осмотические насосы или адсорбция на ионообменные смолы.

Химические системы включают, без ограничения, химическую эрозию полимерных матриц (например, гетерогенную или гомогенную эрозию) или биологическую эрозию полимерных матриц (например, гетерогенную или гомогенную). Дополнительное обсуждение различных систем для контролируемого высвобождения приведено в Agis F. Kydonieus, Controlled Release Technologies: Methods, Theory and Applications, 1980 (CRC Press, Inc.).

Существует ряд лекарственных форм с контролируемым высвобождением, разработанных для перорального введения. Они включают, без ограничения, контролируемые осмотическим давлением системы желудочно-кишечной доставки; контролируемые гидродинамическим давлением системы желудоч-

но-кишечной доставки; контролируемые проницаемостью мембранные системы доставки в желудочно-кишечной доставки, которые включают контролируемые проницаемостью микропористые мембранные устройства желудочно-кишечной доставки; устойчивые к желудочному соку, нацеленные на кишечник устройства желудочно-кишечной доставки с контролируемым высвобождением; контролируемые диффузией в геле системы желудочно-кишечной доставки и контролируемые ионным обменом системы желудочно-кишечной доставки, которые включают катионные и анионные препараты. Дополнительную информацию по системам доставки лекарств с контролируемым высвобождением можно найти в Yie W. Chien, *Novel Drug Delivery Systems*, 1992 (Marcel Dekker, Inc.).

Протоколы лечения.

В одном аспекте обеспечиваются способы лечения таупатии (например, острой таупатии) у индивидуума, причем данные способы включают введение индивидууму антитела к тау-белку.

Соответственно, в одном варианте осуществления доза антитела к тау-белку рассчитывается на мг/кг массы тела. Однако в другом варианте осуществления доза антитела к тау-белку является постоянной фиксированной дозой, которая фиксируется независимо от массы пациента. В некоторых вариантах осуществления режимы дозирования регулируют так, чтобы обеспечить оптимальный желаемый ответ (например, эффективный ответ).

В другом варианте осуществления доза антитела к тау-белку изменяется с течением времени. Например, антитело к тау-белку может первоначально вводиться в высокой дозе, и его доза может быть понижена со временем. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку первоначально вводят в низких дозах и увеличивают дозу со временем.

В другом варианте осуществления количество вводимого антитела к тау-белку постоянно для каждой дозы. В другом варианте осуществления количество вводимого антитела изменяется с каждой дозой. Например, поддерживающая (или последующая) доза антитела может быть выше или такой же, как нагрузочная доза, которую вводят вначале. В другом варианте осуществления поддерживающая доза антитела может быть ниже или такой же, как нагрузочная доза.

В одном из вариантов осуществления антитело к тау-белку вводят в дозе 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 мг/кг. В одном из вариантов осуществления антитело к тау-белку вводят в дозе 10 мг/кг. В одном из вариантов осуществления антитело к тау-белку вводят в дозе 4 мг/кг. В другом варианте осуществления антитело к тау-белку вводят один раз. В другом варианте осуществления вводят более одной дозы антитела к тау-белку.

В других вариантах осуществления антитело к тау-белку вводят один раз в неделю, один раз в два или три недели, один раз в месяц до тех пор, пока наблюдается клинический эффект, или, например, до тех пор, пока не появится полный ответ или неуправляемая токсичность.

В другом варианте осуществления антитело к тау-белку вводится в качестве первой линии терапии (например, начальная или первая терапия). В другом варианте осуществления антитело к тау-белку вводится в качестве второй линии терапии (например, после начальной или первой терапии, включая случай после рецидива и/или когда первая терапия была неудачной).

Следующие примеры являются только иллюстративными и не должны быть истолкованы как ограничивающие объем настоящего раскрытия в любом случае, поскольку много вариантов и их эквиваленты будут очевидны для специалистов в данной области техники после прочтения настоящего описания.

Содержание всех ссылок, записей в Genbank, патентов и опубликованных патентных заявок, цитируемых в данной заявке, включено сюда посредством ссылки.

Примеры

Следующие примеры приводятся для того, чтобы предоставить рядовым специалистам полное изложение и описание того, как осуществить и использовать данное изобретение, и не должны ограничивать рамки того, что авторы изобретения считают своим изобретением, и не должны означать, что приведенные ниже эксперименты - это все или единственные проведенные эксперименты. Предпринимались все усилия для обеспечения точности в отношении используемых чисел (например, количества, температуры и т.п.), но следует учитывать и некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иначе, все доли выражены по массе, молекулярные массы представляют усредненные молекулярные массы, температура выражена в градусах Цельсия, а давление равно или близко атмосферному. Могут применяться стандартные сокращения, например, п.о. - пара оснований; т.п.о. - тысяча пар оснований; пл - пиколитр; с - секунды; мин - минуты; ч - часы; а.к. - аминокислота; нт - нуклеотид; в/м - внутримышечно; в/б - внутрибрюшинно; п/к - подкожно и др.

Пример 1. Влияние IPN002 на уровни Tau и на уровни A β .

Самцам яванского макака (*Macaca fascicularis*) делали однократную медленную болюсную инъекцию IPN002 с уровнем дозы 20 мг/кг и собирали образцы плазмы крови и цереброспинальной жидкости (CSF) в различные моменты времени после инъекции. Все образцы (CSF и плазма крови) измерялись на наличие IPN002 с использованием способа ELISA для анализа Tau методом захвата. Данный анализ способен обнаружить только тот IPN002, который не связан тау-белком. Кроме того, уровни Tau и A β измерялись в CSF с использованием коммерчески доступных анализов ELISA. Иммуобилизованное антитело,

использованное в тесте на Tau (Invitrogen), конкурирует с IPN002, и поэтому данный анализ дает информацию только об уровне свободного тау-белка (т.е. только Tau, который не связан с IPN002). Как показано на фиг. 1, максимальная концентрация IPN002 в плазме была достигнута вскоре после инъекции (приблизительно 666 мкг/мл через 5 мин после инъекции) и оставалась относительно постоянной в течение 8 ч, после чего антитело было выведено из плазмы с ожидаемой кинетикой. Удивительно, но IPN002 был обнаружен в CSF в самой ранней исследуемой временной точке (1 ч, фиг. 1), но на гораздо более низких уровнях, чем наблюдаемые уровни в плазме. Уровни IPN002 в CSF отслеживали изменения уровней в плазме в течение первых 24 ч после инъекции, но затем оставались относительно постоянными в течение 168 ч.

Фиг. 1. Измерение IPN002 в CSF и плазме яванских макаков после однократной инъекции IPN002 с уровнем дозы 20 мг/кг. IPN002 измеряли с использованием специфического анализа ELISA. Значения представляют собой среднее значение для всех образцов, собранных в определенные моменты времени (среднее значение $\pm$ стандартное отклонение).

В согласии с наблюдением быстрого обнаружения IPN002 в цереброспинальной жидкости, уровни тау-белка также значительно уменьшались в течение 1 ч с момента инъекции IPN002 (фиг. 2). В самом деле, свободный тау-белок не обнаруживался в CSF через 8 ч после инъекции, и данный эффект сохранялся в течение 168 ч в соответствии с фармакокинетикой IPN002 в CSF.

Фиг. 2. Измерение IPN002 и Тау в CSF яванских макаков после однократной инъекции IPN002 с уровнем дозы 20 мг/кг. IPN002 измеряли с использованием специфического анализа ELISA. Значения представляют собой среднее значение для всех образцов, собранных в определенные моменты времени (среднее значение $\pm$ стандартное отклонение). Тау-белок измеряли с использованием коммерчески доступного анализа ELISA (Invitrogen), и значения представляют собой среднее значение для всех образцов, собранных в определенные моменты времени (среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего). Следует отметить, что образцы CSF, собранные за 7 дней до инъекции IPN002 (день -7), приведены на графике для контроля.

В противоположность этому уровни А β -белка в CSF существенно не изменились при испытанных условиях (фиг. 3).

Фиг. 3. Измерение А β -белка и тау-белка в CSF яванских макаков после однократной инъекции IPN002 с уровнем дозы 20 мг/кг. Тау-белок и А β -белок измеряли с использованием коммерчески доступных анализов ELISA, и значения представляют собой среднее значение для всех образцов, собранных в определенные моменты времени (среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего). Следует отметить, что образцы CSF, собранные за 7 дней до инъекции IPN002 (день -7), приведены на графике для контроля.

Пример 2. Влияние hu-IPN002 на уровни тау-белка и на уровни А β .

Самцы яванского макака (*Macaca fascicularis*) получали гуманизированный вариант IPN002 ("hu-IPN002"), в однократной медленной болюсной инъекции в дозе 5 или 20 мг/кг.

Анализ концентраций hu-IPN002 в сыворотке крови и CSF.

Анализировали уровень hu-IPN002 в сыворотке крови и в CSF. Результаты представлены на фиг. 4А и 4В, 5А и 5В.

Как показано на фиг. 4А, введение 5 мг/кг hu-IPN002 привело к уровням hu-IPN002 в сыворотке крови, составлявшим около 25 мкг/мл, в течение около 0,1 ч. Как показано на фиг. 4В, введение 20 мг/кг hu-IPN002 привело к уровням hu-IPN002 в сыворотке крови, составлявшим около 120 мкг/мл, в течение около 0,1 ч.

Как показано на фиг. 5А, введение 5 мг/кг hu-IPN002 привело к уровням hu-IPN002 в CSF, составлявшим около 25 нг/мл, в момент времени 10 ч. Как показано на фиг. 5В, введение 20 мг/кг hu-IPN002 привело к уровням hu-IPN002 в CSF, составлявшим около 200 нг/мл, в момент времени 10 ч. Фармакокинетические данные суммированы на фиг. 6.

Анализ уровней свободного тау-белка в цереброспинальной жидкости.

Тестировали влияние hu-IPN002 на уровни свободного тау-белка в CSF. Самцов яванского макака обрабатывали, как описано выше, и измеряли величину уровней свободного тау-белка в цереброспинальной жидкости. Результаты представлены на фиг. 7. Как показано на фиг. 7, однократная инъекция в дозе 5 или 20 мг/кг hu-IPN002 понижала уровни свободного тау-белка в CSF. Уровни Тау оставались низкими в течение более 160 ч с начала введения hu-IPN002 антитела.

Анализ уровней А β в CSF.

Оценивали влияние hu-IPN002 на уровни А β в CSF не относящихся к человеку приматов. Самцам яванского макака (*Macaca fascicularis*) делали однократную медленную болюсную инъекцию hu-IPN002 с дозой 5 или 20 мг/кг. Образцы цереброспинальной жидкости (CSF) собирали в различные моменты времени после инъекции. Образцы CSF измеряли на наличие А β 40 с использованием коммерчески доступного анализа ELISA. Результаты приведены на фиг. 8. Величины представляют собой среднее значение для всех образцов, собранных в определенные моменты времени (среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего).

Как показано на фиг. 8, однократная инъекция дозы 20 мг/кг hu-IPN002 понижала уровень А β 40 в CSF через около 150 ч. Уровень А β 40 в CSF продолжал падать вплоть до около 350 ч.

Пример 3. Фрагменты тау-белка присутствуют в цереброспинальной жидкости, полученной от лиц с вероятной хронической травматической энцефалопатией (chronic traumatic encephalopathy (CTE)).

Образцы CSF были получены от бывших судей на линии Национальной футбольной лиги, которые проявляли поведенческие/когнитивные нарушения, и которые, как считалось, вероятно, имеют CTE. Образцы CSF анализировали на наличие фрагментов eTau. Фрагменты eTau выделяли способом аффинной хроматографии из объединенной CSF здоровых людей и лиц с вероятной CTE. Выделенные фрагменты eTau разделяли с использованием электрофореза в полиакриламидном геле; и выделенные фрагменты переносили на мембрану. Мембрану зондировали с IPN001. Результаты, представленные на фиг. 10, показывают, что фрагменты тау-белка присутствуют в CSF, полученной от лиц с вероятной CTE.

Пример 4. Влияние hu-IPN002 на уровни тау-белка и на уровни A β (расширенное исследование однократной внутривенной дозы 5 или 20 мг/кг).

Самцам яванского макака делали однократную медленную болюсную инъекцию IPN002 с уровнем дозы 5 или 20 мг/кг. Кровь получали от всех животных перед введением дозы и через 0,083, 0,25, 0,5, 1, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 312 (14-й день), 480 (21-й день), 648 (28-й день), 816 (35-й день), 984 (42-й день), 1152 (49-й день) и 1320 (56-й день) ч после однократной дозы в 1-й день для анализа сывороточного hu-IPN002. CSF получали от всех животных перед введением дозы и из когорт животных через 8, 24, 48, 96, 120 и 168, 312 (14-й день), 480 (21-й день), 648 (28-й день), 816 (35-й день), 984 (42-й день), 1152 (49-й день) и 1320 (56-й день) ч для анализа IPN002 в CSF. Уровень hu-IPN002 в сыворотке крови и в CSF анализировали с помощью твердофазного иммуоферментного анализа (ELISA).

Анализ концентраций hu-IPN002 в сыворотке крови и CSF.

Фармакокинетические сводные данные для сывороточного hu-IPN002 приведены ниже в табл. 4, а зависимость концентрации hu-IPN002 в сыворотке крови от времени представлена на фиг. 22.

Таблица 4

Средние фармакокинетические параметры для hu-IPN002 в сыворотке крови

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг)	
	5	20
Самцы		
AUC(0-T): мкг·ч/мл	4,340 ^a	21,000 ^b
AUC(INF): мкг·ч/мл	4,410	21,100
C _{max} : мкг/мл	27.7	130
T _{max} : ч	2.2	0.36
CLT: мл/ч/кг	1,15	0.964
T-HALF: ч	170	150
V _{ss} : л/кг	0.293	0.271

Для T-HALF, значение представляет собой гармоническое среднее

^a среднее значение AUC (0-T) рассчитывали путем усреднения значений AUC (0-816 ч), AUC (0-984 ч) и AUC (0-1152 ч);

^b среднее значение AUC (0-T) рассчитывали путем усреднения значений AUC (0-984 ч), AUC (0-1152 ч) и AUC (0-0-1320 ч).

После однократного внутривенного введения дозы средние системные экспозиции (AUC [0-T] и AUC [INF]) hu-IPN002 увеличивались приблизительно пропорционально дозе с интервалом от 5 до 20 мг/кг. Средние CL-значения составляли 1,15 и 0,964 мл/ч, и средние значения V_{ss} составляли 0,293 и 0,271 л/кг для доз 5 и 20 мг/кг соответственно. Средние значения T-HALF составляли 170 и 150 ч для 5 и 20 мг/кг соответственно.

Фармакокинетические сводные данные для hu-IPN002 в CSF приведены ниже в табл. 5, а зависимость концентрации hu-IPN002 в CSF от времени показана на фиг. 23.

Таблица 5

Средние фармакокинетические параметры для hu-IPN002 в CSF

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг)	
	5	20
Самцы		

AUC(0-T): мкг·ч/мл	5.55 ^a	79.8 ^b
AUC(INF): мкг·ч/мл	N/A	80.8
Cmax: мкг/мл	0.0277	0.217
Tmax: ч	23	23
T-HALF: ч	210	190
Соотношение AUC(0-T) CSF/Сыворотка	0.0013	0.0038
Соотношение AUC(INF) CSF/Сыворотка	N/A	0.0039

Для T-HALF, значение представляет собой гармоническое среднее

N/A = не применимо из-за недостатка данных;

^a среднее системное воздействие было усреднено из индивидуальных AUC (0-312 ч);

^b среднее системное воздействие было усреднено из индивидуальных AUC (0-1320 ч).

После однократного внутривенного введения дозы hu-IPN002 был обнаружен в CSF не относящихся к человеку приматов в самой ранней временной точке (через 8 ч с начала введения дозы), и средние максимальные концентрации hu-IPN002 в CSF достигались за 23 ч с начала введения дозы. Значения T-HALF для CSF были сходными (превышали от 1,2 до 1,3 раз) с соответствующими значениями в сыворотке крови. Средняя экспозиция (AUC [0-T]) hu-IPN002 в CSF увеличивалась быстрее, чем доза для интервала доз от 5 до 20 мг/кг. Средние соотношения AUC (0-T) CSF/сыворотка составляли 0,0013 и 0,0038 для доз 5 и 20 мг/кг соответственно. В то время как значение AUC (INF) для CSF не было отражено в отчетности для дозы 5 мг/кг из-за недостатка данных, значение AUC (INF) для CSF в случае 20 мг/кг составляло 0.0039х от соответствующего значения AUC (INF) в сыворотке крови. Анализ уровней свободного тау-белка в цереброспинальной жидкости Также тестировали влияние hu-IPN002 на уровни свободного тау-белка в CSF. Самцов яванского макака обрабатывали, как описано выше, и уровень уровней свободного тау-белка в CSF измеряли с использованием коммерческого набора для ELISA. Результаты представлены на фиг. 11, на которой изображены уровни свободного eTau в CSF (в процентах от исходного уровня) в зависимости от времени.

Как показано на фиг. 24, после однократной внутривенной дозы hu-IPN002 уровни свободного eTau в CSF уменьшались в зависимости от дозы в самой ранней временной точке (через 8 ч с начала введения дозы), с максимальными сокращениями на 83 и 99% при 5 и 20 мг/кг соответственно. При 5 мг/кг максимальный результат (минимальный уровень свободного eTau) был достигнут в период времени от 48 до 96 ч, с уровнем свободного eTau, составлявшим от 17,3 до 21% от исходного уровня. Уровни свободного eTau вернулись к исходному уровню через около 480 ч (21-й день) после однократного внутривенного введения дозы. В отличие от этого уровни eTau при дозе 20 мг/кг оставались ниже исходного уровня на протяжении 8-недельного периода с начала введения дозы. При дозе 20 мг/кг максимальное поражение цели наблюдалось в период времени от 8 до 168 ч, с уровнем свободного eTau, составлявшим от 1,35 до 7,44% от исходного уровня. В то время как уровни свободного eTau-белка оставались пониженными относительно исходного уровня на протяжении всего периода исследования, составлявшего 1320 ч, его концентрации возвращались к исходному уровню по мере более поздних измерений.

Анализ уровней Aβ в CSF.

Также оценивали влияние hu-IPN002 на уровни Aβ в CSF самцов яванского макака (*Macaca fascicularis*). Самцов яванского макака обрабатывали, как описано выше, и образцы CSF собирали в различные моменты времени после инъекции. Образцы CSF были проанализированы на наличие Aβ40 с использованием коммерчески доступного анализа ELISA. Результаты представлены на фиг. 25, на которой изображены уровни Aβ40 в CSF (в процентах от исходного уровня) в зависимости от времени. Никаких изменений уровней Aβ40 в CSF не наблюдалось в группе дозы 5 мг/кг. В противоположность этому, в группе дозы 20 мг/кг уровни Aβ40 в CSF уменьшились в среднем до 82% от исходного уровня на момент времени 480 ч. В момент времени 816 ч и на протяжении оставшегося периода исследования уровни Aβ40 в CSF вернулись к исходному уровню. Уровни Aβ40 в CSF были значительно понижены на 17% по сравнению с исходным уровнем в группе дозы 20 мг/кг через 3 недели с начала введения дозы, но возвращались к исходному уровню через 648 ч.

Пример 5. Влияние hu-IPN002 на уровни тау-белка и на уровни Aβ (исследование однократной внутривенной дозы 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 5,0 мг/кг или 20 мг/кг).

Исследование с применением однократной внутривенной (IV) болюсной инфузии с разными уровнями дозирования проводили для оценки фармакокинетического и фармакодинамического профиля hu-IPN002 в сыворотке крови и CSF в течение периода времени 57 дней. Используемые уровни дозы составляли 0,5, 2, 5 и 20 мг/кг. Фармакодинамические конечные точки включали свободный eTau и Aβ 42 в CSF. Одиннадцать самцам яванских макаков были заранее имплантированы порт-системы для постоянного доступа к кровеносной системе (в бедренную вену и бедренную артерию) и порт-системы для постоянного доступа на поясничном уровне к цереброспинальной жидкости (CSF) (катетеры, оканчивающиеся на уровне L1). Каждый из самцов был использован ранее в фармакологических исследованиях с низко-

молекулярными соединениями; данному исследованию предшествовал свободный от приема лекарственных средств период по меньшей мере в один месяц. Возраст макак составлял приблизительно от 5 до 9 лет, и они весили от 4,6 до 8,7 кг в начале исследования. Обезьян обычно размещали парами и кормили стандартным кормом для обезьян (Harlan Teklad Global 20% protein Primate Diet 2050), за исключением утра перед инфузией. Вода была постоянно доступна, и свежие фрукты предоставлялись два раза в неделю. Обычно предоставлялись игрушки и устройства для добывания корма, а также были доступны телевизионные программы в помещениях для проживания колонии. Уход за лабораторными животными осуществлялся в соответствии с рекомендациями Службы общественного здравоохранения США по гуманному лечению и использованию лабораторных животных (U.S. Public Health Service Policy on the Humane Care and Use of Laboratory Animals) и Руководству по содержанию и использованию лабораторных животных (Guide for the Care and use of Laboratory Animals) (2011).

Исходные показатели каждого анализируемого компонента определяли из нескольких образцов CSF до начала исследования. Исследование началось с введения носителя каждому животному. Носитель вводили в виде однократной медленной болюсной инфузии объемом 6 мл/кг в течение 20 мин через порт венозного доступа. Носителем был 0,02% Tween-80 в PBS pH 5,8, состоящем из 10 mM фосфата и 140 mM NaCl. Кровь и CSF отбирали в течение по меньшей мере двух недель с начала введения носителя и до введения hu-IPN002 по следующему графику: временные точки забора образцов сыворотки крови были следующими: до дозы, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 168, 336 ч после инфузии через порт-систему для артериального доступа (времена относительно конца инфузии). Временные точки забора образцов CSF были следующими: 2, 4, 7, 8, 24, 25, 48, 49, 72, 73, 168, 169, 336 и 337 ч после инфузии.

Группы лечения были определены так, как показано в табл. 6. hu-IPN002 вводили в виде однократной медленной болюсной дозы 0,5, 2,0, 5,0 или 20,0 мг/кг в объеме дозы 6 мл/кг в течение 20 мин через порт-систему для венозного доступа. Временные точки забора образцов сыворотки крови были следующими: до дозы, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 168, 336, 504, 672, 840, 1008, 1176, 1344 и 1512 ч с начала введения дозы через порт-систему для артериального доступа (времена относительно конца инфузии).

Временные точки забора образцов CSF были следующими: 2, 4, 7, 8, 24, 25, 48, 49, 72, 73, 168, 169, 336, 337, 504, 505, 672, 673, 840, 841, 1008, 1009, 1176, 1177, 1344, 1345, 1512 и 1513 ч. Образцы CSF, отобранные во временных точках 8, 25, 49, 73, 169, 337, 505, 673, 841, 1009, 1177, 1345 и 1513 ч, использовались для промежуточных анализов, другие образцы были проанализированы в пакетном режиме в конце исследования.

Таблица 6

Дизайн исследования: однократная доза IPN001 в канюлированных яванских макаках

Группа	Тестируемое средство	Уровень дозы (мг/кг)	Путь введения	Объем дозы (мл/кг)	Количество обезьян
1	носитель	0	IV	6	1
2	hu-IPN002	0,5	IV	6	3
3	hu-IPN002	2,0	IV	6	2
4	hu-IPN002	5,0	IV	6	3
5	hu-IPN002	20,0	IV	6	2

Анализ концентраций hu-IPN002 в сыворотке крови и CSF.

Уровни hu-IPN002 были измерены в образцах сыворотки и CSF с использованием специфического анализа ELISA. На фиг. 26 представлены аппроксимированные зависимостью данные в сравнении с наблюдаемыми данными для hu-IPN002 в сыворотке крови, и на фиг. 27 представлены аппроксимированные зависимостью данные в сравнении с наблюдаемыми данными для hu-IPN002 в CSF. Как показано на фиг. 26, AUC[INF] для hu-IPN002 увеличивалась пропорционально дозе в интервале от 0,5 мг/кг до 20 мг/кг (4131, 20192, 47087 и 145300 мкг·ч/мл при 0,5, 2, 5 и 20 мг/кг соответственно). Средние значения времени полувыведения из сыворотки крови [T-HALF] варьировались в диапазоне от 218 до 276 ч. Рассчитанная величина среднего сывороточного клиренса [CL] составила 0,12 мл/ч/кг. Значения Vss колебались от 0,037 до 0,059 л/кг.

Как показано на фиг. 27, концентрации hu-IPN002 в CSF также увеличивались пропорционально дозе, так что величина AUC[0-T] составляла 0,1% от соответствующего значения AUC[0-T] для hu-IPN002 в сыворотке крови, за исключением дозы 0,5 мг/кг, при которой оказалось, что экспозиция в CSF ниже, чем предсказывалось концентрациями в сыворотке (AUC[0-T] в CSF определили как 0,05% от AUC[0-T] в сыворотке крови).

Анализ уровней свободного тау-белка в CSF.

Влияние hu-IPN002 на уровни свободного eTau в CSF измеряли с использованием ELISA. На фиг.

28 представлены аппроксимированные зависимостью данные относительно наблюдаемых данных для hu-IPN002-еТай в CSF. Kdeg для деградации еТай была оценена в 0,11 ч⁻¹. Kd была оценена в 0,16 нмоль/л.

Как показано на фиг. 29А-29В и в табл. 6 ниже, hu-IPN002 индуцирует зависимые от дозы и времени понижение уровней свободного еТай.

Таблица 6

Влияние hu-IPN002 на уровень свободного еТай в CSF (Tau12-BT2)												
Время с начала введения дозы (часы)	Нос. (n=1)	0,5 мрк (n=3) Средн ее	SD	CV	2 мрк (n=2) Средн ее	SD	CV	5 мрк (n=2) Средн ее	SD	CV	20 мрк (n=2) Средн ее	SD ^a CV
2,0	105,2	85,3	9,7	11	91,1	14,8	16	79,2	13,6	17	58,0	12,3 21
4,0	106,9	81,9	13,9	17	74,6	4,6	6	41,1	1,8	4	27,0	7,5 28
7,0	112,8	88,3	16,1	18	94,5	17,2	18	36,9	1,8	5	24,9	5,9 24
24,0	105,7	86,7	20,3	23	37,9	8,9	24	20,2	4,2	21	8,3	NA
48,0	95,3	78,8	22,1	28	27,4	7,2	26	14,1	1,8	13	8,7	NA
72,0	107,8	69,3	15,3	22	31,5	15,6	50	12,8	1,4	11	<LLQ	NA
168	130,2	77,9	9,6	12	26,7	9,5	36	15,6	7,3	47	9,3	NA
336	109,1	77,2	21,4	28	33,4	6,5	20	11,5	0,6	5	10,7	NA
504	94,1	78,9	10,1	13	30,6	4,4	14	13,4	3,8	28	10,8	NA
672	91,6	85,8	24,6	29	41,3	2,0	5	17,6	2,5	14	10,8	NA
840	89,9	71,5	13,9	19	41,6	9,9	24	30,7	5,7	19	18,3	NA
1008	98,8	91,2	9,8	11	47,5	13,4	28	30,2	9,2	30	12,7	1,8 14
1176	94,4	71,4	16,4	23	39,9	7,9	20	32,7	13,9	42	20,4	8,9 43
1344	114,2	88,7	14,7	17	63,3	17,4	27	26,9	18,1	67	24,0	7,1 30
1512	94,0	84,2	11,0	13	68,0	9,6	14	24,7	8,1	33	30,3	0,8 3

"LLQ" обозначает нижний предел количественного определения ELISA.

Как показано на фиг. 29А-29В, hu-IPN002 понижает уровень свободного еТай в CSF в зависимости от дозы и времени. Например, через 24 ч с начала введения дозы уровни свободного еТай понизились до 86,7% от исходного уровня, 37,9% от исходного уровня, 20,2% от исходного уровня и 8,3% от исходного уровня после IV доз 0,5, 2, 5 и 20 мг/кг соответственно. Через 48 ч с начала введения дозы уровни свободного еТай понизились до 78,8% от исходного уровня, 27,4% от исходного уровня, 14,1% от исходного уровня и 8,7% от исходного уровня после IV доз 0,5, 2, 5 и 20 мг/кг соответственно. Через 72 ч с начала введения дозы уровни свободного еТай понизились до 69,3% от исходного уровня, 31,5% от исходного уровня, 12,8% от исходного уровня и до нижнего предела количественного определения после IV доз 0,5, 2, 5 и 20 мг/кг соответственно. Свободные уровни еТай понизились до минимальных уровней 69,3% через 72 ч, 26,7% через 168 ч, 11,5% через 336 ч и <10% через 24 ч (% от исходного уровня) после IV доз 0,5, 2, 5 и 20 мг/кг соответственно. В отличие от этого уровни свободного еТай у животного (n=1), которому вводили дозу носителя, колебалась от 89,9 до 130,2%. Максимальное понижение уровня свободного еТай в CSF после 0,5 мг/кг составляло ~50%, в то время как 20 мг/кг производили >90%-ное понижение и промежуточные дозы производили значения в пределах данного диапазона. Уменьшение содержания свободного еТай были долговременным и по-прежнему наблюдалось через 1512 ч (57 дней) с начала введения дозы в группах с дозой 2, 5 и 20 мг/кг, хотя значения постепенно и возвращались к исходному уровню. Уровень свободного еТай в CSF вернулся к исходному уровню в течение 8 дней и 57 дней после доз в 0,5 и 2 мг/кг соответственно, тогда как уровень свободного еТай в CSF был все еще подавлен на ~50% и ~70% через 57 дней, после доз в 5 и 20 мг/кг соответственно. Данные результаты подтверждают фармакодинамическую активность hu-IPN002 в CSF. Наблюдаемые уменьшения в уровнях свободного еТай можно объяснить несколькими механизмами, включая связывание hu-IPN002 с еТай, уменьшение абсолютных уровней еТай или комбинацию обоих механизмов.

Анализ Аβ-уровней в CSF.

Влияние hu-IPN002 на уровни Аβ42 в CSF измеряли с использованием двух различных анализов сэндвич-ELISA, включая аналитическую процедуру собственной разработки и коммерческий набор (Millipore). Как показано на фиг. 30А-30В и в табл. 7 ниже (использовалась аналитическая процедура собственной разработки) и на фиг. 31А-31В и в табл. 8 (анализ Millipore), hu-IPN002 при любой дозе не влиял на уровни Аβ42 в CSF. Это не согласуется с другими экспериментами, описанными в настоящем доку-

менте. В то время как основа для такого расхождения остается неясной, это может происходить из-за различных режимов дозирования (например, протокол многократного дозирования в сравнении с протоколом однократного дозирования).

Таблица 7

Влияние hu-IPN002 на Aβ42 в CSF (аналитическая процедура собственной разработки)													
Время с начала введения дозы	Нос. (n=1)	0,5 mpk			2 mpk			5 mpk			20 mpk		
		(n=3)	SD	CV	(n=2)	SD	CV	(n=2)	SD	CV	(n=2)	SD	CV
		Сред нее			Средн ее			Средн ее			Сред нее		
2,0	108,5	92,2	26,5	29	97,4	2,1	2	103,7	7,8	8	98,8	0,8	1
4,0	110,7	86,8	13,8	16	102,1	10,5	10	103,7	3,0	3	98,1	3,1	3
7,0	117,5	107,8	20,9	19	117,9	4,8	4	105,6	16,0	15	118,0	17,4	15
24,0	93,5	87,4	16,3	19	93,6	2,1	2	93,4	4,1	4	93,3	12,3	13
48,0	100,8	94,8	14,1	15	98,9	5,8	6	90,4	2,1	2	113,2	6,1	5
72,0	95,8	91,1	25,0	27	103,1	2,5	2	99,7	2,3	2	89,8	0,8	1
168	111,6	94,5	16,5	17	93,2	2,7	3	94,1	4,2	4	96,4	1,2	1
336	99,8	104,4	23,3	22	94,2	0,4	0	96,7	0,5	0	102,8	0,4	0
504	93,2	97,1	7,2	7	94,7	5,8	6	94,6	2,9	3	96,2	0,9	1
672	107,3	101,6	11,8	12	106,3	7,2	7	96,6	1,2	1	116,4	3,6	3
840	91,7	101,0	15,8	16	94,3	7,8	8	82,9	12,9	16	104,1	6,8	7
1008	102,5	105,4	15,2	14	80,9	11,5	14	96,0	8,4	9	113,8	20,0	18
1176	102,6	97,2	12,2	13	98,2	21,8	22	78,0	9,7	12	110,3	2,9	3
1344	108,6	101,8	9,7	10	99,9	7,5	7	92,1	11,7	13	108,4	8,9	8
1512	93,9	119,2	20,6	17	103,3	21,8	21	103,9	7,6	7	111,7	10,7	10

Таблица 8

Влияние hu-IPN002 на Aβ42 в CSF (Millipore)													
Время с начала введения дозы (часы)	Нос. (n=1)	0,5 mpk			2 mpk			5 mpk			20 mpk		
		(n=3)	SD	CV	(n=2)	SD	CV	(n=2)	SD	CV	(n=2)	SD	CV
		Сред нее			Средн ее			Средн ее			Сред нее		
2,0	120,5	93,6	28,8	31	97,1	0,8	1	98,7	15,9	16	101,6	0,0	0
4,0	106,4	83,2	19,5	23	102,0	0,8	1	103,5	11,2	11	103,5	4,3	4
7,0	113,6	111,9	32,0	29	124,7	20,8	17	112,3	1,6	1	121,0	0,5	0
24,0	112,0	94,7	16,8	18	97,0	15,7	16	101,5	4,3	4	98,0	7,2	7
48,0	106,9	87,9	21,5	24	97,0	11,0	11	91,0	0,4	0	104,8	19,8	19
72,0	102,3	92,1	23,6	26	95,2	2,1	2	107,3	0,6	1	89,5	12,5	14
168	114,1	97,6	25,3	26	95,1	0,9	1	96,7	18,7	19	104,3	15,0	14
336	107,6	104,0	28,8	28	82,9	11,1	13	89,4	1,8	2	104,1	8,1	8
504	98,6	90,5	8,7	10	104,2	6,0	6	86,5	5,7	7	98,2	5,9	6
672	120,9	104,8	16,5	16	110,9	15,2	14	106,8	14,5	14	119,3	7,9	7
840	108,3	99,7	20,7	21	106,6	8,7	8	83,5	1,0	1	105,2	8,2	8
1008	108,2	105,7	16,2	15	96,3	2,7	3	94,6	14,0	15	105,4	11,1	11
1176	106,2	101,5	13,6	13	98,2	19,3	20	79,1	1,1	1	97,0	3,6	4
1344	101,6	111,8	14,7	13	107,0	12,1	11	101,7	12,6	12	118,2	27,3	23
1512	101,8	114,9	15,7	14	109,3	5,5	5	108,2	8,4	8	116,4	7,7	7

В частности, как показано на фиг. 30А-30В, уровни Aβ42 в цереброспинальной жидкости варьиро-

вались от 91,7 до 117,5% (% от базового уровня) у животного, которому вводили дозу носителя, как показано с использованием аналитической процедуры собственной разработки. Как показано на фиг. 31А-31В, уровни варьировались от 98,6 до 120,9% (% от исходного уровня), с использованием анализа Millipore. В обоих анализах уровни Аβ42 в CSF у животных, которым вводили hu-IPN002, были сходны с уровнями контроля с носителем.

Пример 6. Влияние hu-IPN002 на уровни тау-белка и на уровни Аβ (исследование многократной внутривенной дозы).

Исследование внутривенной (IV) болюсной инфузии с многократным дозированием было проведено для оценки фармакокинетики и фармакодинамики hu-IPN002 в течение периода времени от 4 до 6 месяцев после многократного внутривенного дозирования самцам яванского макака. Дозы вводили в 1-й, 29-й и 57-й дни исследования. Используемые дозы были следующими:

- 1) 0 мг/кг (носитель) × 3 дозы;
- 2) 20 мг/кг × 3 дозы;
- 3) 40 мг/кг × 3 дозы; а также
- 4) 60 мг/кг × 1 доза с последующими 20 мг/кг × 2 дозы.

Группа 20 мг/кг × 3 дозы была продлена дополнительно на 56 дней после последней дозы.

Уровни hu-IPN002 измеряли в образцах сыворотки крови и CSF с использованием ELISA. Кровь получали от всех животных в момент времени 0 (перед введением дозы), 0,05, 0,083, 0,5, 1, 8, 12, 24, 48, 72, 120, 168, 336, 504, 648 ч с начала введения дозы на 1-й день, в момент времени 0 (перед введением дозы), 0,05, 0,083, 0,25, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 168, 336, 504, 648 ч с начала введения дозы на 29-й день, и в момент времени 0 (перед введением дозы), 0,05, 0,083, 0,5, 1, 8, 12, 24, 48, 72, 120, 168, 336, 504, 672, 840, 1008, 1176, 1344 ч с начала введения дозы на 57-й день для анализа hu-IPN002 в сыворотке. Дополнительные образцы крови собирали в моменты времени 1512, 1680, 1848, 2016, 2184, 2352, 2520 и 2688 ч с начала введения дозы на 57-й день у животных в группе 20 мг/кг × 3 дозы в для анализа hu-IPN002 в сыворотке.

Анализ hu-IPN002 концентраций в сыворотке крови.

После первой дозы средние системные экспозиции hu-IPN002 (AUC[0-672ч]) увеличивались приблизительно пропорционально дозе в интервале от 20 до 60 мг/кг (табл. 9; фиг. 32). После многократного дозирования средние системные экспозиции hu-IPN002 (AUC [0-672 ч]) на 57-й день (после третьей дозы) также увеличивались пропорционально дозе для интервала от 20 до 40 мг/кг, вводимых каждые 28 дней (табл. 11, фиг. 34). Средние значения T-HALF сыворотки изменялись от 210 до 390 ч.

После многократного дозирования, при дозе 20 и 40 мг/кг, вводимых каждые 28 дней, средние системные экспозиции hu-IPN002 (AUC [0-672 ч]) после третьей дозы на 57-й день были сходными (0,8 и 0,9×) со значениями, полученными после первой дозы, и были сопоставимы (1,0 и 0,9×) с экспозициями после второй дозы на 29-й день (табл. 10 и 11; фиг. 33 и 34). Не наблюдалось никакого накопления или потери воздействия. Устойчивое состояние было достигнуто после первой дозы. После нагрузочной дозы 60 мг/кг и двух поддерживающих доз при 20 мг/кг каждые 28 дней средние системные экспозиции hu-IPN002 (AUC [0-672 ч]) на 57-й день в группе 4 были сходными (1,1×) с экспозицией в группе 2 после 3 доз при дозе 20 мг/кг, вводимой через каждые 28 дней, что указывает на то, что нагрузочная доза не оказывала существенного влияния на экспозицию hu-IPN002 в сыворотке крови на 57-й день (табл. 11 и фиг. 34).

Таблица 9

Средние значения фармакокинетических параметров hu-IPN002 в сыворотке крови - день 1

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг каждые 28 дней)		
	20/20/20	40/40/40	60/20/20
	Самцы		
AUC(0-672ч); мкг·ч/мл	90,100	178,000	220,000
C _{max} ; мкг/мл	328	553	681
T _{max} ; ч	5,2	2,4	3,5

Таблица 10

Средние значения фармакокинетических параметров hu-IPN002 в сыворотке крови - день 29

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг каждые 28 дней)		
	20/20/20	40/40/40	60/20/20
	Самцы		
AUC(0-672ч); мкг·ч/мл	76,400	169,000	125,000
C _{max} ; мкг/мл	463	880	483
T _{max} ; ч	0,066	0,11	0,11

Таблица 11

Средние значения фармакокинетических параметров hu-IPN002 в сыворотке крови - день 57

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг каждые 28 дней)		
	20/20/20	40/40/40	60/20/20
	Самцы		
AUC(0-672ч); мкг·ч/мл	76,200	157,000	82,400
C _{max} ; мкг/мл	472	947	600
T _{max} ; ч	0,050	0,050	0,050
T-HALF; ч	390	290	210

Для T-HALF значение представляет собой гармоническое среднее.

Анализ концентраций hu-IPN002 в CSF.

CSF также получали от всех животных до введения дозы и в момент времени 8, 48, 168, 336, 504, 648 ч с начала введения дозы в 1-й и 29-й дни и в момент времени 8, 48, 168, 336, 504, 672, 840, 1008, 1176 и 1344 ч с начала введения дозы в 57-й день для анализа hu-IPN002 в CSF. Дополнительные образцы CSF собирали в момент времени 1512, 1680, 1848, 2016, 2184, 2352, 2520 и 2688 ч с начала введения дозы в 57-й день от животных в группе 20 мг/кг ×3 дозы для анализа hu-IPN002 в CSF. После первой дозы средние экспозиции hu-IPN002 в CSF (AUC[0-T]) увеличивались приблизительно пропорционально дозе от 20 до 60 мг/кг (табл. 12, фиг. 35). После многократного дозирования средние экспозиции hu-IPN002 в CSF (AUC [0-672 ч]) на 57-й день также увеличивались пропорционально дозе от 20 до 40 мг/кг, вводимые каждые 28 дней (табл. 14, фиг. 37)), со значениями AUC (0-672 ч) для CSF, которые составляли от 0,0013 до 0,0014× от соответствующих значений AUC (0-672 ч) для сыворотки. Средние значения T_{max} достигались через 8 ч с начала введения дозы. Средние видимые значения T-HALF для CSF варьировали от 250 до 310 ч. После третьей дозы на 57-й день средние соотношения AUC (0-672 ч) CSF/сыворотка составляли 0,0013 к 0,0014.

После повторного дозирования 20 и 40 мг/кг, вводимые каждые 28 дней, средние экспозиции hu-IPN002 в CSF (AUC [0-672 ч]) после третьей дозы на 57-й день были сходными (1,2×) с таковыми с начала введения первой дозы и были сопоставимыми (1,1 и 1,2×) с экспозициями после второй дозы на 29-й день (табл. 13; фиг. 36). Не наблюдалось никакого накопления или потери воздействия. Устойчивое состояние было достигнуто после первой дозы.

После нагрузочной дозы 60 мг/кг с последующими двумя дозами 20 мг/кг/каждые 4 недели средняя экспозиция (AUC [0-672 ч]) hu-IPN002 в CSF на 57-й день в группе 4 была сходной (1,2×) с экспозицией в группе 2, которая получала дозу 20 мг/кг/каждые 28 дней, что указывает на то, что нагрузочная доза не оказывала существенного влияния на экспозицию hu-IPN002 в сыворотке крови (табл. 14; фиг. 37). Видимые значения T-HALF для CSF варьировали от 250 до 310 ч. hu-IPN002 не наблюдалось ни в одном из контрольных образцов CSF.

Таблица 12

Средние значения фармакокинетических параметров hu-IPN002 в CSF - день 1

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг каждые 28 дней)		
	20/20/20	40/40/40	60/20/20

Таблица 12

Средние значения фармакокинетических параметров hu-IPN002 в CSF - день 1			
Параметр	hu-IPN002 (мг/кг каждые 28 дней)		
	Самцы		
AUC(0-648ч) ^a ; мкг·ч/мл	84,3	166	223
C _{max} ; мкг/мл	0,308	0,498	0,618
T _{max} ; ч	38	28	28
Соотношение ^b AUC(0-T) CSF/Сыворотка	0,00095	0,00093	0,0010

^a Значения AUC (0-T) были усечены до AUC (0-648 ч), поскольку образец в момент времени 672 ч с начала введения дозы не был собран.

^b CSF/сыворотка AUC(0-T) = CSF AUC (0-648 ч)/сыворотка AUC (0-672 ч); соотношения могут быть ниже, чем ожидалось, если собирали образцы CSF через 672 ч.

Таблица 13

Средние значения фармакокинетических параметров hu-IPN002 в CSF - день 29

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг каждые 28 дней)		
	20/20/20	40/40/40	60/20/20
	Самцы		
AUC(0-648) ^a ; мкг·ч/мл	91,8	170	117
C _{max} ; мкг/мл	0,294	0,519	0,339
T _{max} ; ч	38	28	38
Соотношение ^b AUC(0-T) CSF/Сыворотка	0,0012	0,0011	0,00082

^a Значения AUC (0-T) были усечены до AUC (0-648 ч), поскольку образец в момент времени 672 ч с начала введения дозы не был собран.

^b CSF/сыворотка AUC (0-T) = CSF AUC (0-648 ч)/сыворотка AUC (0-672 ч); соотношения могут быть ниже, чем ожидалось, если собирали образцы CSF через 672 ч.

Таблица 14

Средние значения фармакокинетических параметров hu-IPN002 в CSF - день 57

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг каждые 28 дней)		
	20/20/20	40/40/40	60/20/20
	Самцы		

Таблица 14

Средние значения фармакокинетических параметров hu-IPN002 в CSF - день 57

Параметр	hu-IPN002 (мг/кг каждые 28 дней)		
AUC(0-672ч); мкг·ч/мл	97,1	199	114
C _{max} ; мкг /мл	0,373	0,642	0,402
T _{max} ; ч	8,0	8,0	8,0
T-HALF; ч	280	310	250
Соотношение CSF/Сыворотка AUC(0-672ч)	0,0013	0,0013	0,0014

Для T-HALF значение представляет собой гармоническое среднее.

Анализ уровней свободного eTau в CSF.

Влияние hu-IPN002 на уровни свободного eTau в CSF измеряли с использованием коммерчески доступного анализа ELISA. Профили уровней свободного eTau в CSF (в процентах от исходного уровня) в зависимости от времени для всех доз показаны на фиг. 38.

После первой дозы уровни свободного eTau в CSF быстро снижались всеми тремя дозами дозозависимым образом, в первой же временной точке, в момент времени самого раннего измерения, 8 ч. Уровни свободного eTau в CSF оказались максимально подавленными при дозе 40 мг/кг, но все дозы снижали уровень свободного eTau в CSF на ≥75%. Уровни свободного eTau не возвращались к исход-

ному уровню для любой группы дозирования вплоть до 112-го дня исследования или через 55 дней после последней дозы.

Исследование было продлено на 2 месяца для дозы 20 мг/кг, чтобы определить, не вернется ли уровень свободного τ в CSF к исходному уровню. Как видно на фиг. 39, в дни исследования 162-169 или через 105-112 дней после последней из 3 доз уровень свободного τ в CSF возвращается к значениям, близким к исходным. В большинстве временных точек для 3 доз понижения уровней τ значительно отличались от уровня носителя (данные не показаны). В некоторых случаях р-значения не могли быть вычислены, так как значения, полученные в ходе анализа, были ниже предела обнаружения.

Суммируя вышесказанное, hu-IPN002 обеспечивал быстрое и устойчивое понижение уровня свободного τ в CSF яванского макака после внутривенной инфузии в данном исследовании многократной дозы с повторным дозированием. На всех исследованных уровнях дозы уровень свободного τ в CSF оставался подавленным на протяжении всего исследования (112 дней) или через 55 дней после третьей дозы. Оказалось, что уровень дозы 40 мг/кг обеспечивает наиболее устойчивое уменьшение уровня свободного τ в CSF.

Анализ уровней $A\beta_{42}$ в CSF.

Профили уровней $A\beta_{42}$ в CSF (в процентах от исходного уровня) в зависимости от времени для всех доз представлены на фиг. 40. Как показано на фиг. 40, hu-IPN002 понижал уровень $A\beta_{42}$ в CSF в данном исследовании. Все дозы понижали $A\beta_{42}$ в CSF через 21 дней после первой дозы. Наибольшее и наиболее устойчивое (от 40 до 50 дней) понижение уровня $A\beta_{42}$ началось после третьей дозы (день 57).

Максимальное понижение $A\beta_{42}$ (от 25 до 50% от исходного уровня) произошло в день исследования 77 или через 20 дней после третьей дозы. На всех уровнях дозы значения $A\beta_{42}$ возвращались к исходному уровню на 106-й день исследования или через 49 дней после третьей дозы. hu-IPN002 понижал уровень $A\beta_{42}$ в CSF умеренным образом в зависимости от дозы.

Пример 6. Прогнозирование фармакокинетики и эффективных доз у людей.

Расчет параметров фармакокинетики.

Параметры фармакокинетики Ihu-IPN002 для человека были предсказаны на основе аллометрического анализа, проведенного на одном виде обезьян. Ожидалось, что клиренс для человека составит 0,06 мл/ч/кг. Прогнозируемый объем распределения в равновесном состоянии (V_{ss}) в организме человека составляет 0,041 л/кг.

Для отражения биэкспоненциального характера профиля концентрации в сыворотке крови, наблюдаемого у обезьян, фармакокинетический профиль в организме человека был предсказан с использованием способа определения C_{ss} -среднего времени нахождения (mean residence time, MRT). Не учитывавший компартментализацию анализ прогнозируемого профиля в организме человека давал значения объема (V_z) и периода полувыведения (T-HALF), равные 0,04 л/кг и 535 ч соответственно. Расчетные фармакокинетические параметры приведены в табл. 15 ниже.

Таблица 15

Прогнозируемые параметры в организме человека для hu-IPN002 от обезьян

	РК параметры для обезьян	Прогнозируемые параметры для человека
V_{ss} (л/кг)	0,041	0,041
CLTp (мл/ч/кг)	0,11	0,06
V_z (л/кг) (из анализа NCA)	0,043	0,04
T-HALF (ч) (из анализа NCA)	275	535
V_c (л/кг)	0,027	0,025
k_{12} (ч ⁻¹)	0,025	0,023
k_{21} (ч ⁻¹)	0,03	0,023
k_e (ч ⁻¹)	0,004	0,002

Предсказанная моделью величина k_{deg} (0,1 ч⁻¹) отличалась от величины, известной из литературных данных, для периода полужизни τ -белка (11 дней эквивалентно $k_{deg} = 0,002$ ч⁻¹) в CSF (Yamada K, et al., J. Exp. Med., 2014 Mar 10; 211(3):387-93).

Прогнозирование эффективных доз у людей.

Устойчивое понижение концентраций τ на 75% в течение 4 недель был выбрано для того, чтобы оценить наиболее вероятное эффективное целевое воздействие в организме человека.

Доза 10 мг/кг (700 мг) была признана необходимой для достижения понижения уровня τ на 75% в течение 4 недель. Прогнозируемый профиль зависимости концентрации от времени для hu-IPN002 в сыворотке крови и CSF и τ в CSF был также смоделирован (фиг. 41).

Путем моделирования стационарного состояния было предсказано, что доза 10 мг/кг, вводимая

один раз каждые 4 недели, будет поддерживать понижение концентраций свободного еТау в течение 24 недель. Было предсказано, что общая экспозиция hu-IPN002 в сыворотке крови может быть уменьшена, а процентное понижение еТау может поддерживаться на уровне 75% или выше введением нагрузочной дозы 10 мг/кг с последующей поддерживающей дозой 4 мг/кг, при введении через каждые 4 недели (фиг. 42-43). Вычисленная предсказанная величина $C_{max_{ss}}$ для 10 мг/кг Q4W составила 592 мкг/мл, в то время как для нагрузочной дозы 10 мг/кг с последующей 4 мг/кг Q4W предсказанная величина $C_{max_{ss}}$ составила 241 мкг/мл. Соответствующие AUC_{SS} для двух режимов дозирования составляют 204977 мкг·ч/мл и 84114 мкг·ч/мл соответственно. Подход с нагрузочной и поддерживающей дозой, как ожидается, может позволить существенно уменьшить свободные уровни еТау немедленно после дозирования с однократной нагрузочной дозой и поддерживать понижение уровней еТау с использованием более низких поддерживающих доз.

Таблица 16

ПК параметры в стационарном состоянии		
Схема дозирования	C_{max} (мкг/мл)	$AUC(TAU)^*$ (мкг·ч/мл)
700 мг Q4W	592	204,977
700 мг+ 280 мг Q4W	241	84,114

* $AUC(TAU)$ представляет собой AUC в пределах интервала дозирования.

В то время как настоящее изобретение было описано со ссылками на конкретные варианты его осуществления, специалистам в данной области техники должно быть понятно, что могут быть сделаны различные изменения и могут быть заменены эквиваленты без отхода от истинной сущности и объема настоящего изобретения. Кроме того, могут быть произведены многие модификации, чтобы приспособить конкретную ситуацию, материал, состав вещества, процесс, технологическую стадию или стадии к задаче, сущности и объему настоящего изобретения. Все такие модификации считаются находящимися в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.

Сводный перечень последовательностей

SEQ ID NO:	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
1	RSSQTILHSNGNTYLE
2	KVSKRFS
3	FQGSLVPA
4	SYGMS
5	TISSSGSRTYFPDSVKG
6	TWDGAMDY
7	KSSQSIVHSNGNTYLE
8	KVSNRFS
9	FQGSLVPA
10	KYGMS
11	TISSSGSRTYYPDSVKG
12	SWDGAMDY
13	[Аминокислотная последовательность легкой цепи гибридного IPN001]; Фигура 11B
14	[Аминокислотная последовательность тяжелой цепи гибридного IPN001]; Фигура 11A
15	[Аминокислотная последовательность легкой цепи гибридного IPN002]; Фигура 12B
16	[Аминокислотная последовательность тяжелой цепи гибридного IPN002]; Фигура 12A
17	[Нуклеотидная последовательность легкой цепи гибридного IPN001]; Фигура 11B
18	[Нуклеотидная последовательность тяжелой цепи гибридного IPN001]; Фигура 11A
19	[Нуклеотидная последовательность легкой цепи гибридного IPN002]; Фигура 12B
20	[Нуклеотидная последовательность тяжелой цепи гибридного IPN002]; Фигура 12A
21	EFEVMED
22	DQGGYT
23	MAEPRQEFVMEHDAGTY

24	AGTYGLGDRK
25	EVX1LVESGGALVKPGGSLRLSCAASGFSFS
26	WVRQAPGKGLEWVA
27	RFTISRDNAKNTLYLQMX2SX3X4X5EDTAMYYCX6I
28	[Нуклеотидная последовательность Вариант 1 VH IPN002]; Фигура 13
29	[Нуклеотидная последовательность Вариант 2 VH IPN002]; Фигура 14
30	[Нуклеотидная последовательность Вариант 3 VH IPN002]; Фигура 15
31	[Нуклеотидная последовательность Вариант 4 VH IPN002]; Фигура 16
32	[Нуклеотидная последовательность Вариант 1 Vk IPN002]; Фигура 17
33	[Нуклеотидная последовательность Вариант 2 Vk IPN002]; Фигура 18
34	[Нуклеотидная последовательность Вариант 3 Vk IPN002]; Фигура 19
35	[Нуклеотидная последовательность Вариант 4 Vk IPN002]; Фигура 20
36	[Аминокислотная последовательность Вариант 1 VH IPN002]; Фигура 13
37	[Аминокислотная последовательность Вариант 2 VH IPN002]; Фигура 14
38	[Аминокислотная последовательность Вариант 3 VH IPN002]; Фигура 15
39	[Аминокислотная последовательность Вариант 4 VH IPN002]; Фигура 16
40	[Аминокислотная последовательность Вариант 1 Vk IPN002]; Фигура 17
41	[Аминокислотная последовательность Вариант 2 Vk IPN002]; Фигура 18
42	[Аминокислотная последовательность Вариант 3 Vk IPN002];

	Фигура 19
43	[Аминокислотная последовательность Вариант 4 V _k IPN002]; Фигура 20
44	WGQGTx7VTvSS
45	DVx1MTQsPLSLPvTLGQPASISC
46	WYLQKPGQSPQLLx2Y
47	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGx3YYC
48	FGGGTKVEIK
49	(GSGGS) _n
50	(GGGS) _n
51	GGSG
52	GGSGG
53	GSGSG
54	GSGGG
55	GGGSG
56	GSSSG
57	HHHHHH
58	YPYDVPDYA
59	DYKDDDDK
60	EQKLISEEDL
61	HHHHH
62	WSHPQFEK
63	RYIRS
64	FHHT
65	WEAAAREACCRECCARA
66	TFFYGGCRGKRNNFKTEEY
67	TFFYGGSRGKRNNFKTEEY
68	CTFFYGGSRGKRNNFKTEEY
69	TFFYGGSRGKRNNFKTEEYC
70	TFVYGGCRAKRNNFKS
71	eTau 4; Фигура 9
72	2N4R; Фигура 9
73	Фетальный внеклеточный Тау-полипептид; Фигура 21
74	Внеклеточный Тау-полипептид #2; Фигура 21
75	Внеклеточный Тау-полипептид #3; Фигура 21
76	Внеклеточный Тау-полипептид #4; Фигура 21
77	eTau 2-172; Фигура 21
78	eTau 2-176; Фигура 21

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения таупатии у индивидуума, включающий введение антитела к тау-белку индивидууму в виде однократной болюсной инъекции, причем антитело к тау-белку включает вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина (VL) и вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH), причем VH состоит из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 37, и VL состоит из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 41.

2. Способ по п.1, в котором любые две дозы антитела к тау-белку вводят с интервалом 5 дней, 7 дней, 2 недели, 4 недели, 2 месяца или более друг от друга.

3. Способ лечения таупатии у индивидуума, включающий введение любых двух доз антитела к тау-белку индивидууму с интервалом 3-5 дней или 2 месяца или более друг от друга, причем антитело к тау-белку включает вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина (VL) и вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH), причем VH состоит из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID NO: 37, и VL состоит из аминокислотной последовательности, показанной в SEQ ID

NO: 41.

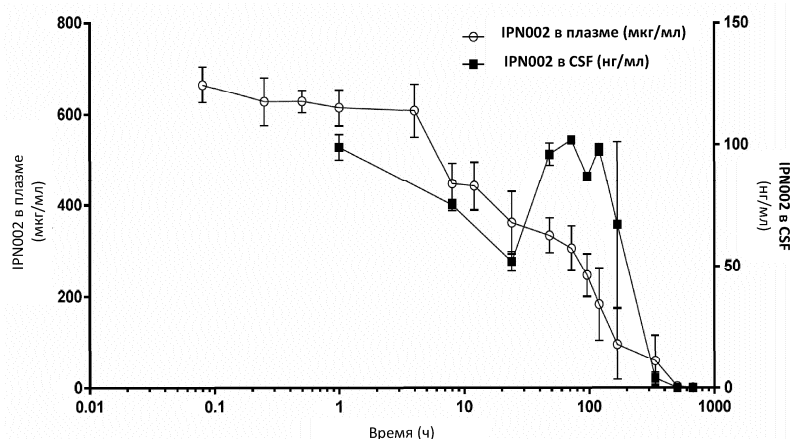
4. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело к тау-белку вводят путем подкожного введения, путем интратекального введения или путем внутривенного введения.

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз/паркинсонизм-деменцию, болезнь аргирофильных зерен, проявляющуюся деменцией, амилоидную ангиопатию британского типа, церебральную амилоидную ангиопатию, кортикобазальную дегенерацию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменцию боксеров, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, синдром Дауна, лобно-височную деменцию, лобно-височную деменцию с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17, дегенерацию лобной и височной долей, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, болезнь Галлервордена-Шпатца, миозит с включёнными тельцами, множественную системную атрофию, миотоническую дистрофию, болезнь Ниманна-Пика, тип С, не являющееся болезнью Гауа заболевание двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками, болезнь Пика, постэнцефалитический паркинсонизм, прион-протеин-церебральную амилоидную ангиопатию, прогрессивный субкортикальный глиоз, прогрессивный надъядерный паралич, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков и мультиинфарктную деменцию.

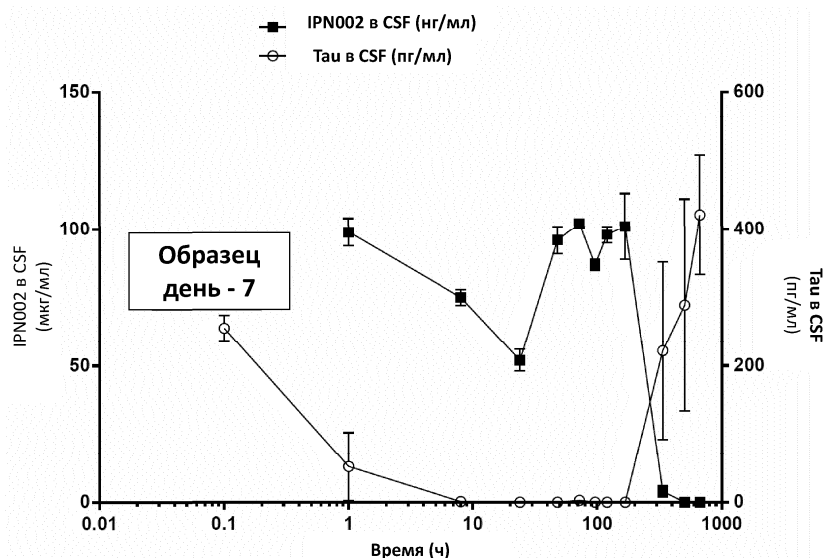
6. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера.

7. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором таупатия представляет собой прогрессивный надъядерный паралич.

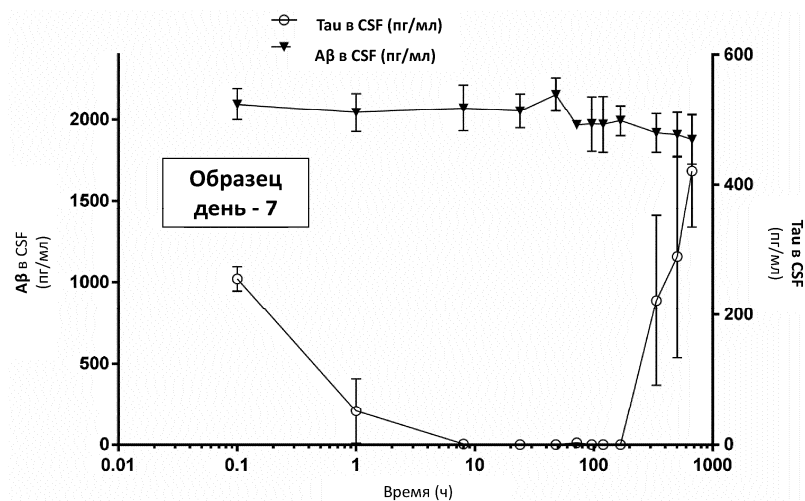
8. Способ по любому из пп.1-4, в котором таупатия представляет собой инсульт, хроническую травматическую энцефалопатию, черепно-мозговую травму, сотрясение мозга, судороги, эпилепсию или острую свинцовую энцефалопатию.



Фиг. 1

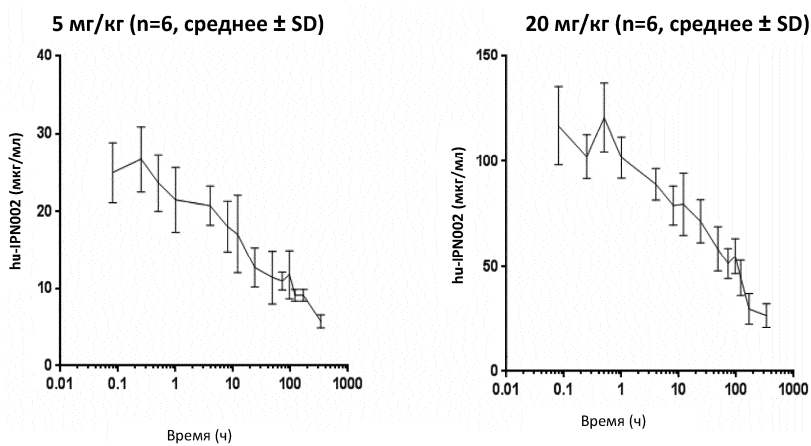


Фиг. 2



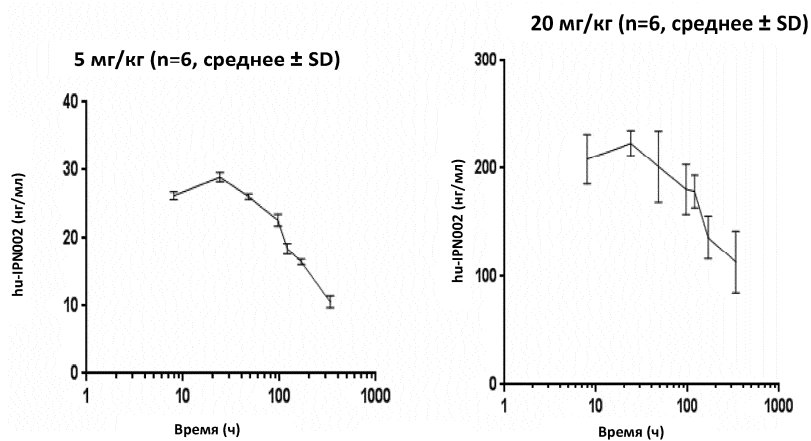
Фиг. 3

hu-IPN002 в сыворотке NHP



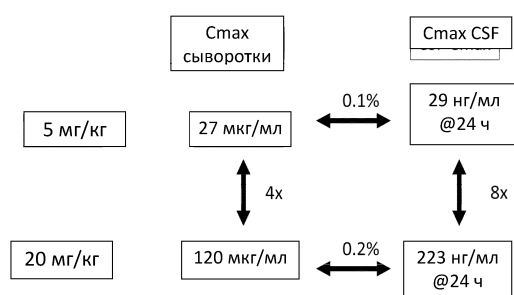
Фиг. 4

hu-IPN002 в CSF у NHP

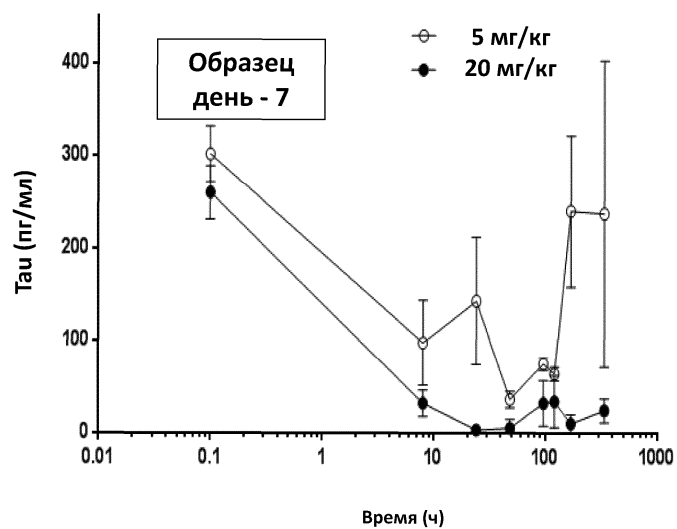


Фиг. 5

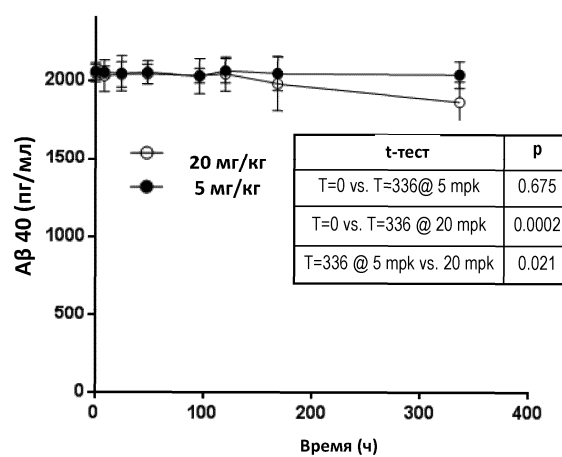
Фармакинетика hi-IPN002



Фиг. 6



Фиг. 7

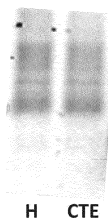


Фиг. 8

(SEQ ID NO:71) eTau4	AEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLK	43
(SEQ ID NO:72) 2N4R	MAEPRQEFVEMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPLQTPTEGSEEPG	60
eTau4	AEEAGIGDTPSLEDEAAG	61
2N4R	SETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAPHTEIPEGTTAEAGIGDTPSLEDEAAG	120
eTau4	HVTQAR	67
2N4R	HVTQARMVSKSDGTGSDDKAKGADGKTKIATPRGAAPP <u>PGQK</u> QANATRIPAKTPPPAK	180
2N4R	TPSSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAK	240
2N4R	SRLQTAPVPMPLDKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHV	300
2N4R	PGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNI	360
2N4R	THVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVS GDTSPRHLSNVSS TGSIDMV	420
2N4R	DSPQLATLADEV SASLAKQGL	441

Фиг. 9

**Фрагменты Tau присутствуют в CFF игроков НФЛ -
с вероятной CTE (хронической травматической
энцефалопатией)**

WB eTau

Выделение IPN002 аффинной хроматографией из
объединенной CSF здоровых людей и лиц с вероятной CTE с
последующим IPN001-вестерн-блоттингом

Фиг. 10

Последовательности тяжелой цепи гибридного IPN001

1	E V Q L V E S G E D L V K P G G S L K L
2	GAGGTGAGT TGGTGGAGT TGGGGAAGAC TTAGTGAAGC CTGGAGGGTC CCTGAAACTC
61	S C V A S G F A F S S Y G M S W V R Q T
	TCCTGTGTCG CTTCTGGATT CGCTTTCAGT AGCTATGGCA TGTCT TGGGT TCGCCAGACT
121	P D M R L E W V A T I S S S G S R T Y F
	CCAGACATGA GGCTGGAGTG GGTGCA ACA ATTAGTAGCA GTGGTAGTCG CACCTACTTT
181	P D S V K G R L T I S R D N D K N I L Y
	CCAGACAGTG TGAAGGG CG ACTCACCATC TCCAGAGACA ATGACAAGAA CATCCTATAC
241	L Q M S S L R S E D T A M Y Y C T I T W
	CTACAAATGA GCAGTCTGAG GTCTGAGGAC ACAGCCATGT ACTATTGTAC GATT ACCTGG
301	D G A M D Y W G R G I S V T V S S (SEQ ID NO:14)
	GACGGTGCTA TGGACTAC TG GGGTCGTGGA ATATCAGTCA CCGTCTCCTC A (SEQ ID NO:18)

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
CDR и нуклеотидные последовательности, кодирующие области CDR, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

Фиг. 11A

Последовательности легкой цепи гибридного IPN001

```

      D V L M T Q T P L S L A V N L G D Q A S
1  GATGTTTGA TGACCCAAAC TCCGCTCTCC CTGGCAGTCA ATCTTGGAGA TCAAGCCTCC

      L S C R S S Q T I L H S N G N T Y L E W
61 CTCTCTTGCA A GATCGAGTCA GACTATTTTA CATAGTAATG GAAATACCTA TTTAGAATGG

      Y L Q K P G Q S P R L L I Y K V S K R F
121 TATTGTCAGA AACCAAGGCCA GTCTCCAAGA CTCCTGATCT ACAAAGTTTC TAAACGATTT

      S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
181 TCTGGGGTCC CAGACAGGTT CAGTGGCAGT GGATCAGGGA CAGATTTCAC ACTCAAGATC

      S R V E A D D L G I Y Y C F Q G S L V P
241 AGCAGAGTGG AGGCTGACGA TCTGGGAATT TATTACTGCT TTCAAGGTTTC ACTTGTTCCT

      W A F G G G T K L E I K (SEQ ID NO:13)
301 TGGGCGTTCG GTGGAGGCAC CAAGCTGGAA ATCAAA (SEQ ID NO:17)

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
CDR и нуклеотидные последовательности, кодирующие области CDR, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

Фиг. 11B

Последовательности тяжелой цепи гибридного IPN002

```

      E V H L V E S G G A L V K P G G S L K L
1  GAGGTTTCATC TGGTGGAGTC TGGGGGAGCC TTAGTGAAGC CTGGAGGGTC CCGAAACTC

      S C A A S G F S F S K Y G M S W V R Q T
61 TCCTGTGCAG CCTCTGGATT CAGTTTCAGT AAATATGGCA TGCTCTTGGGT TCGCCAGACT

      P D K R L E W V A T I S S S G S R T Y Y
121 CCAGACAAGA GGCTGGAGTG GGTCGCAACC ATTAGTAGTA GTGGGAGTCG CACCTACTACT

      P D S V K G Q F T I S R D N A K N T L Y
181 CCAGACAGTG TGAAGGGCCA ATTCACCATC TCCAGAGACA ATGCCAAGAA CACCCTGTAC

      L Q M S S L K S E D T A M Y Y C S I S W
241 CTGCAATGA GCAGTCTGAA GTCTGAGGAC ACAGCCATGT ATTACTGTTC AATTAGCTGG

      D G A M D Y W G Q G T S V T V S S (SEQ ID NO:16)
301 GACGGTCCTA TGGACTACTG GGGTCAAGGG ACCTCAGTCA CGTCTCCTC A (SEQ ID NO:20)

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
CDR и нуклеотидные последовательности, кодирующие области CDR, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

Фиг. 12A

Последовательности легкой цепи гибридного IPN002

```

      D V L M T Q T P L S L P V S L G D Q A S
1  GATGTTTGA TGACCCAAAC TCCACTCTCC CTGCCTGTCA GTCTTGGAGA TCAAGCCTCC

      I S C K S S Q S I V H S N G N T Y L E W
61 ATCTCTTGCA AATCTAGTCA GAGCATTGTA CATAGTAATG GAAACACCTA TTTAGAATGG

      Y L Q K P G Q S P K L L V Y K V S N R F
121 TACCTGCAGA AACCAAGGCCA GTCTCCAAG GTCTGGTCT ACAAAGTTTC CAATCGATTT

      S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
181 TCTGGGGTCC CAGACAGGTT CAGTGGCAGT GGATCAGGGA CAGATTTCAC ACTCAAGATC

      S R V E A E D L G T Y Y C F Q G S L V P
241 AGCAGAGTGG AGGCTGAGGA TCTGGGAATT TATTACTGCT TTCAAGGTTTC ACTTGTTCCT

      W A F G G G T K L E I K (SEQ ID NO:15)
301 TGGGCGTTCG GTGGAGGCAC CAAGCTGGAA ATCAAA (SEQ ID NO:19)

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
CDR и нуклеотидные последовательности, кодирующие области CDR, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

Фиг. 12B

Вариант 1 VH IPN002

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GAGGTTTCATCTGGTGGAGTCTGGGGGAGCCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTTCAGTTCAAGTAAATATGGCA
E V H L V E S G G A L V K P G G S L R L S C A A S G F S F S K Y G
              10                      20                      30

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TGTCITGGGTTGCGCAGGCCCGAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTAGTAGTGGGAGTCCGACCTACTATCCAGACAGTGTGAAGGCGAG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S S G S R T Y Y P D S V K G R
              40              50      52 A                      60

      210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
ATTCAACATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCCTGTACCTGCAAAATGAGCAGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTTCAATTAGCTGG
F T I S R D N A K N T L Y L Q M S S L K S E D T A M Y Y C S I S W
              70              80      82 A B C                      90

      310     320     330     340     350
GACGGTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGGACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:28)
D G A M D Y W G Q G T S V T V S S (SEQ ID NO:36)
      100              110      113

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
Нуклеотидные и аминокислотные последовательности CDR подчеркнуты.

Фиг. 13

Вариант 2 VH IPN002

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GAGGTTTCATCTGGTGGAGTCTGGGGGAGCCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTTCAGTTCAAGTAAATATGGCA
E V H L V E S G G A L V K P G G S L R L S C A A S G F S F S K Y G
              10                      20                      30

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TGTCITGGGTTGCGCAGGCCCGAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTAGTAGTGGGAGTCCGACCTACTATCCAGACAGTGTGAAGGCGAG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S S G S R T Y Y P D S V K G R
              40              50      52 A                      60

      210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
ATTCAACATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCCTGTACCTGCAAAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGGACACAGCCATGTATTACTGTTCAATTAGCTGG
F T I S R D N A K N T L Y L Q M N S L R A E D T A M Y Y C S I S W
              70              80      82 A B C                      90

      310     320     330     340     350
GACGGTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGGACCAACCGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:29)
D G A M D Y W G Q G T T V T V S S (SEQ ID NO:37)
      100              110      113

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
Нуклеотидные и аминокислотные последовательности CDR подчеркнуты.

Фиг. 14

Вариант 3 VH IPN002

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GAGGTTTCAGTGTGGAGTCTGGGGGAGCCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTTCAGTTCAAGTAAATATGGCA
E V Q L V E S G G A L V K P G G S L R L S C A A S G F S F S K Y G
              10                      20                      30

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TGTCITGGGTTGCGCAGGCCCGAGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTAGTAGTGGGAGTCCGACCTACTATCCAGACAGTGTGAAGGCGAG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S S G S R T Y Y P D S V K G R
              40              50      52 A                      60

      210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
ATTCAACATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCCTGTACCTGCAAAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGGACACAGCCATGTATTACTGTTCAATTAGCTGG
F T I S R D N A K N T L Y L Q M N S L R A E D T A M Y Y C S I S W
              70              80      82 A B C                      90

      310     320     330     340     350
GACGGTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGGACCAACCGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:30)
D G A M D Y W G Q G T T V T V S S (SEQ ID NO:38)
      100              110      113

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
Нуклеотидные и аминокислотные последовательности CDR подчеркнуты.

Фиг. 15

Вариант 4 VH IPN002

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GAGGTTGAGTGGAGTCTGGGGGAGCCTTAGTGAAGCCTGGAGGTCCTCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTGAGTTTCAGTTCAATATGGCA
E V Q L V E S G G A L V K P G G S L R L S C A A S G F S F S K Y G
                               10                               20                               30

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
TGICTTGGGTTGCGCAGGCCCCAGGCCAAGGGCCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTAGTAGTGGGAGTGCACCTACTATCCAGACAGTGTGAAGGGCAG
M S W V R Q A P G K G L E W V A T I S S S G S R T Y Y P D S V K G R
                               40                               50 52 A                               60

      210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
ATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACCCCTGTACCTGCAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGGACACAGCCATGATTTACTGTGCCATTAGCTGG
F T I S R D N A K N T L Y L Q M N S L R A E D T A M Y Y C A I S W
                               70                               80 82 A B C                               90

      310     320     330     340     350
GACGGTCTATGGACTCTGGGGTCAAGGGACCAACCGTCACCGTCTCTCTCA (SEQ ID NO:31)
D G A M D Y W G Q G T T V T V S S (SEQ ID NO:39)
      100                               110                               113

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
Нуклеотидные и аминокислотные последовательности CDR подчеркнуты.

Фиг. 16

Вариант 1 Vk IPN002

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GATGTTTTGATGACCCAAAGCCCACTCTCCCTGCCTGTCAACCCCTTGGACAGCCCGCCTCCATCTCTTGCAAACTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATG
D V L M T Q S P L S L P V T L G Q P A S I S C K S S Q S I V H S N
                               10                               20                               27 A B C D E

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
GAAACACCTATTAGAAATGGTACCTGCAGAAACAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGGTCTACAAAGTTTCCAATCGATTTCCTGGGGTCCCAGACAGATT
G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P Q L L V Y K V S N R F S G V P D R F
      30                               40                               50                               60

      210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
CAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAACATTATTACTGCTTCAAGGCTCACITGTTCTCT
S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G T Y Y C F Q G S L V P
                               70                               80                               90

      310     320
TGGGCGTTTCGGTGGAGGCCACCAAGGTGGAATCAAA (SEQ ID NO:32)
W A F G G G T K V E I K (SEQ ID NO:40)
      100                               106 A

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
Нуклеотидные и аминокислотные последовательности CDR подчеркнуты.

Фиг. 17

Вариант 2 Vk IPN002

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GATGTTGTGATGACCCAAAGCCCACTCTCCCTGCCTGTCAACCCCTTGGACAGCCCGCCTCCATCTCTTGCAAACTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATG
D V V M T Q S P L S L P V T L G Q P A S I S C K S S Q S I V H S N
                               10                               20                               27 A B C D E

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
GAAACACCTATTAGAAATGGTACCTGCAGAAACAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGGTCTACAAAGTTTCCAATCGATTTCCTGGGGTCCCAGACAGATT
G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P Q L L V Y K V S N R F S G V P D R F
      30                               40                               50                               60

      210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
CAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAACATTATTACTGCTTCAAGGCTCACITGTTCTCT
S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G T Y Y C F Q G S L V P
                               70                               80                               90

      310     320
TGGGCGTTTCGGTGGAGGCCACCAAGGTGGAATCAAA (SEQ ID NO:33)
W A F G G G T K V E I K (SEQ ID NO:41)
      100                               106 A

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
Нуклеотидные и аминокислотные последовательности CDR подчеркнуты.

Фиг. 18

Вариант 3 Vk IPN002

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GATGTTGTGATGACCCAAAGCCCACTCTCCCTGCCTGTGCACCTGGACAGCCCGCTCCATCTCTTGCAAAATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATG
D V V M T Q S P L S L F V T L G Q P A S I S C K S S Q S I V H S N
              10                      20                      27 A B C D E

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
GAAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGGTCTACAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATT
G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P Q L L V Y K V S N R F S G V P D R F
      30              40              50              60

      210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
CAGTGGCAGTGGATCAGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGCTCAGTTGTTCTCT
S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C F Q G S L V P
              70              80              90

      310     320
TGGGCGTTCGGTGGAGGCCACCAAGGTGGAATCAAA (SEQ ID NO:34)
W A F G G G T K V E I K (SEQ ID NO:42)
      100              106 A

```

Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
Нуклеотидные и аминокислотные последовательности CDR подчеркнуты.

Фиг. 19

Вариант 4 Vk IPN002

```

      10      20      30      40      50      60      70      80      90     100
GATGTTGTGATGACCCAAAGCCCACTCTCCCTGCCTGTGCACCTGGACAGCCCGCTCCATCTCTTGCAAAATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATG
D V V M T Q S P L S L F V T L G Q P A S I S C K S S Q S I V H S N
              10                      20                      27 A B C D E

      110     120     130     140     150     160     170     180     190     200
GAAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATT
G N T Y L E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F
      30              40              50              60

      210     220     230     240     250     260     270     280     290     300
CAGTGGCAGTGGATCAGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGCTCAGTTGTTCTCT
S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C F Q G S L V P
              70              80              90

      310     320
TGGGCGTTCGGTGGAGGCCACCAAGGTGGAATCAAA (SEQ ID NO:35)
W A F G G G T K V E I K (SEQ ID NO:43)
      100              106 A

```

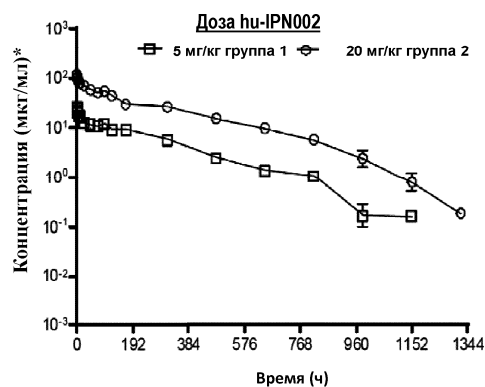
Определения CDR и нумерация последовательностей белков согласно системе нумерации Kabat.
Нуклеотидные и аминокислотные последовательности CDR подчеркнуты.

Фиг. 20

(SEQ ID NO:73)	фетальн.	MAEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLEDEA
(SEQ ID NO:74)	#2	AEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLEDEA
(SEQ ID NO:75)	#3	AEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLEDEA
(SEQ ID NO:76)	#4	AEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLEDEA
(SEQ ID NO:77)	eTau 2-172	AEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLEDEA
(SEQ ID NO:78)	eTau 2-176	AEPRQEFVEMDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLEDEA
	фетальн.	AGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQKGQANATRIPAKTPPA
	#2	AGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQKGQANATRIPAKTPPA
	#3	AGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQKGQANATRIPAKTPPA
	#4	AGHVTQAR (68)
	eTau 2-172	AGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQKGQANATRIPAKTPPA
	eTau 2-176	AGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPQKGQANATRIPAKTPPA
	фетальн.	PKTPPSSGEPKSGDRSGYSPGSPGTPGSRSRTPSLFTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSA
	#2	PKTPPSSGEPKSGDRSGYSPGSPGTPGSR (151)
	#3	PK (122)
	eTau 2-172	PKTPPSSGEPKSGDRSGYSPGSPGTPGSRSRTPSLFTPPTREPKKVAVVR
	eTau 2-176	PKTPPSSGEPKSGDRSGYSPGSPGTPGSRSRTPSLFTPPTREPKKVAVVRTPPK
	фетальн.	KSRLQTA PVPMPDLKNVSKIGSTENLKHQFGGGKVQIVYKPVDSLKVTSKCGSLGNINHK
	фетальн.	PGGGQVEVSEKLD F KDRVQSKIGSLDNITHVPGGKNKIE THKLTFR ENAKAKTDHGAEI
	фетальн.	VYKSPVVS GDTSPRHLSNVSS TGSIDMVDSPQLATLADEVSA SLAKQGL

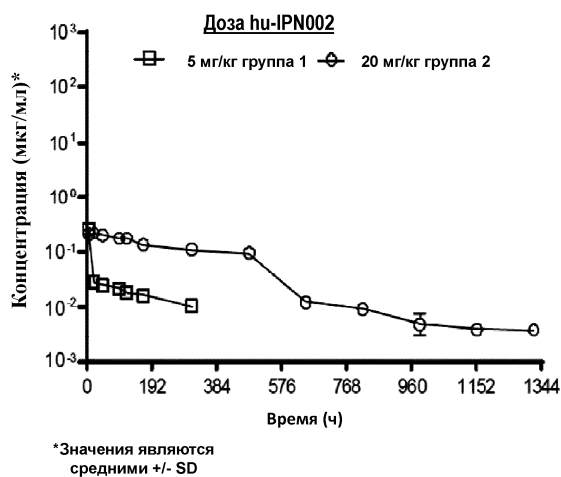
Фиг. 21

Средние сывороточные концентрации hu-IPN002

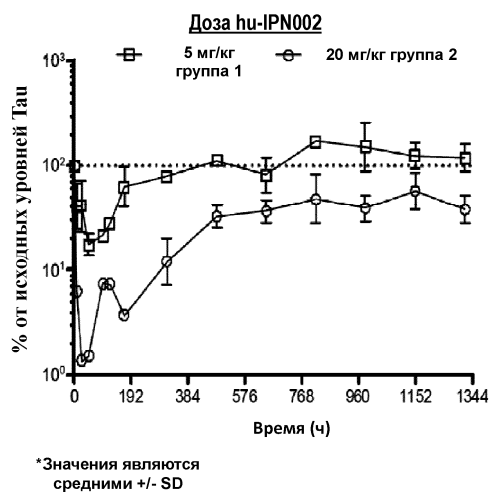


Фиг. 22

Средние hu-CSF концентрации в CSF

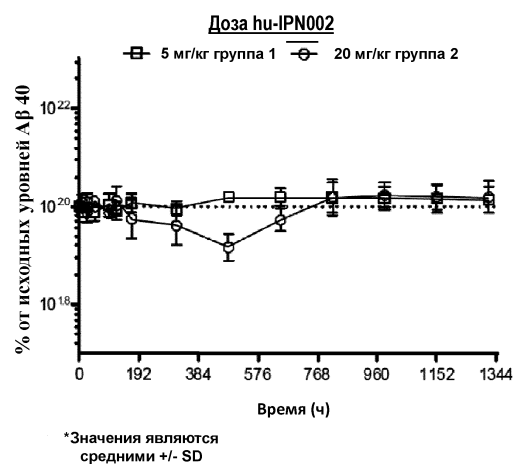


Фиг. 23

Средняя hu-CSF концентрация свободного eTau в CSF
(выражена в процентах от значений исходных уровней)

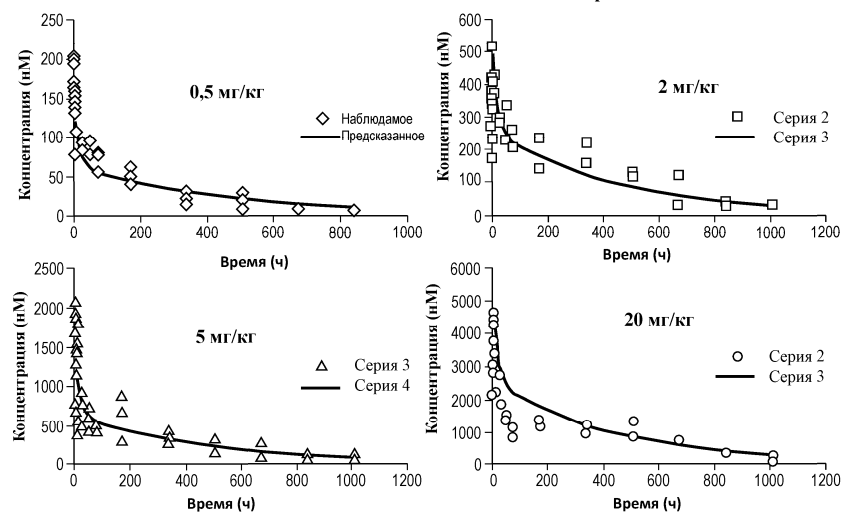
Фиг. 24

Средние уровни А β 40 в CSF
(выражены в процентах от значений исходных уровней)



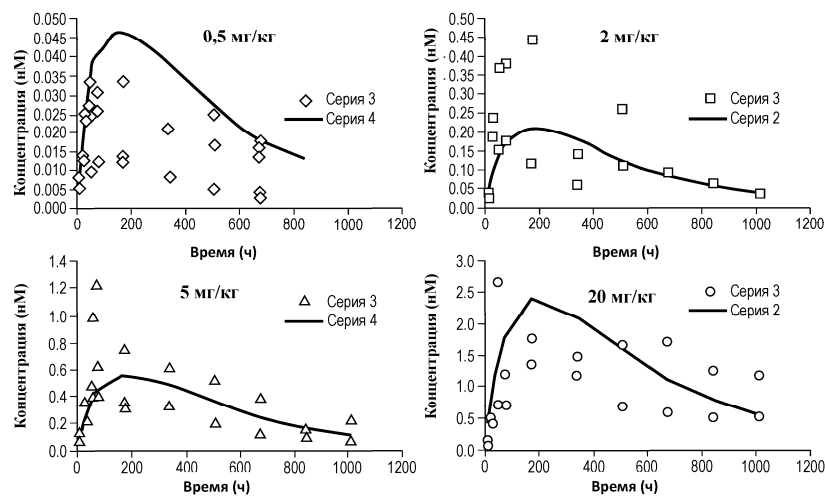
Фиг. 25

Апроксимированные кривые в сравнении с наблюдаемыми данными
для свободного hu-IPN 002 в сыворотке

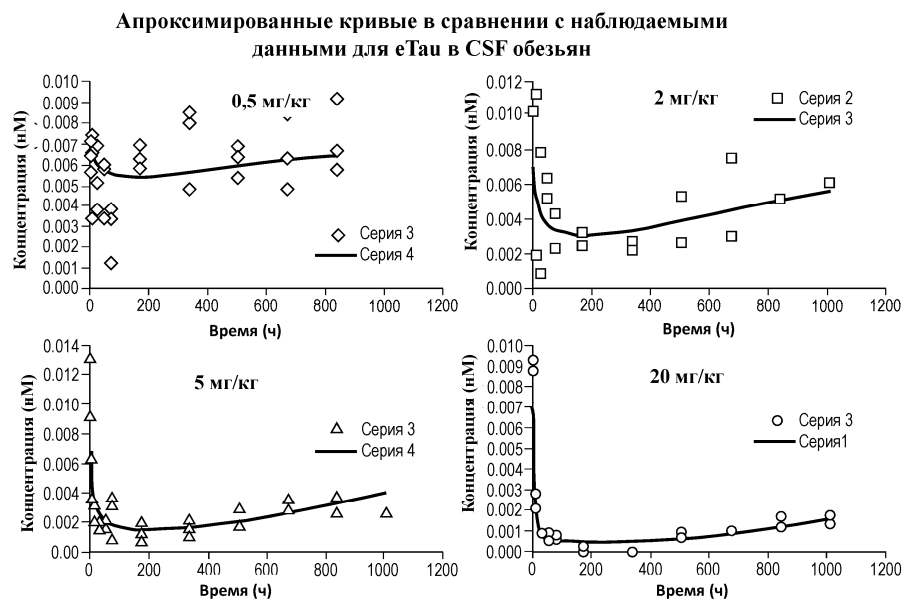


Фиг. 26

Апроксимированные кривые в сравнении с наблюдаемыми данными
для свободного hu-IPN 002 в CSF

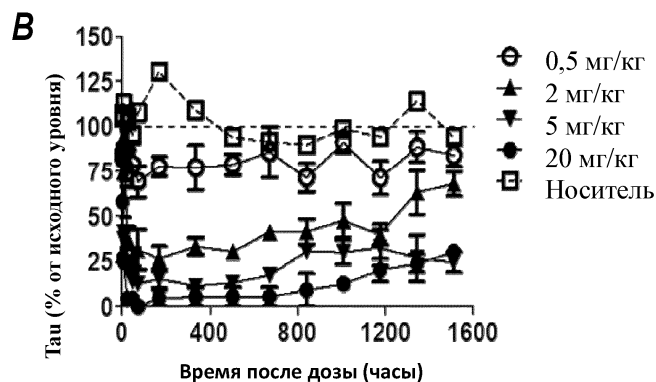
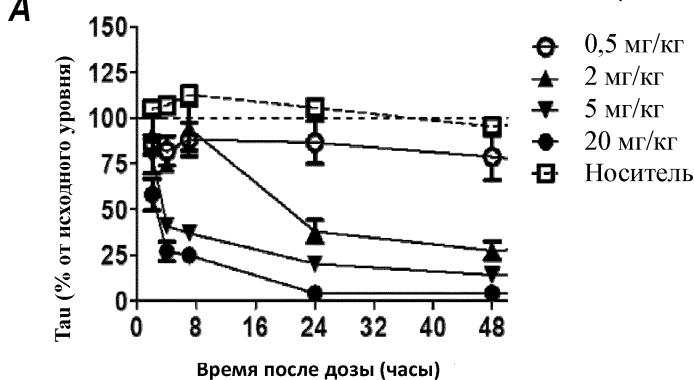


Фиг. 27



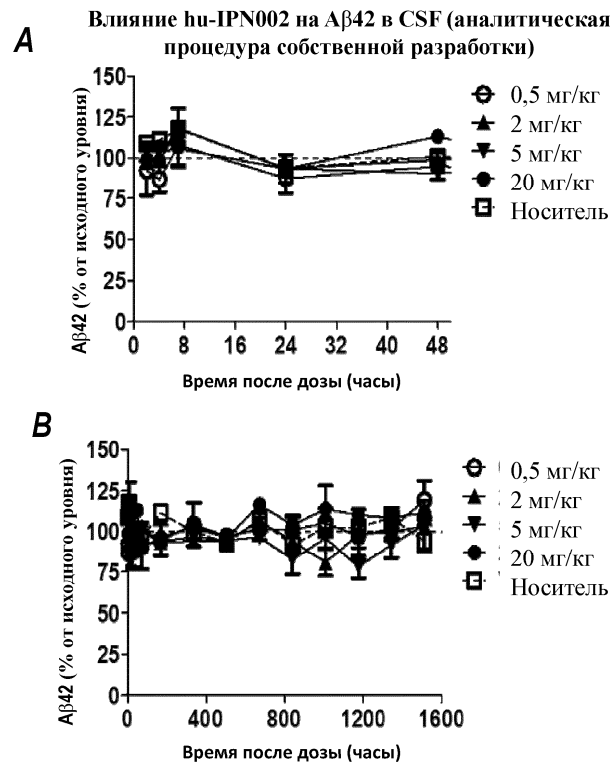
Фиг. 28

А Влияние hu-IPN002 на свободный eTau (Tau12-BT2) в CSF (Tau12-BT2)



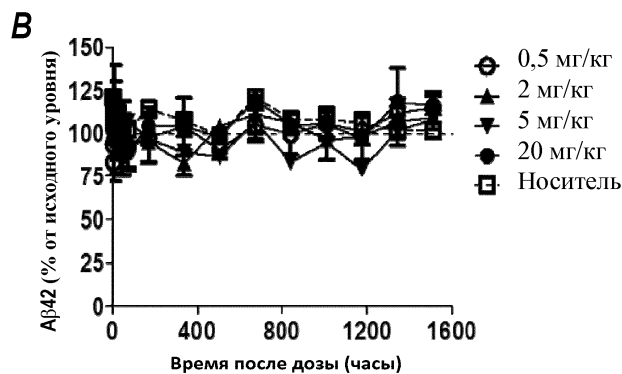
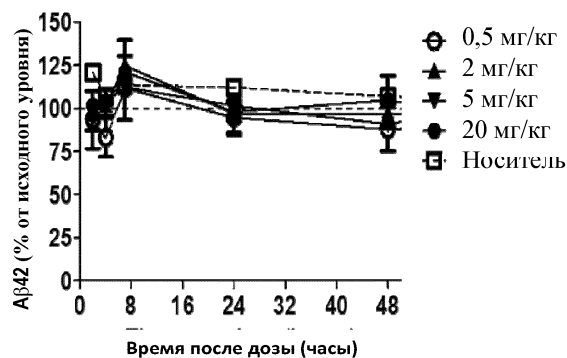
Зависание от дозы и времени снижения свободного eTau (Tau12-BT2) в CSF после внутривенной инфузии 0, 0,5, 2, 5 или 20 мг/кг hu-IPN002. Уровни Tau нормализованы по отношению к исходным уровням для каждого животного. Показаны временные точки 0-48 часов (верхняя панель) и полное время курса (нижняя панель). Данные представляют среднее $\pm$ SEM от 2-3 животных, за исключением носителя ($n = 1$). Данные по отдельным животным включены в Приложение.

Фиг. 29



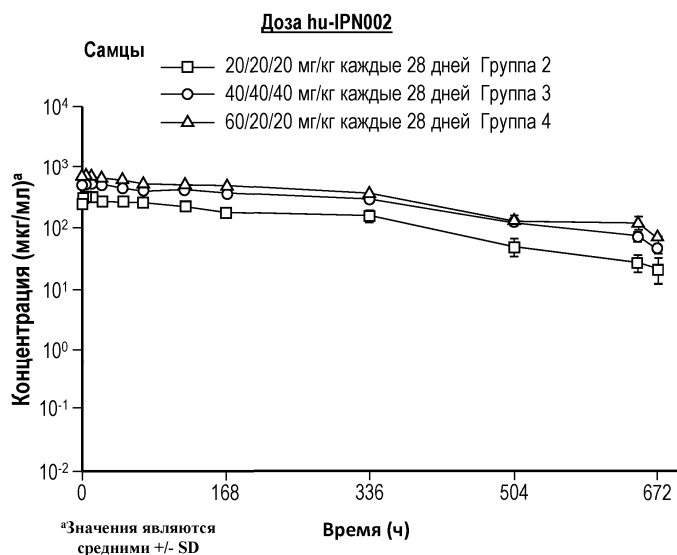
Зависимость от дозы и времени снижения A β 42 в CSF (анализ собственной разработки) после внутривенной инфузии 0, 0,5, 2, 5 или 20 мг/кг hu-IPN002. Уровни A β 42 нормализованы по отношению к исходным уровням для каждого животного. Показаны временные точки 0–48 часов (верхняя панель) и полное время курса (нижняя панель). Данные представляют среднее $\pm$ SEM от 2–3 животных, за исключением носителя (n = 1). Данные по отдельным животным включены в Приложение.

Фиг. 30

А Влияние hu-IPN002 на Aβ42 в CSF (Millipore)

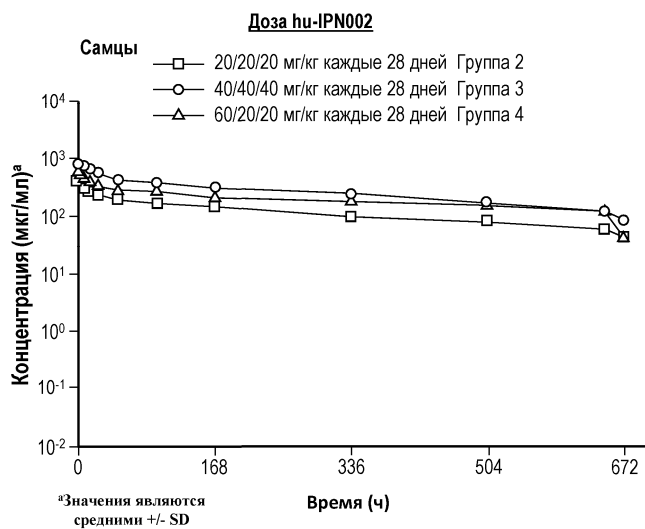
Зависимость от дозы и времени снижения Aβ42 в CSF (анализ Millipore) после внутривенной инфузии 0, 0,5, 2, 5 или 20 мг/кг hu-IPN002. Уровни Aβ42 нормализованы по отношению к исходным уровням для каждого животного. Показаны временные точки 0-48 часов (верхняя панель) и полное время курса (нижняя панель). Данные представляют среднее ± SEM от 2-3 животных, за исключением носителя (n = 1). Данные по отдельным животным включены в Приложение.

Фиг. 31

Средние сывороточные концентрации hu-IPN002 - День 1

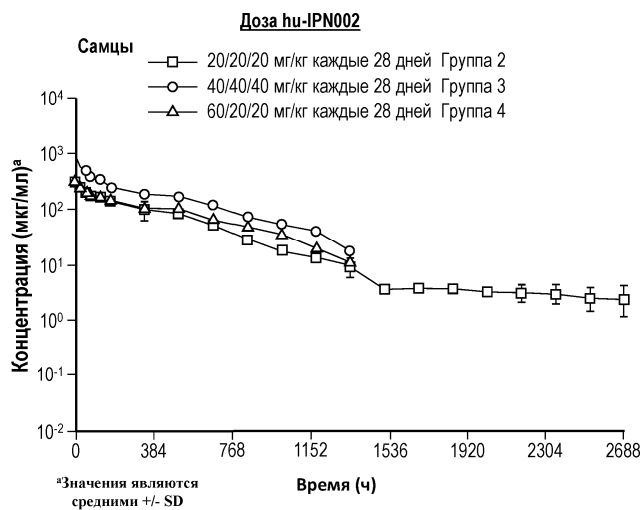
Фиг. 32

Средние сывороточные концентрации hu-IPN002 - День 29



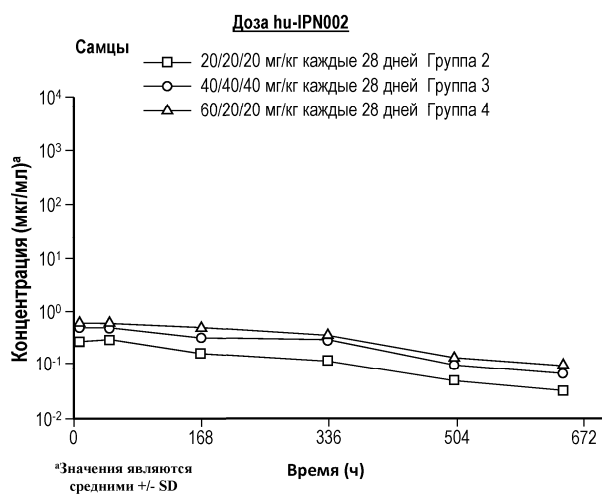
Фиг. 33

Средние сывороточные концентрации hu-IPN002 - День 57



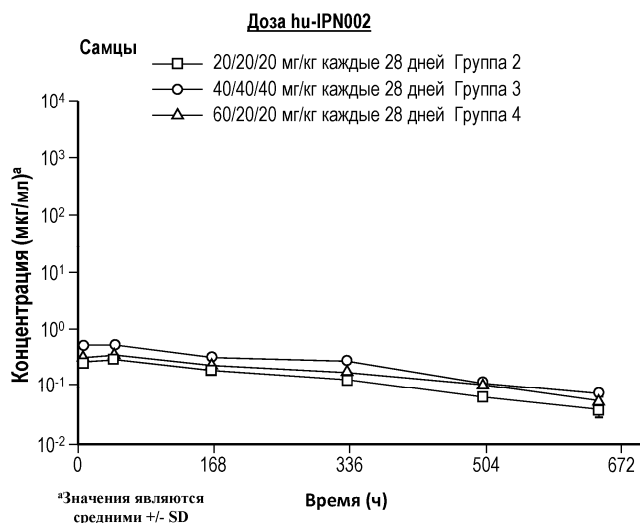
Фиг. 34

Средние сывороточные концентрации hu-IPN002 в CSF - День 1



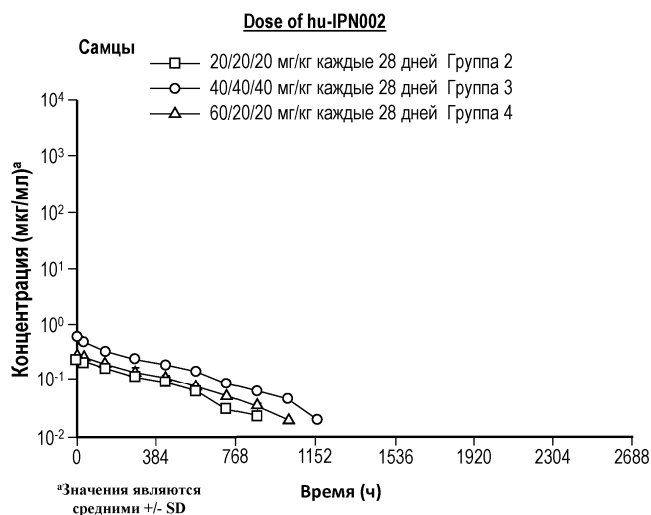
Фиг. 35

Средние сывороточные концентрации hu-IPN002 в CSF - День 29



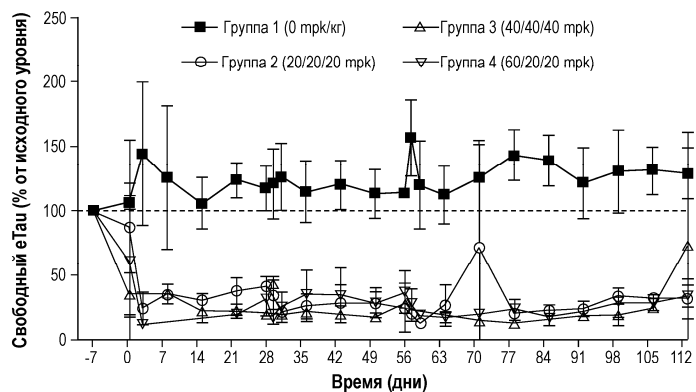
Фиг. 36

Средние сывороточные концентрации hu-IPN002 в CSF - День 57



Фиг. 37

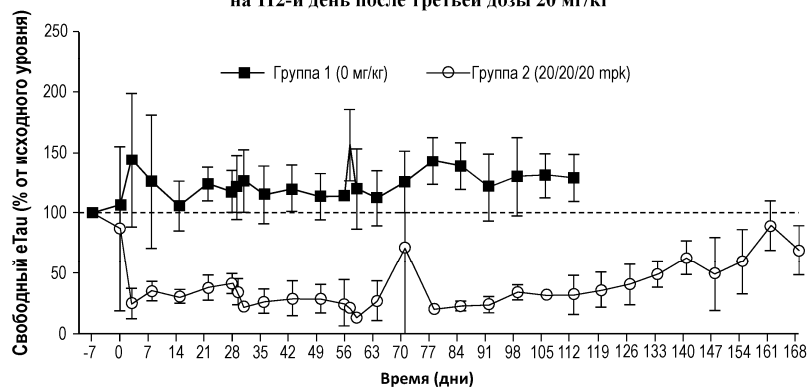
hu-IPN002 устойчиво снижает eTau в CSF яван.макака после IV инфузии



Уровни свободного eTau в CSF были измерены с помощью ELISA, и значительные снижения были отмечены в течение всего времени. Значения представляют собой среднее $\pm$ стандартное отклонение

Фиг. 38

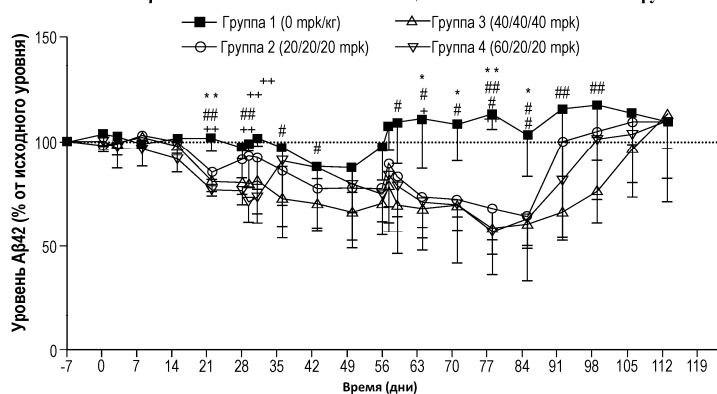
Свободный eTau в CSF возвращается почти до исходных уровней на 112-й день после третьей дозы 20 мг/кг



Уровни свободного eTau в CSF были измерены с помощью ELISA в группе животных 2, в которой измерения продолжались до дня 169. Значения представляют собой среднее $\pm$ стандартное отклонение.

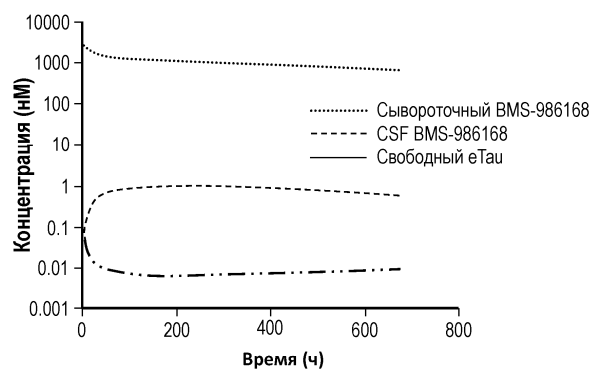
Фиг. 39

Снижение A β 42 в CSF яван.макака с помощью hu-IPN002 после IV инфузии



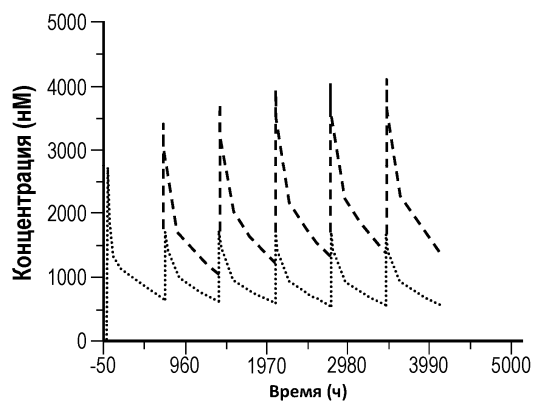
Уровни A β 42 измеряли в образцах A β после лечения hu-IPN002. Значительные снижения в уровнях A β 42 были замечены в различных временных точках для каждой из групп лечения, как измерено t-тестом каждой группы относительно носителя, в той же временной точке. *, **, *** Указывают значения $p < 0,05$, $0,01$ или $0,001$, соответственно, в группе 2 подопытных животных. #, ##, ### Указывают значения $p < 0,05$, $0,01$ или $0,001$, соответственно, в группе 3 подопытных животных. +, ++, +++ указывают значения $p < 0,05$, $0,01$ или $0,001$, соответственно, в группе 4 подопытных животных. Значения представляют собой среднее $\pm$ стандартное отклонение.

Фиг. 40



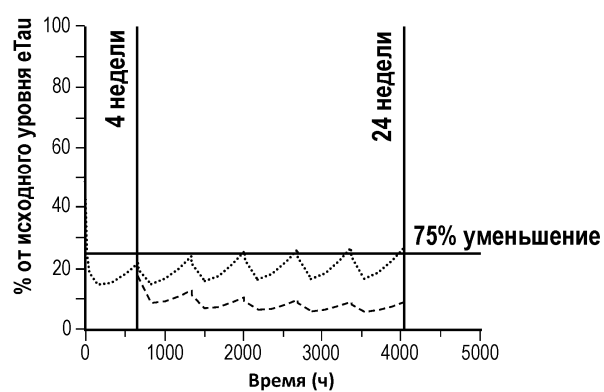
Смоделированные концентрации свободного hu-IPN002 в сыворотке и CSF и свободного eTau у людей после 10 мкг внутривенного введения.

Фиг. 41



Прогнозируемый профиль концентрация-время плазмы крови человека после режима дозирования 700 мг Q4W (тире) и 700 мг нагрузочной дозы + 280 мг Q4W (точка)

Фиг. 42



Прогнозируемый профиль концентрация-время для e-Tau в плазме крови человека после режима дозирования 700 мг Q4W (тире) и 700 мг нагрузочной дозы + 280 мг Q4W (точка)

Фиг. 43



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2