

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202193183** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.02.21

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.05.20

(54) **ТЕРАПИЯ С ПОМОЩЬЮ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БЕТА-АМИЛОИДА**

(31) 19175810.1; 19185593.1; 20171549.7;
20172205.5

(72) Изобретатель:
Пфайфер Андреа, Мус Андреас (CH)

(32) 2019.05.21; 2019.07.10; 2020.04.27;
2020.04.29

(74) Представитель:
**Парамонова К.В., Угрюмов В.М.,
Христофоров А.А., Гизатуллин Ш.Ф.,
Гизатуллина Е.М., Костюшенкова
М.Ю., Строкова О.В., Прищепный
С.В. (RU)**

(33) EP

(86) PCT/EP2020/064172

(87) WO 2020/234405 2020.11.26

(71) Заявитель:
АС ИММЬОН СА (CH)

(57) Липосомальная вакцинная композиция, содержащая а) полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген, представленный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислот 1-15 A β , b) адъювант, содержащий монофосфорил-липид А (MPLA), применяют для индукции иммунного ответа в отношении A β у субъекта-человека без индукции серьезного неблагоприятного явления. Полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген (SEQ ID NO: 1) вводят в количестве, составляющем 300-2000 мкг, предпочтительно около 1000 мкг. MPLA вводят в количестве, составляющем 15-600 мкг, предпочтительно около 175 мкг. Липосомальную вакцинную композицию вводят внутримышечно или подкожно.

A1

202193183

202193183

A1

ТЕРАПИЯ С ПОМОЩЬЮ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БЕТА-АМИЛОИДА

ОПИСАНИЕ

Область техники

Настоящее изобретение относится к терапевтическим вакцинам против бета-амилоида и их применению в индукции иммунного ответа против А β без индукции серьезных неблагоприятных явлений. Такие вакцины являются пригодными для лечения и предупреждения заболеваний, в частности, заболевания или состояния, ассоциированного с бета-амилоидом, или состояния, характеризующегося или ассоциированного с потерей когнитивных способностей и памяти, такого как болезнь Альцгеймера (AD) и синдром Дауна (DS), в том числе связанная с синдромом Дауна болезнь Альцгеймера. Вакцины включают полученные из А β пептидные антигены на наружной поверхности липосомы.

Уровень техники

Болезнь Альцгеймера (AD) представляет собой разрушительное прогрессирующее дегенеративное нарушение, характеризующееся потерей когнитивных функций, в том числе памяти, а также потерей способности к осуществлению обычной повседневной деятельности. AD поражает примерно 40 миллионов пациентов во всем мире, причем количество быстро растет по мере старения популяции. Основным невропатологическим изменением в головном мозге пациентов с AD является гибель нейронов, преимущественно, в областях, связанных с памятью и когнитивной деятельностью (Soto, 1999). Одним из наиболее выраженных патологических признаков AD является обильное присутствие бляшек бета-амилоида (abeta, A β , β -амилоид, А β) в головном мозге пораженных заболеванием индивидов (Soto, 1999). Бляшки А β образованы пептидом А β длиной 39-43 аминокислоты, который находится в конформации статистического клубка в своей природной непатогенной форме. Во время перехода в патологическое состояние он преимущественно трансформируется во вторичную структуру β -листа, спонтанно агрегирующую в нерастворимые отложения.

Несколько доступных в настоящее время средств для лечения AD по своему характеру действия считаются преимущественно симптоматическими. Несмотря на значительные усилия, направленные на разработку средств для лечения в течение последних лет, никаких модифицирующих заболевание средств для лечения AD не было одобрено до настоящего времени. Были предприняты попытки по разработке иммунотерапевтического средства, которое будет нейтрализовать патологический А β в

пораженном заболеванием головном мозге в течение длительного периода времени (Winblad, 2014). Вакцины обеспечивают преимущество, заключающееся в стимуляции иммунной системы к выработке пула немного отличающихся, но очень специфичных антител, в то время как ответ может дополнительно повторно вызываться дополнительными вакцинациями, если это необходимо.

Тем не менее, подход к активной иммунизации (вакцинации) против А β предполагает несколько основных сложностей. Бета-амилоид представляет собой так называемый аутоантиген, который постоянно доступен организму человека. Таким образом, достаточно сложно преодолеть иммунологическую толерантность и индуцировать гуморальный иммунный ответ в отношении него. Кроме того, достаточно сложно индуцировать сильный иммунный ответ на вакцину у пожилых и больных людей, таких как пациенты с AD, вследствие их ослабленной иммунной системы и уменьшенного количества иммунных клеток.

В опубликованном первоначальном исследовании вакцина против полноразмерного А β 1-42 (AN1792) индуцировала гуморальный иммунный ответ и демонстрировала обнадеживающую эффективность, обеспечивая меньшую скорость снижения когнитивных способностей у пациентов, которые подверглись вакцинации, чем у пациентов, получавших обработку плацебо (Gilman, 2005). Тем не менее, у 6% получавших лечение пациентов развивался менингоэнцефалит - воспалительная реакция, которая, как полагают, обусловлена опосредуемой Т-клетками реакцией в отношении полноразмерного А β 1-42 (Orgogozo, 2003).

Еще одна известная вакцина против А β , ACI-24, содержит последовательность из 15 аминокислот, которая полностью идентична человеческой последовательности 1-15 аминокислот А β (международная заявка WO2007/068411). Этот пептидный антиген связан с липосомальным носителем для того, чтобы стимулировать выработку антител к А β , в то же время избегая менингоэнцефалита и кровоизлияния (Muhs, 2007, Pihlgren, 2013). Выбор пептида А β 1-15, служащего в качестве антигена, основывался на том факте, что эта последовательность содержит В-клеточный эпитоп, но в ней отсутствует вызывающий сильную Т-клеточную реакцию участок из полноразмерного А β 1-42 (Monsonogo, 2003), последний считают причиной нежелательных воспалительных реакций. Было показано, что ACI-24 действует посредством одновременной активации В-клеточного рецептора, специфичного в отношении А β 1-15, и Toll-подобного рецептора 4 (TLR4), причем последний активируется под действием адьюванта в виде монофосфорил-липид А (MPLA), присутствующего в вакцине ACI-24 (Pihlgren, 2013). В-клетки активируются для

пролиферации и выработки иммуноглобулинов (Ig) при перекрестном связывании с Ig рецептором на поверхности В-клеток.

Синдром Дауна (DS), также известный как трисомия по 21 хромосоме, является одной из наиболее распространенных причин умственной отсталости, поражая 1 из 800 новорожденных. Это состояние чаще всего включает утроение хромосомы 21 (Belichenko, 2016). Субъекты с DS имеют характерные черты лица, недостаточности иммунной и эндокринной систем и задержку когнитивного развития. Значительные улучшения в медицинской помощи и понимании состояния не только улучшили качество жизни для субъектов с DS, но также значительно увеличили продолжительность их жизни. В настоящее время субъекты с DS имеют показатели смертности вплоть до возраста 35 лет, сравнимые с субъектами с умственной отсталостью по другим причинам. Тем не менее, после возраста 35 лет показатель смертности удваивается каждые 6,4 года для субъектов с DS по сравнению с периодом 9,6 года для людей без DS. Средняя ожидаемая продолжительность жизни для субъектов DS составляет 60 лет по сравнению со средним показателем 79 лет для общей популяции в США.

Ключевым признаком у взрослых субъектов с DS является повышенный риск развития у них клинических симптомов, подобных болезни Альцгеймера (AD), которые характеризуются ухудшением в специфических когнитивных сферах, указывающим на диагноз деменция. Практически все субъекты с DS старше 40 лет демонстрируют невропатологические изменения, подобные AD, в виде образования сенильных бляшек и нейрофибриллярных клубков (Head, 2012). Хорошо известно, что невропатологические механизмы AD-подобного снижения когнитивных способностей включают отложение пептида β -амилоида (A β) и последующее образование бляшек, нейрофибриллярных клубков, повреждение сосудов, воспаление нервной ткани и, в конечном итоге, гибель нервных клеток. Ген белка-предшественника амилоида (APP), который кодирует белок-предшественник A β , находится на 21 хромосоме. У субъектов с DS вся 21 хромосома или по меньшей мере ее часть присутствует в трех экземплярах. Следовательно, это приводит к наличию трех копий гена, который кодирует APP, что приводит в результате к образованию избытка A β . Было показано, что повышенная выработка белка A β коррелирует с AD-подобными симптомами у субъектов с DS, также как и в общей популяции, у которой развивается AD (Head, 2012). Эти результаты убедительно показывают, что сверхэкспрессия APP дикого типа в течение всей жизни вызывает снижение когнитивных способностей у субъектов с DS аналогично гипотезе «амилоидного каскада», используемой для описания субъектов с AD. Связанная с синдромом Дауна болезнь Альцгеймера характеризуется присутствием в головном мозге

невропатологических отличительных признаков болезни Альцгеймера (включающих в себя, в частности, накопление амилоидных бляшек и нейрофибриллярных клубков в головном мозге), которые в случае значительного развития очагов в головном мозге могут приводить к появлению клинических симптомов, подобных снижению когнитивных способностей и функциональному нарушению.

Ухудшение когнитивной функции в случае субъектов с DS происходит в течение нескольких лет перед тем, как им ставят диагноз деменция. Снижение когнитивных способностей подразделяют на три категории: легкое, умеренное и тяжелое. Легкое снижение когнитивных способностей часто характеризуется заметными провалами в памяти, которые оказывают влияние на повседневную жизнь, а также изменениями в поведении. Умеренное снижение когнитивных способностей характеризуется повышенной потерей памяти, которая затрагивает события из более далекого прошлого, значительными изменениями личности, вызванными тревожным возбуждением и спутанностью сознания, изменениями в режиме сна и потребностью в помощи в повседневной жизни. Тяжелое снижение когнитивных способностей может означать потерю способности к общению, сильное ухудшение физических способностей и потребность в постоянной круглосуточной помощи для выполнения обычных повседневных задач. О таких симптомах, как апраксия и агнозия, сообщают у 28% субъектов с DS к возрасту 30 лет, также как и об изменениях личности и поведения (Head, 2012). Раннее отложение $A\beta$ может быть связано с малозаметными ухудшениями эпизодической памяти и/или исполнительной функции, называемыми легким когнитивным нарушением (Hartley, 2017). Недавнее исследование методом позитронно-эмиссионной томографии с применением меченого изотопом $[^{11}C]$ Питтсбургского соединения В (PiB) для измерения амилоидной нагрузки в головном мозге у субъектов с DS показало, что повышение общего уровня β -амилоида было связано с ухудшением вербальной эпизодической памяти, зрительной эпизодической памяти, исполнительных функций и скорости выполнения операций с использованием мелкой моторики. Субъекты с DS, которые являлись устойчиво PiB+, демонстрировали ухудшение эпизодической памяти, тогда как те субъекты, которые являлись устойчиво PiB-, показывали стабильные или улучшенные характеристики (Hartley, 2017). Диагностирование снижения когнитивных способностей в популяции с DS может являться сложным, поскольку оно кажется подобным симптомам умственной отсталости, по этой причине исследуют улучшенные способы диагностики. Диагностику дополнительно осложняет то, что ранние симптомы не проявляются единообразно. Например, потеря памяти является ключевым

ранним клиническим симптомом развития деменции, но это не оказывается верным для популяции с DS.

Современное лечение в случае снижения когнитивных способностей при DS является очень ограниченным, причем большинство исследований сосредоточены на деменции или AD. Терапевтические средства, которые были изучены и продемонстрировали перспективность для этих показаний, такие как ингибиторы холинэстеразы, к настоящему времени показали слабую эффективность у субъектов с DS, испытывающих снижение когнитивных способностей (Prasher, 2002). В отличие от AD, средства для иммунотерапии, целенаправленно воздействующие на A β , не применяются столь широко при DS.

В международной заявке WO2013/044147 и в Belichenko (2016) описана вакцинация Ts65Dn мышей, модели для DS, вакциной, содержащей пептид A β 1-15, встроенный в липосомы.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение является результатом клинических испытаний вакцины ACI-24, содержащей антиген для образования антител к бета-амилоиду (антител к A β) (содержащий аминокислоты 1-15 в последовательности человеческого A β) и адьювант MPLA в липосомальном составе. Вакцина была способна индуцировать титры антител к бета-амилоиду у субъектов-людей с AD (AD со степенью тяжести от легкой до умеренной) в двух наиболее высоких исследуемых дозах (300 и 1000 мкг антигена) без индукции серьезного неблагоприятного явления (SAE), связанного с исследуемым средством для лечения (исследуемым продуктом). Более конкретно, вакцина была способна индуцировать титры антител к бета-амилоиду у субъектов-людей с AD (AD со степенью тяжести от легкой до умеренной) при введении в количестве 300 и 1000 мкг антигена в сочетании со следующими клиническими наблюдениями:

- безопасность оценивали как хорошую при исследовании во всех исследуемых дозах;
- не наблюдали SAE, связанных с исследуемым средством для лечения;
- отсутствовали сигналы о воспалении ЦНС или других важных нежелательных реакциях на вакцину;
- не наблюдали ARIA-E и ARIA-H (1 мелкий очаг с низким сигналом, характерным для последствий кровоизлияния, который предположительно вызван микрокровоизлиянием, наблюдали при дозе 100 мкг ACI-24 (возможный артефакт) у одного пациента с AD);

- отсутствовали признаки развития менингоэнцефалита;
- не наблюдали активацию Т-клеток и индукцию воспалительных цитокинов.

Аналогично, вакцина была способна индуцировать титры антител к бета-амилоиду у субъектов-людей с DS при обеих исследуемых дозах (300 и 1000 мкг антигена) без индукции серьезного неблагоприятного явления (SAE), связанного с исследуемым средством для лечения (исследуемым продуктом). Более конкретно, вакцина была способна индуцировать титры антител к бета-амилоиду у субъектов-людей с DS при введении в количестве 300 и 1000 мкг антигена с ранним началом ответа (первое повышение титров наблюдали через 4 недели) и ревакцинаторным эффектом со временем (который измеряли с помощью иммуноанализа Meso Scale Discovery (MSD)) в сочетании со следующими клиническими наблюдениями:

- безопасность оценивали как хорошую в исследовании во всех исследуемых дозах до настоящего времени;
- не сообщалось о SAE;
- отсутствовали сигналы о воспалении ЦНС или других важных нежелательных реакциях на вакцину;
- не наблюдали ARIA-E и ARIA-H;
- отсутствовали признаки развития менингоэнцефалита;
- до настоящего времени не наблюдали активацию Т-клеток и индукцию воспалительных цитокинов.

Соответственно, настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа с выработкой антител к A β у субъекта-человека без индукции серьезного неблагоприятного явления (т.е. SAE, вызванного лечением), причем способ предусматривает введение субъекту-человеку липосомальной вакцинной композиции, содержащей:

- а. полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген, представленный на поверхности липосомы, который содержит, состоит, по существу, из или состоит из аминокислот 1-15 A β ,
- б. адъювант, содержащий монофосфорил-липид А (MPLA),
причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводят в количестве, составляющем 300-2000 мкг.

Такие способы также могут быть выражены в форме медицинского применения. Соответственно, настоящее изобретение также относится к липосомальной вакцинной композиции, содержащей:

a. полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген, представленный на поверхности липосомы, который содержит, состоит, по существу, из или состоит из аминокислот 1-15 A β ,

b. адъювант, содержащий монофосфорил-липид A (MPLA),

для применения в индукции иммунного ответа с выработкой антител к A β у субъекта-человека без индукции серьезного неблагоприятного явления (т.е. SAE, вызванного лечением), причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводят в количестве, составляющем 300-2000 мкг.

Аналогично, настоящее изобретение относится к применению липосомальной вакцинной композиции, содержащей:

a. полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген, представленный на поверхности липосомы, который содержит, состоит, по существу, из или состоит из аминокислот 1-15 A β ,

b. адъювант, содержащий монофосфорил-липид A (MPLA),

в производстве лекарственного препарата для применения в индукции иммунного ответа с выработкой антител к A β у субъекта-человека без индукции серьезного неблагоприятного явления (т.е. SAE, вызванного лечением), причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводят в количестве, составляющем 300-2000 мкг.

Все варианты осуществления в настоящем документе относятся к таким способам или медицинским применениям независимо от определения.

Как представлено выше во вводной части и более подробно описано в настоящем документе, было продемонстрировано, что липосомальные композиции согласно настоящему изобретению являются безопасными для введения субъектам-людям. Композиции являются безопасными при введении в дозах, которые вызывают благоприятный иммунный ответ с выработкой антител к A β . Безопасность измеряют на основании отсутствия какого-либо серьезного неблагоприятного явления, вызванного введением липосомальной вакцинной композиции. «Серьезное неблагоприятное явление» или «SAE» может быть определено как любое неблагоприятное явление или неблагоприятная реакция, которые приводят в результате к смерти, представляют угрозу жизни, требуют госпитализации или продления существующей госпитализации, приводят в результате к устойчивой или значительной инвалидизации или нетрудоспособности или представляют собой врожденную аномалию или порок развития. Фраза «представляющий

угрозу жизни» в определении серьезного неблагоприятного явления относится к явлению, при котором субъект имел риск смерти во время явления. Она не относится к явлению, которое гипотетически могло вызвать смерть, если бы оно было более тяжелым. Важные неблагоприятные явления/реакции, которые не представляют непосредственной угрозы жизни или не приводят в результате к смерти или госпитализации, но могут подвергать субъекта опасности или могут требовать вмешательства с целью предупреждения одного из других результатов, упомянутых в определении выше, также следует рассматривать как серьезные. Несмотря на то что интерпретация таких явлений требует медицинской оценки, исследователи, участвующие в клинических испытаниях на людях, способны определять, произошло ли серьезное неблагоприятное явление во время клинического испытания, и связано ли оно с введением липосомальной вакцинной композиции. Во избежание неоднозначности толкования, представляется возможным, что у заданного субъекта может возникать серьезное неблагоприятное явление, которое не является связанным (индуцированным или вызванным) с введением липосомальной вакцинной композиции. Это не исключается настоящим изобретением.

Конкретные SAE, которые не индуцируются при введении липосомальных композиций согласно настоящему изобретению, включают в себя:

- воспаление ЦНС или другие важные нежелательные реакции на вакцину;
- ARIA-E и ARIA-H;
- менингоэнцефалит;
- активацию Т-клеток и индукцию воспалительных цитокинов.

Под «активацией Т-клеток» в контексте липосомальных композиций согласно настоящему изобретению подразумевают А β -специфичную активацию Т-клеток. Как обсуждалось выше, в предшествующем исследовании (Orgogozo, 2003) у некоторых пациентов развивалась воспалительная реакция, которая, как считают, обусловлена опосредованным Т-клетками ответом в отношении полноразмерного А β 1-42. Этого опосредованного Т-клетками ответа в отношении полноразмерного А β 1-42 избегают при применении липосомальных композиций согласно настоящему изобретению, которые имеют в основе А β 1-15. А β -специфичную активацию Т-клеток можно оценить с применением метода иммуноферментных пятен (ELISpot), представляющего собой тип анализа, который фокусируется на количественном измерении частоты секреции цитокинов для отдельной клетки.

Связанные с амилоидом аномалии визуализации (ARIA) представляют собой аномальные сигналы, наблюдаемые при нейровизуализации у пациентов с болезнью Альцгеймера, которые ассоциированы с модифицирующими амилоид терапевтическими

средствами. ARIA-E относится к отеку головного мозга, включающему разрушение плотных контактов в эндотелии гематоэнцефалического барьера и последующее накопление жидкости. ARIA-H относится к мозговым микрокровоизлияниям (mH), небольшим кровоизлияниям в головном мозге, часто сопровождаемым гемосидерозом.

SAE могут отсутствовать в течение периода, во время которого вводят липосомальную вакцинную композицию. SAE могут отсутствовать в течение подходящего периода времени после окончательного введения липосомальной вакцинной композиции. Например, SAE могут отсутствовать спустя 12, 24, 36 или 48 недель или 1, 2 или 3 года после окончательного введения липосомальной вакцинной композиции.

Как представлено в настоящем документе, и если не определено иное, величины дозы относятся к вводимому в дозе количеству полученного из β -амилоида (A β) пептидного антигена в липосомальной вакцинной композиции. Таким образом, в случае ACI-24, если не определено иное, дозировки выражают по отношению к тетрапальмитоилированному бета-амилоиду 1-15, который описан в настоящем документе, а также в SEQ ID NO: 1:

SEQ ID NO: 1 - тетрапальмитоилированный бета-амилоид 1-15

H-Lys(пальмитоил)-Lys(пальмитоил)-Asp-Ala-Glu-Phe-Arg-His-Asp-Ser-Gly-Tyr-Glu-Val-His-His-Gln-Lys(пальмитоил)-Lys(пальмитоил)-OH

В случаях, когда определены конкретные значения, на эти значения распространяются производственные допуски, что будет понятно специалисту в данной области техники. Как правило, определенная доза охватывает 15% колебание в обе стороны относительно указанного значения. Например, определенная доза 1000 мкг полученного из β -амилоида (A β) пептидного антигена включает от 850 до 1150 мкг полученного из β -амилоида (A β) пептидного антигена. Липосомальные вакцинные композиции, которые описаны в настоящем документе, являлись безопасными, когда полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводили в количестве, составляющем 10-1000 мкг. Тем не менее, дозы, составляющие по меньшей мере 300 мкг, требовались для того, чтобы вызвать иммунный ответ с выработкой антител к A β . Две наиболее высокие вводимые дозы (300 мкг и 1000 мкг) приводили в результате к измеримому иммунному ответу с выработкой антител к A β . Ответ являлся потенциально дозозависимым. Термин «иммунный ответ с выработкой антител к A β » относится к выработке антител к A β , которые связываются с A β у субъекта-человека, в ответ на введение липосомальной вакцинной композиции. Таким образом, ответ также может

называться гуморальным иммунным ответом в отношении А β . Антитела могут содержать антитела изотипа IgM. Антитела предпочтительно содержат антитела изотипа IgG. Гуморальный иммунный ответ, как правило, является поликлональным. Этот ответ можно измерить в подходящих образцах, взятых у субъекта-человека, таких как содержащие сыворотку крови образцы. Таким образом, образец может содержать образец крови или может быть получен из него. Антитела предпочтительно связываются с патологическими формами А β , определенными как формы А β , которые содержат мультимеры в виде β -листов. Вырабатываемые антитела, следовательно, можно назвать «А β -специфичными» антителами. Иммунный ответ с выработкой антител к А β можно измерить с помощью любого подходящего способа, такого как ELISA. Например, иммунный ответ с выработкой антител к А β можно измерить с помощью способа, при котором А β , такой как А β 1-42, наносят в виде покрытия на твердую подложку, на которую наносят образец от субъекта-человека. Вторичное антитело можно применять для выявления связывания антител из образца с иммобилизованным А β . Такие способы могут являться количественными. Вторичное антитело может представлять собой антитело к Ig, что, следовательно, позволяет выявлять все изотипы. Вторичное антитело может представлять собой антитело к IgG. Это может позволить измерять титры А β -специфичных IgG.

Таким образом, в соответствии со всеми аспектами настоящего изобретения полученный из β -амилоида (А β) пептидный антиген (дозировка представлена из расчета на тетрапальмитоилированный бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 1) вводят в количестве, составляющем 300-2000 мкг. Эта дозировка сочетает безопасность (не индуцирует SAE) со способностью вызывать иммунный ответ с выработкой антител к А β . Поскольку иммунный ответ с выработкой антител к А β повышается, а безопасность сохраняется при более высоких исследуемых дозах, преимущественными могут являться более высокие дозировки в пределах этого диапазона. Например, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления полученный из β -амилоида (А β) пептидный антиген вводят в количестве, составляющем 500-2000 мкг, предпочтительно, 1000-1500 мкг. В соответствии с определенными вариантами осуществления полученный из β -амилоида (А β) пептидный антиген (дозировка представлена из расчета на тетрапальмитоилированный бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 1) вводят в количестве, составляющем 1000 мкг. В соответствии с предпочтительными вариантами осуществления полученный из β -амилоида (А β) пептидный антиген с SEQ ID NO: 1 (тетрапальмитоилированный бета-амилоид 1-15) вводят в количестве, составляющем 300-2000 мкг.

Как будет хорошо понятно специалисту в данной области техники, в качестве альтернативы, дозировки могут быть выражены из расчета на эквивалентное количество бета-амилоида 1-15 отдельно (т.е. без лизиновых остатков и пальмитоилирования), который описан в настоящем документе, а также в SEQ ID NO: 2:

SEQ ID NO: 2 - бета-амилоид 1-15

H-Asp-Ala-Glu-Phe-Arg-His-Asp-Ser-Gly-Tyr-Glu-Val-His-His-Gln-OH

Таким образом, в соответствии с некоторыми аспектами настоящего изобретения полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген (дозировка представлена из расчета на бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 2) вводят в количестве, составляющем 152-1016 мкг (что эквивалентно 300-2000 мкг тетрапальмитоилированного бета-амилоида 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 1). Эта дозировка сочетает безопасность (не индуцирует SAE) со способностью вызывать иммунный ответ с выработкой антител к A β . Поскольку иммунный ответ с выработкой антител к A β повышается, а безопасность сохраняется при более высоких исследуемых дозах, преимущественными могут являться более высокие дозировки в пределах этого диапазона. Например, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген (дозировка представлена из расчета на бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 2) вводят в количестве, составляющем 255-1016 мкг, предпочтительно, 510-767 мкг. В соответствии с определенными вариантами осуществления полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген (дозировка представлена в расчете на бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 2) вводят в количестве от 130 до 177 мкг, предпочтительно, 152 мкг. В соответствии с определенными вариантами осуществления полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген (дозировка представлена в расчете на бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 2) вводят в количестве, составляющем 432-588 мкг, предпочтительно, 510 мкг. В соответствии с определенными вариантами осуществления полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген (дозировка представлена в расчете на бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 2) вводят в количестве, составляющем 510 мкг. В соответствии с определенными вариантами осуществления полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген с SEQ ID NO: 2 вводят в количестве, составляющем 152-1016 мкг.

Дополнительные благоприятные эффекты, наблюдаемые при введении липосомальных вакцинных композиций согласно настоящему изобретению в

определенных дозах, включают в себя дозозависимое снижение амилоидной нагрузки в головном мозге (которую измеряют с помощью ПЭТ, см. фиг. 1), улучшение когнитивной деятельности, которое измеряют с помощью Краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE) в течение периода лечения (фиг. 2), и улучшение когнитивной деятельности/функции, которое измеряют с помощью CDR-SB в течение периода лечения (фиг. 3). Краткая шкала оценки психического статуса (MMSE) (Folstein 1975) является хорошо известной в данной области; она является наиболее часто применяемым тестом в случае жалоб на проблемы с памятью или другими умственными способностями, и ее применяют практикующие врачи, чтобы помочь выявить когнитивное нарушение и помочь оценить его развитие и тяжесть. Она состоит из ряда вопросов и тестов, за каждый из которых начисляются баллы при правильном ответе. MMSE исследует ряд различных умственных способностей, в том числе память, внимание и характер речи у лица. Оценка составляет от 0 до 30, причем 30 является наилучшей оценкой из возможных, а 0 - наихудшей оценкой из возможных. Как показано на фиг. 2, присутствовало улучшение оценки MMSE в течение периода лечения, когда полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводили в количестве, составляющем 1000 мкг. Нужно отметить, что исследование не сосредотачивалось на этом конкретном параметре.

Клиническая рейтинговая шкала деменции или шкала CDR представляет собой числовую шкалу, применяемую для количественного определения тяжести симптомов AD (т.е. ее «стадии»). Система была разработана медицинским факультетом Вашингтонского университета (Washington University School of Medicine) (Hughes et al 1982) и включает оценку квалифицированным медицинским работником посредством полуструктурного интервью когнитивных и функциональных показателей субъекта-человека в шести областях: память, ориентировка, критическое мышление и способность к решению задач, общественные связи, домашние дела и хобби и личная гигиена. Оценки по каждой из этих областей можно объединять для получения совокупной оценки, находящейся в диапазоне от 0 (отсутствуют симптомы) до 3 (тяжелое состояние), которую называют суммой ячеек (sum of boxes) (CDR-SB). Таким образом, оценка CDR-может находиться в диапазоне от 0 до 18 баллов. Как показано на фиг. 3, присутствовало относительное улучшение CDR-SB в течение периода лечения, когда полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводили в количестве, составляющем 1000 мкг. Нужно отметить, что исследование не сосредотачивалось на этом конкретном параметре.

Дополнительные благоприятные эффекты, наблюдаемые при введении липосомальных вакцинных композиций согласно настоящему изобретению в определенных дозах субъектам с DS, включают в себя раннее начало ответа с

повышением титров антител к А β не позже чем через 4 недели, более раннее появление титров IgG по сравнению с пациентами с AD (по результатам исследования AD, описанного в примере 1), ревакцинационный эффект, наблюдаемый со временем (например, который измеряли с помощью иммуноанализа MesoScale Discovery), и устойчивый ответ у большинства пациентов при наиболее высокой дозе (например, который измеряли с помощью иммуноанализа MesoScale Discovery).

Полученный из А β пептидный антиген представлен на наружной поверхности липосомы. Как правило, это происходит вследствие встраивания в наружную поверхность липосомы. Встраивание в наружную поверхность липосомы может быть облегчено посредством прикрепления полученного из А β пептидного антигена к фрагменту, который встраивается в наружную поверхность липосомы. Липосома может представлять собой любую липосому, которая является подходящей для презентирования полученного из А β пептидного антигена на поверхности. Как правило, фрагмент содержит гидрофобный фрагмент, чтобы обеспечить вставку в липидный бислой липосомы. Фрагмент может представлять собой любой подходящий фрагмент, но, предпочтительно, он представляет собой жирную кислоту. Таким образом, в соответствии с предпочтительными вариантами осуществления полученный из β -амилоида (А β) пептидный антиген является липидированным. Жирная кислота может содержать пальмитоильный остаток. Таким образом, полученный из β -амилоида (А β) пептидный антиген может являться пальмитоилированным. Предпочтительная конструкция содержит полученный из А β пептидный антиген (А β (1-15)), прикрепленный к двум пальмитоильным остаткам в N- и C-концевых участках пептида. Таким образом, пептидный антиген является тетрапальмитоилированным. Этому может способствовать включение двух аминокислотных остатков, таких как лизиновые, в N- и C-концевые участки полученного из А β пептидного антигена. Аминокислотные остатки, такие как лизиновые, являются пальмитоилированными.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления липосома имеет отрицательный поверхностный заряд; липосома является анионной. Предпочтительно, липосома содержит фосфолипиды, и, еще более предпочтительно, фосфолипиды содержат димиристоилфосфатидилхолин (DMPC) и димиристоилфосфатидилглицерин (DMPG). Липосома может дополнительно содержать холестерин. Молярные отношения этих трех компонентов могут составлять 9:1:7 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления.

Таким образом, наиболее предпочтительная конструкция содержит полученный из А β пептидный антиген, растворенный в липосоме. Соответственно, эти композиции

согласно настоящему изобретению, в целом, могут называться в настоящем документе «липосомальными вакцинными композициями согласно настоящему изобретению».

Полученный из А β пептидный антиген индуцирует В-клеточный ответ у субъекта. Он представляет собой «В-клеточный антиген». В-клетки активируются для пролиферации и выработки иммуноглобулинов (Ig) при перекрестном связывании с Ig-рецептором на поверхности В-клеток. Как уже объяснялось, бляшки А β образованы пептидом А β длиной 39-43 аминокислоты, который находится в конформации статистического клубка в своей природной непатогенной форме. Во время перехода в патологическое состояние он преимущественно трансформируется во вторичную структуру β -листа, спонтанно агрегирующую в нерастворимые отложения. Таким образом, полученный из А β пептидный антиген определен в настоящем документе как пептидный антиген, полученный из (максимум) 43 аминокислот из (человеческого) А β , но он не представляет собой полноразмерный А β . Более конкретно, полученный из А β пептидный антиген включает в себя иммунодоминантный В-клеточный эпитоп А β (1-42), но в нем отсутствует Т-клеточный эпитоп, находящийся в А β (1-42). Полученный из А β пептидный антиген содержит, состоит, по существу, из или состоит из 15 смежных аминокислот из 17 N-концевых аминокислот А β . Следует отметить, что полученный из А β пептидный антиген может быть обеспечен в контексте более крупной пептидной молекулы, остальная часть которой не происходит из аминокислотной последовательности А β . Например, пептид может включать в себя дополнительные остатки, такие как лизиновые остатки, для облегчения пальмитоилирования. Эти остатки, как правило, находятся на N- и C-конце пептида. В этом контексте термин «состоит, по существу, из» означает, что полученный из А β пептидный антиген включает в себя 15 смежных аминокислот из 17 N-концевых аминокислот А β , но может включать в себя ограниченное количество дополнительных остатков, как например, четыре лизиновых остатка для облегчения пальмитоилирования. Полученный из А β пептидный антиген содержит, состоит, по существу, из или состоит из аминокислот 1-15 А β , которые можно назвать «А β (1-15)» (международная заявка WO2007/068411, АСI-24).

Полученный из А β пептидный антиген, включенный в композиции согласно настоящему изобретению, принимает вторичную структуру, которая воспроизводит патологическую форму А β . Предпочтительно, полученный из А β пептидный антиген принимает вторичную структуру, содержащую конформацию β -листа. Еще более предпочтительно, полученный из А β пептидный антиген преимущественно принимает конформацию β -листа, когда он представлен на поверхности липосомы.

Полученный из Аβ пептидный антиген, включенный в композиции согласно настоящему изобретению, представляет собой синтетический пептид. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полученный из Аβ пептидный антиген получают с помощью химического синтеза.

Липосомальные вакцинные композиции содержат по меньшей мере один адъювант в виде монофосфорил-липида А (MPLA). Адъюванты на основе липида А получают из липополисахарида (их подвергают химической модификации с целью снижения токсичности), и было доказано, что они являются безопасными и эффективными. Адъювант MPLA, применяемый в настоящем документе, предпочтительно, представляет собой синтетический монофосфорил-липид А (MPLA). Как определено в настоящем документе, термин MPLA включает производные MPLA, такие как монофосфорил-гексаацил-липид А, 3-дезацил (синтетический) (3D-(6-ацил) PHAD[®]), PHAD[®] (фосфорилированный гексаацил-дисахарид) и MPL. Адъювант MPLA может представлять собой агонист Toll-подобного рецептора (TLR), в частности, агонист TLR4. Назначение адъюванта(адъювантов) заключается в повышении или стимуляции иммунного ответа у субъекта. Предпочтительно, по меньшей мере один адъювант MPLA образует часть липосомы; он может образовывать часть липидного бислоя. Адъювант MPLA может быть, по меньшей мере частично, представленным на наружной поверхности липосомы; это может являться следствием того, что адъювант образует часть по меньшей мере наружного слоя в липидном бислое. Липосома может эффективно функционировать в качестве адъюванта при добавлении монофосфорил-липид А (MPLA). Адъювант MPLA, как правило, образует часть наружного слоя липосомы. MPLA, как правило, добавляют во время образования липосом (как объясняется ниже в настоящем документе). Таким образом, предпочтительные липосомы содержат димиристоилфосфатидилхолин (DMPC), димиристоилфосфатидилглицерин (DMPG), холестерин и MPLA. Молярные отношения этих четырех компонентов могут составлять 9:1:7:0,05 в соответствии с некоторыми вариантами осуществления.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения композиции согласно настоящему изобретению содержат два отличающихся адъюванта. Дополнительные адъюванты, которые можно использовать в соответствии с настоящим изобретением, включают в себя гидроксид алюминия (квасцы) и/или CpG среди прочих. Один или несколько адъювантов MPLA, образующих часть липосомы, можно объединять с инкапсулированным адъювантом в соответствии с некоторыми вариантами осуществления. В соответствии с другими вариантами осуществления один или несколько

адьювантов MPLA, образующих часть липосомы, можно смешивать с дополнительным адьювантом (таким как квасцы или CpG) при образовании липосом.

Адьювант MPLA можно включать в композиции в дозе, которая коррелирует с дозой полученного из β -амилоида (A β) пептидного антигена. Таким образом, например, липосомальная вакцинная композиция, в которой полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген (дозировка представлена из расчета на тетрапальмитоилированный бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 1) вводят в количестве, составляющем 1000 мкг (которое может составлять от 850 до 1150 мкг с учетом производственных допусков), может содержать адьювант MPLA, который вводят в количестве, составляющем 175 мкг (которое может составлять от 50 до 300 мкг с учетом производственных допусков), или в количестве, составляющем 225 мкг (которое может составлять от 150 до 300 мкг с учетом производственных допусков). Аналогично, липосомальная вакцинная композиция, в которой полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген (дозировка представлена из расчета на тетрапальмитоилированный бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 1) вводят в количестве, составляющем 300 мкг (которое может составлять от 255 до 345 мкг с учетом производственных допусков), может содержать адьювант MPLA, который вводят в количестве, составляющем 52,5 мкг (которое может составлять от 15 до 90 мкг с учетом производственных допусков), или в количестве, составляющем 67,5 мкг (которое может составлять от 45 до 90 мкг с учетом производственных допусков). Адьювант MPLA можно вводить в количестве, составляющем 15-600 мкг. Эта дозировка способствует безопасности и эффективности (с точки зрения способности вызывать иммунный ответ с выработкой антител к A β) липосомальной вакцинной композиции. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления адьювант MPLA вводят в количестве, составляющем 50-600 мкг, предпочтительно, 150-450 мкг. В соответствии с определенными вариантами осуществления адьювант MPLA вводят в количестве, составляющем 175 мкг. Как представлено в настоящем документе, в случаях, когда определены конкретные значения, на эти значения распространяются производственные допуски, что будет понятно специалисту в данной области техники. Как правило, определенная доза адьюванта MPLA охватывает около 71% колебание в любую сторону относительно указанного значения. В соответствии с другими вариантами осуществления, исходя из разработки маточных растворов MPLA с более узким диапазоном концентраций, адьювант MPLA можно вводить в количестве, составляющем 45-600 мкг. Эта дозировка также способствует безопасности и эффективности (с точки зрения способности вызывать иммунный ответ с выработкой антител к A β) липосомальной

вакциной композиции. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления адъювант MPLA вводят в количестве, составляющем 150-600 мкг, предпочтительно, 200-450 мкг. В соответствии с определенными вариантами осуществления адъювант MPLA вводят в количестве, составляющем 225 мкг. В случае тех вариантов осуществления, в которых определены конкретные значения, на эти значения также распространяются производственные допуски, что будет понятно специалисту в данной области техники. Как правило, определенная доза адъюванта MPLA охватывает около 33% колебание в любую сторону относительно указанного значения.

Липосомальные вакцинные композиции согласно настоящему изобретению можно синтезировать с помощью известных способов. См., например, международные заявки WO2005/081872, WO2012/020124, WO2012/055933 и WO2013/044147, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки.

Липосомальные вакцинные композиции можно вводить субъекту посредством любого подходящего пути введения. Как известно специалисту в данной области техники, вакцинные композиции можно вводить посредством местного, перорального, ректального, назального или парентерального (как например, внутривенного, интрадермального, подкожного или внутримышечного) путей. Кроме того, вакцинные композиции можно включать в матрицы для пролонгированного высвобождения, такие как биоразлагаемые полимеры, причем полимеры имплантируют вблизи или в непосредственной близости от того места, доставка в которое является желательной. Тем не менее, в соответствии с предпочтительными вариантами осуществления вакцинную композицию вводят с помощью инъекции, наиболее предпочтительно, внутримышечно или подкожно. Типичные объемы инъекционных лекарственных форм для липосомальных вакцинных композиций составляют от 0,01 до 10 мл, как например, от 0,75 до 2,5 мл, предпочтительно, около 2,5 мл.

Липосомальные вакцинные композиции можно вводить субъекту однократно для того, чтобы вызвать защитный иммунный ответ. Тем не менее, обычно липосомальные вакцинные композиции вводят несколько раз одному и тому же субъекту. Таким образом, так называемые схемы «прайм-буст» можно использовать в соответствии с настоящим изобретением. Введения вакцины, как правило, разделены между собой периодом, составляющим по меньшей мере 1 неделю и часто составляющим около 1-12 месяцев. Безопасность и эффективность (с точки зрения способности вызывать иммунный ответ с выработкой антител к Aβ) были подтверждены для липосомальных вакцинных композиций при регулярном введении в течение длительного периода времени. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления липосомальную вакцинную

композицию вводят в первый раз и вводят во второй раз спустя 1-4 недели. Липосомальную вакцинную композицию можно вводить 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше раз при условии, что обеспечен подходящий период времени между введениями. Липосомальную вакцинную композицию можно вводить 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 раз в течение 12-месячного периода при условии, что обеспечен подходящий период времени между введениями. Липосомальную вакцинную композицию можно вводить неопределенно долго при условии, что обеспечен подходящий период времени между введениями. Подходящий период времени, как правило, составляет по меньшей мере 1 неделю и часто составляет около 1-12 месяцев. Период времени может основываться на мониторинге отдельного субъекта. Мониторинг может предусматривать мониторинг статуса заболевания у субъекта и/или мониторинг уровней иммунного ответа у субъекта со временем. В настоящем документе описаны тесты (например, MMSE, ПЭТ-сканирование в отношении амилоида или определение иммунного ответа с выработкой антител к А β), которые обеспечивают возможность слежения за течением заболевания. В профилактических применениях липосомальные вакцинные композиции можно вводить менее часто по сравнению с терапевтическими способами, и их можно вводить согласно регулярной схеме. Мониторинг можно использовать в случае профилактических способов. Например, у субъектов с предрасположенностью к развитию заболевания или состояния, ассоциированного с бета-амилоидом, или состояния, характеризующегося или ассоциированного с потерей когнитивных способностей и памяти. Подходящие тесты и биологические маркеры описаны в настоящем документе и включают в себя мониторинг уровней бета-амилоида в головном мозге с применением ПЭТ-сканирования в отношении амилоида (который может отсутствовать при ранней профилактике), мониторинг биологических маркеров развития AD, таких как уровни тау-белка, фосфорилированного тау-белка и бета-амилоида (A β 1-42 и A β 1-40) в крови и/или CSF (спинномозговая жидкость), легкой цепи нейрофиламентов в крови и/или CSF, измерение эффективности по клиническим/когнитивным параметрам и измерение иммунного ответа в сыворотке крови и/или CSF, в том числе, без ограничения, измерение титров антител IgM к бета-амилоиду 1-42 и/или титров антител IgG к бета-амилоиду 1-42 в крови.

В случае, когда в настоящем документе описаны периоды времени для схемы вакцинации, первоначальное введение липосомальной вакцинной композиции считается моментом времени, принятым за начало отсчета (0). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления липосомальную вакцинную композицию вводят каждые 4-12 недель в течение периода, составляющего по меньшей мере 48 недель. Например, липосомальную вакцинную композицию можно вводить каждые 4 недели в течение

периода, составляющего 12 недель, и каждые 12 недель в течение дальнейшего периода, составляющего по меньшей мере 36 недель. Таким образом, он будет включать в себя 4 отдельных введения липосомальной вакцинной композиции в Недели 0, 4, 8 и 12 с последующими 3 отдельными введениями липосомальной вакцинной композиции в Недели 24, 36 и 48. С соответствии со всеми схемами введения липосомальную вакцинную композицию можно дополнительно вводить в случае необходимости в последующий момент времени. Как правило, этот момент наступает после завершения исходной схемы введения («схема»). Следовательно, это введение можно назвать введением «бустер-дозы». Такое дальнейшее введение может происходить в подходящий момент времени после завершения исходной схемы введения; как например, спустя 4, 12, 24, 26, 36 или 48 недель после окончательного введения согласно схеме или позже, как например, спустя 1, 2, 2,5, 3, 3,25, 3,5, 4, 5 или больше лет после окончательного введения согласно схеме.

Как уже указывалось, липосомальные вакцинные композиции индуцируют иммунный ответ с выработкой антител к Аβ у субъекта-человека без индукции серьезного неблагоприятного явления. Липосомальные вакцинные композиции можно вводить субъектам-людям с целью лечения, предупреждения, индукции защитного иммунного ответа против заболевания или состояния, ассоциированного с бета-амилоидом, или состояния, характеризующегося или ассоциированного с потерей когнитивных способностей и памяти, или для облегчения симптомов, ассоциированных с заболеванием или состоянием, которое ассоциировано с бета-амилоидом, или с состоянием, характеризующимся или ассоциированным с потерей когнитивных способностей и памяти. Таким образом, липосомальные вакцинные композиции можно вводить как для профилактических, так и для терапевтических целей субъектам-людям.

Ассоциированное с бета-амилоидом заболевание или состояние может представлять собой неврологическое нарушение, такое как (и в особенности) болезнь Альцгеймера (AD). Другие примеры ассоциированных с бета-амилоидом заболеваний или состояний согласно настоящему изобретению включают в себя легкое когнитивное нарушение (MCI), синдром Дауна (DS), в том числе связанную с синдромом Дауна болезнь Альцгеймера, амилоидоз сердца, церебральную амилоидную ангиопатию (CAA), рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, ALS (боковой амиотрофический склероз), диабет зрелого возраста, миозит с включенными тельцами (IBM), амилоидоз глаза, глаукому, макулярную дегенерацию, решетчатую дистрофию и неврит зрительного нерва. Многие из этих состояний характеризуются или ассоциированы с потерей когнитивных способностей и памяти. Таким образом, состояния,

характеризующиеся или ассоциированные с потерей когнитивных способностей и памяти, согласно настоящему изобретению включают в себя AD, легкое когнитивное нарушение (MCI), синдром Дауна, в том числе связанную с синдромом Дауна болезнь Альцгеймера, амилоидоз сердца, церебральную амилоидную ангиопатию (CAA), рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, ALS (боковой амиотрофический склероз) и миозит с включенными тельцами (IBM).

Таким образом, настоящее изобретение направлено на лечение и предупреждение заболевания или состояния, ассоциированного с бета-амилоидом, или состояния, характеризующегося или ассоциированного с потерей когнитивных способностей и памяти, которое предусматривает введение вакцины согласно настоящему изобретению. Ассоциированное с бета-амилоидом заболевание или состояние или состояние, характеризующееся или ассоциированное с потерей когнитивных способностей и памяти, включает в себя болезнь Альцгеймера, легкое когнитивное нарушение (MCI), синдром Дауна (DS), в том числе связанную с синдромом Дауна болезнь Альцгеймера, амилоидоз сердца, церебральную амилоидную ангиопатию (CAA), рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, ALS (боковой амиотрофический склероз), диабет зрелого возраста, миозит с включенными тельцами (IBM), амилоидоз глаза, глаукому, макулярную дегенерацию, решетчатую дистрофию и неврит зрительного нерва, предпочтительно, болезнь Альцгеймера (AD), синдром Дауна (DS) и связанную с синдромом Дауна болезнь Альцгеймера.

В случае AD наблюдали, что наиболее эффективным может быть максимально раннее вмешательство в развитие когнитивного нарушения. Следовательно, предпочтительным может являться профилактическое введение, в особенности, при наличии других факторов риска. В соответствии с такими вариантами осуществления субъект-человек до лечения может демонстрировать отсутствие когнитивного нарушения, соответствующее оценке около 30 согласно Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE). Во избежание неоднозначности толкования, эта оценка указывает на отсутствие когнитивного нарушения.

Кроме того, введение субъектам-людям с AD на ранней стадии также может быть благоприятным. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект-человек перед лечением демонстрирует когнитивное нарушение, соответствующее оценке согласно Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE), составляющей по меньшей мере 18 (примерно 18-30), как например, 18-28, предпочтительно, по меньшей мере 20 (примерно 20-30), как например, 20-28. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект-человек страдает от AD, в частности, от AD на ранней стадии.

Такие субъекты могут демонстрировать когнитивное нарушение, соответствующее оценке согласно MMSE, составляющей по меньшей мере 20. Ранняя AD включает в себя легкое когнитивное нарушение, обусловленное AD, и AD с легкой степенью тяжести. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект-человек страдает от AD с легкой степенью тяжести. Такие субъекты могут демонстрировать когнитивное нарушение, соответствующее оценке согласно MMSE, составляющей 20-28. В соответствии с другими вариантами осуществления субъект не страдает от тяжелой AD (поздняя стадия). В соответствии с дополнительными вариантами осуществления субъект-человек страдает от AD на ранней стадии, AD с легкой степенью тяжести, AD со степенью тяжести от легкой до умеренной или AD с умеренной степенью тяжести. Такие субъекты могут демонстрировать когнитивное нарушение, соответствующее оценке согласно MMSE, составляющей по меньшей мере 12.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления субъект-человек страдает от AD со степенью тяжести от легкой до умеренной. Такие субъекты могут демонстрировать когнитивное нарушение, соответствующее оценке согласно MMSE, составляющей около 12-28. В соответствии с конкретными вариантами осуществления субъект-человек страдает от AD с умеренной степенью тяжести. Такие субъекты могут демонстрировать когнитивное нарушение, соответствующее оценке согласно MMSE, составляющей 12-19.

Другие факторы, которые могут быть включены при выборе субъектов для лечения, включают в себя возраст. Например, субъект может иметь возраст более 40 лет.

Как уже обсуждалось, ключевым признаком у взрослых субъектов с DS является повышенный риск развития у них клинических симптомов, подобных болезни Альцгеймера (AD), характеризующихся ухудшением в специфических когнитивных сферах, указывающим на диагноз деменция на наиболее поздней стадии. Практически все субъекты с DS старше 40 лет демонстрируют невропатологические изменения, подобные AD, в виде образования сенильных бляшек и нейрофибриллярных клубков (Head, 2012). Таким образом, при упоминании в настоящем документе лечения, предупреждения, индукции защитного иммунного ответа против DS или, в частности, облегчения симптомов, ассоциированных с DS, предполагается, что они относятся к AD-подобным симптомам у субъектов с DS. Профилактическое лечение можно применять к тем субъектам, которые не имеют признаков образования бляшек бета-амилоида и нейрофибриллярных клубков. Как уже обсуждалось, исследование с применением позитронно-эмиссионной томографии с меченым изотопом [^{11}C] Питтсбургским соединением В (PiB) для измерения амилоидной нагрузки в головном мозге у субъектов с

DS показало, что повышение общего уровня β -амилоида было связано с ухудшением вербальной эпизодической памяти, зрительной эпизодической памяти, исполнительных функций и скорости выполнения операций с использованием мелкой моторики. Субъекты с DS, которые являлись устойчиво PiB+, демонстрировали ухудшение эпизодической памяти, тогда как те субъекты, которые являлись устойчиво PiB-, показывали стабильные или улучшенные характеристики (Hartley, 2017). Следовательно, профилактическое лечение можно применять к тем субъектам, которые являются PiB-. Напротив, терапевтическое лечение можно применять к тем субъектам, которые имеют признаки образования бляшек бета-амилоида и нейрофибриллярных клубков, и/или которые являются PiB+. Популяция с DS имеет повышенный риск AD-подобного заболевания. Это предоставляет возможности для изучения эффективных методов лечения AD, которые будут оказывать благоприятное воздействие как на популяцию с DS, так и на общую популяцию. Единообразие в патогенезе, связанное с возрастом возникновения заболевания и отсутствие других деменций значительно облегчает испытания по профилактике AD-подобных симптомов при DS. Особое внимание у субъектов с DS уделяется профилактической терапии. Конечные показатели патологии болезни Альцгеймера в виде биологических маркеров можно заимствовать с целью мониторинга терапии. Примеры включают в себя уровни бета-амилоида, общего тау-белка, фосфорилированного тау-белка, растворимого белка-предшественника амилоида альфа (sAPP α), растворимого белка-предшественника амилоида бета (sAPP β), орексина-А, легкой цепи нейрофиламентов (NfL), воспалительных цитокинов, ангиогенных белков и маркеров повреждения сосудов в плазме крови и/или в CSF, уровень экспрессии TLR-4, которые можно заимствовать для мониторинга терапии. Также можно использовать визуализацию с помощью ПЭТ-сканирования, как например, с применением позитронно-эмиссионной томографии с меченым изотопом [^{11}C] Питтсбургским соединением В (PiB), флорбетапиром или флорбетабеном, для измерения амилоидной нагрузки в головном мозге у субъектов с DS (Hartley, 2017) и, возможно, с нацеленными тау-белок мечеными соединениями для позитронно-эмиссионной томографии, такими как флортауципир или PI-2620. Можно измерять титры несвязанного, общего и находящегося в иммунных комплексах IgG. Можно измерять титры несвязанного, общего и находящегося в иммунных комплексах IgM. Клиническую эффективность можно измерить, в частности, с применением Шкалы оценки общего клинического впечатления (Clinical Global Impression of Change) (CGIC) и/или с помощью тестов когнитивных функций (например, Кембриджская автоматизированная батарея нейропсихологических тестов (CANTAB): регуляция моторики, время реакции, парное ассоциативное обучение, тест

воспроизведения с подсказкой (CRT), Кембриджский тест когнитивных функций – синдром Дауна (CAMCOG-DS), модифицированный тест на селективное запоминание (SRT), нейропсихологическая оценка развития-II – субтест для оценки зрительно-пространственной памяти «поезд и автомобиль» (NEPSY-II), Краткий тест на интеллект Кауфмана 2 (КВИТ-2)); краткого теста праксиса (BPT4), поведения (например, с помощью Шкалы адаптивного поведения Вайнленд (VABS), опросника для оценки нейропсихиатрического состояния (NPI) и с помощью оценки развития деменции (например, опросник для скрининга деменции у индивидов с умственной отсталостью (DSQIID)).

У субъектов-людей с DS оценка с помощью MMSE может являться неподходящей. Аналогично, связанные с возрастом факторы могут отличаться (например, вследствие более короткой ожидаемой продолжительности жизни). Субъекты-мужчины или субъекты-женщины с DS могут получать лечение в любом возрасте, в частности, профилактически. Как уже упоминалось, профилактические методы лечения можно применять к субъектам, которые не имеют признаков образования бляшек бета-амилоида и нейрофибриллярных клубков. Напротив, терапевтическое лечение можно применять к тем субъектам, которые имеют признаки образования бляшек бета-амилоида и нейрофибриллярных клубков. Субъекты-люди с DS могут находиться на доклинической стадии AD без связанного с амилоидом снижения когнитивных способностей. Получающие лечение субъекты могут иметь возраст 50 лет или меньше, как например, 45, 40, 35, 30 или 25 лет или меньше. Субъектов-людей с DS, подлежащих лечению, можно идентифицировать как имеющих умственную отсталость со степенью тяжести от легкой до умеренной при применении классификации Диагностического и статистического руководства по психическим расстройствам (DSM-5). DSM-5 представляет собой обновленную редакцию от 2013 года Диагностического и статистического руководства по психическим расстройствам - классификационного и диагностического инструмента, опубликованного Американской психиатрической ассоциацией (APA). В Соединенных Штатах Америки DSM служит в качестве основного авторитетного источника для постановки диагнозов в психиатрии.

Субъектов-людей, подлежащих лечению, можно идентифицировать как положительных в отношении отложений A β по результатам ПЭТ-сканирования в соответствии с некоторыми вариантами осуществления. Такие отложения A β обнаруживаются у пациентов с AD на ранней стадии (легкое когнитивное нарушение, обусловленное AD, и AD с легкой степенью тяжести), а также на более поздних стадиях AD, таких как AD с умеренной степенью тяжести. Например, позитронно-эмиссионную

томографию (ПЭТ) с применением флорбетабена можно использовать для изучения амилоидной нагрузки в головном мозге.

Субъектов-людей, подлежащих лечению, можно идентифицировать на основании оценки CDR, которая может представлять собой оценку CDR-SB, которая описана выше. Оценка 0 согласно CDR-SB может идентифицировать субъекта как нормального. Такие субъекты могут подлежать профилактическому лечению, потенциально, при наличии других факторов риска. Оценка 0,5-2,5 согласно CDR-SB может идентифицировать субъекта с MCI. Оценка 2,5-4,0 согласно CDR-SB может идентифицировать субъекта с AD с очень легкой степенью тяжести. Оценка 4,5-9,0 согласно CDR-SB может идентифицировать субъекта с AD с легкой степенью тяжести. Оценка 9,5-15,5 согласно CDR-SB может идентифицировать субъекта с AD с умеренной степенью тяжести. Оценка 16,0-18,0 согласно CDR-SB может идентифицировать субъекта с тяжелой AD. См., O'Bryant et al., Arch Neurol. 2010;67(6):746-749. doi:10.1001/archneurol.2010.115. Как уже упоминалось, введение субъектам-людям на ранней стадии заболевания (когнитивное нарушение или AD) также может оказывать благоприятное воздействие. Таким образом, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект-человек перед лечением демонстрирует когнитивное нарушение, соответствующее оценке согласно CDR-SB, составляющей не более чем 15,5, как например, 0,5-15,5, или не более чем 9,0, как например 0,5-9,0.

Субъектов-людей, подлежащих лечению, можно идентифицировать на основании Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (MoCA), которая представляет собой тест из 30 вопросов, на выполнение которого требуется около 10-12 минут (Nasreddine ZS, Phillips NA, et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A brief screening tool for mild cognitive impairment. J Am Geriatr Soc. 2005;53:695-699). MoCA оценивает различные типы когнитивных способностей. Они включают в себя ориентировку, кратковременную память/отсроченное припоминание, исполнительные функции/зрительно-пространственную способность, языковые способности; абстрактное мышление, названия животных, внимательность и тест «рисование часов». Оценки согласно MoCA находятся в диапазоне от нуля до 30, причем оценка 26 и выше обычно считается нормальной. В исходном исследовании данных, полученных с помощью MoCA, нормальные контроли имели среднюю оценку, составляющую 27,4, по сравнению с 22,1 у людей с легким когнитивным нарушением (MCI) и 16,2 у субъектов с болезнью Альцгеймера. Таким образом, оценка согласно MoCA, составляющая менее чем 26, может идентифицировать субъекта как подлежащего терапевтическому лечению. Оценка, составляющая 26 или выше, может идентифицировать субъекта как подлежащего профилактическому лечению,

потенциально, при наличии других факторов риска. Как уже упоминалось, введение субъектам-людям на ранней стадии заболевания также может оказывать благоприятное воздействие. Таким образом, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект-человек перед лечением демонстрирует когнитивное нарушение, соответствующее оценке согласно MoCA, составляющей 16-26.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. Исследовательский анализ бета-амилоида с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с применением флорбетабена показал тенденцию дозозависимого снижения накопления амилоида в головном мозге, наблюдаемого в когортах 3 и 4 к Неделе 52. Сканирование методом ПЭТ не проводили для когорты 1. SUVR-MCG означает соотношение стандартизированных уровней накопления-среднее значение для серого вещества мозжечка.

Фиг. 2. Изменение общей оценки согласно Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) указывает на положительную тенденцию в отношении когнитивной деятельности, которую измеряли с помощью MMSE, наблюдаемую в течение периода лечения для наиболее высокой дозы в сравнении с плацебо и более низкими дозами.

Фиг. 3. Изменение оценки согласно Клинической рейтинговой шкале деменции - сумме ячеек (CDR-SB) указывает на положительную тенденцию в отношении когнитивной деятельности/функции, которую измеряют с помощью CDR-SB, наблюдаемую в течение периода лечения для наиболее высоких доз в сравнении с плацебо и более низкими дозами.

Таблица сокращений

AD	болезнь Альцгеймера
ARIA-E	связанные с амилоидом аномалии визуализации - вазогенный отек
ARIA-H	связанные с амилоидом аномалии визуализации - микрокровоизлияния, поверхностный сидероз
A β	бета-амилоид
BPT	Краткий тест праксиса
CANTAB	Кембриджская автоматизированная батарея нейропсихологических тестов
CDR	Клиническая рейтинговая шкала деменции
CDR-SB	Клиническая рейтинговая шкала деменции - сумма ячеек

CGIC	Шкала оценки общего клинического впечатления
ЦНС	центральная нервная система
CSF	спинномозговая жидкость
DMPC	1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин
DMPG	1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфоглицерин
DSMB	Комиссия по оценке результатов и безопасности исследования
ЭКГ	Электрокардиограмма
ELISA	твёрдофазный иммуноферментный анализ
ELISPOT	анализ методом иммуноферментных пятен
GABA	гамма-аминомасляная кислота
GLP	надлежащая лабораторная практика
HE	гематоксилин и эозин
IFN	интерферон
IL	интерлейкин
i.m.	внутримышечное
Ig	иммуноглобулин
MMSE	Краткая шкала оценки психического статуса
MPLA	монофосфорил-липид А
MPT	магнитно-резонансная томография
NIA-AA	Национальный институт старения – Ассоциация по борьбе с болезнью Альцгеймера
NINCDS-ADRDA	Национальный институт неврологических и коммуникативных расстройств и инсульта - Ассоциация по борьбе с болезнью Альцгеймера и родственными заболеваниями
NOAEL	максимальная доза препарата, не приводящая к развитию наблюдаемых неблагоприятных эффектов
NPI	опросник для оценки нейропсихиатрического состояния
Pal1-15	тетрапальмитоилированный A β 1-15
PBS	фосфатно-буферный солевой раствор
ПЭТ	позитронно-эмиссионная томография
s.c.	подкожное
SAE	серьезное неблагоприятное явление
sAPP α	растворимый белок-предшественник амилоида альфа
sAPP β	растворимый белок-предшественник амилоида бета

SSRI/SNRI	селективный ингибитор обратного захвата серотонина/ селективный ингибитор обратного захвата серотонина-норэпинефрина
SGOT	сывороточная глутамат-оксалоацетаттрансаминаза
SGPT	сывороточная глутамат-пируваттрансаминаза
TLR4	Toll-подобный рецептор 4
TSH	тиреотропный гормон
VABS	Шкала адаптивного поведения Вайнленд

Настоящее раскрытие будет лучше понятно с учетом следующих неограничивающих примеров.

Определения

MMSE (Folstein 1975) представляет собой широко применяемый тест общих когнитивных функций, оценки памяти, ориентировки и праксиса в коротких сериях тестов. Оценка составляет от 0 до 30, причем 30 является наилучшей оценкой из возможных, а 0 - наихудшей оценкой из возможных.

Клиническая рейтинговая шкала деменции (Hughes et al 1982) представляет собой общую оценку функции (она не является чисто функциональной, поскольку когнитивную деятельность также проверяют с памятью) у пациентов с болезнью Альцгеймера, которую оценивают по шести категориям: память, ориентировка, критическое мышление и способность к решению задач, общественные связи, домашние дела и хобби и личная гигиена. Она основывается на полуструктурном интервью, которое проводит с пациентом и лицом, осуществляющим уход, эксперт без доступа к результатам тестов когнитивных способностей, описанных выше. Каждая категория имеет оценки от 0 (отсутствуют симптомы) до 3 (тяжелое состояние), и, следовательно, сумма этих пунктов (сумма ячеек) может находиться в диапазоне от 0 до 18 баллов.

Пациенты с AD на ранней стадии включают в себя пациентов с легким когнитивным нарушением (MCI), обусловленным AD, и AD с легкой степенью тяжести.

Согласно критериям Национального института старения – Ассоциации по борьбе с болезнью Альцгеймера (NIA-AA) легкое когнитивное нарушение, обусловленное болезнью Альцгеймера, требует доказательства внутрииндивидуального ухудшения, проявляющегося в виде изменения когнитивной деятельности относительно ранее достигнутых уровней, которое отмечено на основании собственного сообщения или сообщения от лица, предоставляющего информацию, и/или по заключению врача, в виде нарушенной когнитивной деятельности по меньшей мере в одной сфере (но не

обязательно эпизодической памяти) относительно соответствующих возрасту и уровню образования нормативных значений (нарушение более чем в одной когнитивной сфере является допустимым), сохраненной независимости в функциональных способностях, отсутствия деменции и клинической картины, соответствующей фенотипу AD, при отсутствии других потенциально вызывающих деменцию нарушений.

Возможная деменция при AD в соответствии с критериями NIA-AA удовлетворяет критериям деменции и, кроме того, имеет следующие основные характеристики: начало заболевания протекающее без явных симптомов (симптомы характеризуются постепенным нарастанием в течение нескольких месяцев или лет, а не возникают внезапно в течение нескольких часов или суток), четко определенная история ухудшения когнитивной деятельности согласно сообщению или наблюдениям; и начальные и наиболее заметные когнитивные расстройства очевидны из истории болезни и обследования по одной из следующих категорий: амнестическое проявление (является наиболее распространенным синдромным проявлением деменции при AD. Расстройства должны включать нарушение обучения и припоминания недавно выученной информации). Также должно присутствовать проявление когнитивной дисфункции по меньшей мере в одной дополнительной когнитивной сфере); неамнестические проявления: речевое проявление (наиболее заметные недостаточности присутствуют в подборе слов, но должны присутствовать недостаточности в других когнитивных сферах); зрительно-пространственное проявление: (наиболее заметные недостаточности присутствуют в восприятии пространства, в том числе нарушение процессов узнавания объектов, нарушенное распознавание лиц, симультанная агнозия и потеря способности читать; должны присутствовать недостаточности в других когнитивных сферах); нарушение исполнительных функций (наиболее заметными недостаточностями являются нарушенная способность к логическим рассуждениям, критическому мышлению и способность к решению задач. Должны присутствовать недостаточности в других когнитивных сферах).

Пациенты с AD на ранней стадии представляют собой пациентов с оценкой согласно MMSE, составляющей по меньшей мере 20 (равной или превышающей 20). Они включают в себя пациентов с легким когнитивным нарушением, обусловленным AD, и пациентов с AD с легкой степенью тяжести.

Пациенты с легкой AD представляют собой пациентов с оценкой согласно MMSE, составляющей от 20 до 28.

Пациенты с AD со степенью тяжести от легкой до умеренной представляют собой пациентов с оценкой согласно MMSE, составляющей от 12 до 28.

Пациенты с AD с умеренной степенью тяжести представляют собой пациентов с оценкой согласно MMSE, составляющей от 12 до 19.

Пример 1. Безопасность и эффективность у людей с AD в испытании фазы I/II

Цель исследования

Основная цель исследования заключалась в оценке безопасности, иммуногенности и эффективности повторных доз ACI-24 при 4 различных уровнях дозы, вводимых пациентам с болезнью Альцгеймера (AD) со степенью тяжести от легкой до умеренной, которую диагностировали согласно критериям Национального института неврологических и коммуникативных расстройств и инсульта - Ассоциации по борьбе с болезнью Альцгеймера и родственными заболеваниями (NINCDS-ADRDA), и с оценкой при первоначальном скрининге, составляющей 18-28 согласно Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE).

Главные цели:

- Оценить безопасность и переносимость ACI-24 у пациентов с болезнью Альцгеймера со степенью тяжести от легкой до умеренной.
- Оценить воздействие различных доз ACI-24 на индукцию титра антител IgG к A β 1-42 в сыворотке крови.

Вторичные цели:

- Изучить эффективность ACI-24 в снижении уровня A β в головном мозге у пациентов с болезнью Альцгеймера со степенью тяжести от легкой до умеренной.
- Изучить воздействие ACI-24 на активацию Т-клеток.
- Изучить воздействия ACI-24 на предполагаемые биологические маркеры развития болезни Альцгеймера, такие как уровни общего тау-белка и фосфорилированного тау-белка (фосфо-тау) и A β (A β 1-42 и A β 1-40) в крови и CSF.
- Изучить эффективность ACI-24 в отношении клинических/когнитивных конечных показателей у пациентов с болезнью Альцгеймера со степенью тяжести от легкой до умеренной.
- Изучить индукцию иммунного ответа в сыворотке крови и/или CSF, в том числе, без ограничения, титр антител IgM к A β 1-42 в крови.
- Изучить индукцию воспалительных цитокинов в крови.

48 пациентов рандомизировали в 4 дозовые когорты в соотношении 3:1 для активного средства (ACI-24) относительно плацебо (нормальный солевой раствор). Пациентам вводили исследуемый препарат 7 раз, один раз каждые 4 недели в случае

первых 4 введений, затем один раз каждые 12 недель в случае последних 3 введений. Введение подкожных инъекций согласно схеме выполняли в Недели 0, 4, 8, 12, 24, 36 и 48 с необязательными инъекциями бустер-дозы. Одну дополнительную бустер-дозу, составляющую 300 мкг, или плацебо вводили 4 пациентам из когорты 3 (3 получали АСИ-24, и 1 получал плацебо), которые были готовы к этому и были способны дать согласие, спустя 6-15 месяцев после 2 летнего периода последующего наблюдения для изучения безопасности, то есть спустя 2,5-3,25 года после последней инъекции, которую получали при 16 посещении (V16, Неделя 48, в течение которой нужно было вводить 7-ю инъекцию). Дополнительную бустер-дозу АСИ-24, составляющую 1000 мкг, или плацебо вводили пациентам из когорты 4 спустя 18 месяцев (Неделя 74) после первой дозы. Дозовые когорты исследовали последовательно следующим образом:

- Дозовая когорта 1: 10 мкг антигена или плацебо
- Дозовая когорта 2: 100 мкг антигена или плацебо
- Дозовая когорта 3: 300 мкг антигена или плацебо
- Дозовая когорта 4: 1000 мкг антигена или плацебо

Доза антигена относится к ацетатной соли тетрапальмитоилированного Аβ1-15. Фармацевтическая форма вакцины представляет собой суспензию для инъекции (суспензию липосом в PBS). Дозовые когорты исследовали последовательно, причем каждая когорта должна была завершить 4 иммунизации, и данные по безопасности, в том числе данные спустя 2 недели после четвертой инъекции (т.е. при 8 посещении, Неделя 14), рассматривались Комиссией по оценке результатов и безопасности исследования (DSMB) перед началом включения в следующую когорту. Чтобы дополнительно повысить безопасность, интервал, составляющий по меньшей мере одну неделю, был запланирован между введением первой дозы первым 4 субъектам в каждой когорте.

Критерии включения:

- Предполагаемая AD согласно критериям NINCDS-ADRDA.
- ПЭТ-сканирование с флорбетабеном при скрининге соответствует присутствию амилоидной патологии.
- Оценка согласно Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) составляет 18-28 баллов*.
- Возраст больше 40 и меньше чем 90 лет**.
- Пациенты, получавшие стабильную дозу ингибитора ацетилхолинэстеразы в течение 4 месяцев до исходного момента времени.

- Уход за пациентом осуществлял заслуживающий доверия супруг или лицо, осуществляющее уход, чтобы гарантировать соблюдение пациентом режима терапии, помогать с клиническими анализами и сообщать о проблемах с безопасностью.
- Женщины должны находиться в постменопаузальном периоде в течение по меньшей мере одного года, должны быть подвергнуты хирургической стерилизации или использовать надежные меры контрацепции.
- Пациент, который, по мнению исследователя, способен к пониманию, и может дать письменное информированное согласие.
- Пациенты и лица, осуществлявшие уход, должны свободно владеть языком исследования и способны выполнять все процедуры в исследовании.
- Пациент имеет ясное и незамутненное сознание и ориентируется x4 и способен давать письменное информированное согласие (применимо только в некоторых странах).

* В случае бустер-инъекции в когорте 3 предыдущее нижнее граничное значение 18 баллов для MMSE не требовалось, но во всех случаях пациенты должны были ориентироваться во времени, пространстве, узнавать людей и выполнять свою текущую деятельность, а также, по мнению исследователя, должны быть способны давать информированное согласие для того, чтобы принять участие.

** В случае бустер-инъекции в когорте 3 верхнюю границу по возрасту не использовали.

Критерии исключения:

- Пациенты, у которых сканирование с помощью МРТ в течение последних 6 месяцев демонстрирует альтернативные патологические проявления, в том числе тяжелую сосудистую энцефалопатию и/или более 5 микрокровоизлияний.
- Пациенты с другими медицинскими состояниями, которые могут оказывать влияние на когнитивные показатели, например, болезнь Паркинсона.
- Пациенты с любым нестабильным медицинским состоянием (например, эпилепсией, неконтролируемой гипертензией), которое будет затруднять оценки безопасности.
- Пациенты, получающие мемантин за 3 месяца до исходного момента времени (в случае бустер-инъекции в когорте 3 мемантин допускается).
- Пациенты, получающие любое лекарственное средство-антикоагулянт.
- Пациенты с геморрагическим инсультом в анамнезе.

- Пациенты, имеющие в анамнезе негеморрагический инсульт или инфаркт миокарда в течение последнего года.
- Пациенты, имеющие в анамнезе большое психическое расстройство в течение последних 2 лет.
- Пациенты, имеющие в анамнезе воспалительные неврологические расстройства, в том числе менингоэнцефалит.
- Клинически значимые аномалии клинических гематологических или биохимических показателей, в том числе, без ограничения, повышения, более чем в 1,5 раза превышающие верхнюю границу нормы для SGOT, SGPT или креатинина.
- Пациенты с аутоиммунным заболеванием в анамнезе.
- Пациенты, имеющие в анамнезе рак, отличный от рака кожи, в течение последних 5 лет.
- Пациенты, которые получили какую-либо вакцину в течение 2 месяцев до исходного момента времени.
- Пациенты, которые ранее получили иммунотерапевтические средства или вакцины против AD.
- Пациенты, которые планируют получить какую-либо вакцинацию, отличную от вакцинации против гриппа, в течение исследования.
- Пациенты, которые неспособны пройти обследование методом МРТ по любой причине, в том числе из-за металлических имплантатов и клаустрофобии.
- Пациенты с положительным результатом теста на ВИЧ при скрининге.
- Пациенты с положительным результатом серологического анализа на сифилис.
- Женщины, которые являются беременными, или планируют беременность, или кормят грудью.

Результаты/выводы

48 пациентов с AD со степенью тяжести от легкой до умеренной рандомизировали и подвергали воздействию ACI-24 в различных уровнях дозы (10 мкг, 100 мкг, 300 мкг и 1000 мкг за введение) или плацебо при использовании до семи подкожных введений каждому из них в течение 12 месяцев. Некоторые пациенты из дозовых когорт с 2 наиболее высокими дозами получали дополнительное последнее введение бустер-дозы (т.е. в общей сложности 8 подкожных инъекций).

Отсутствие ответа с выработкой антител IgG к бета-амилоиду наблюдали у пациентов, получавших лечение плацебо, и у пациентов, получавших лечение двумя

наиболее низкими исследуемыми дозами (10 и 100 мкг антигена, когорты 1 и 2). Вакцина была способна индуцировать ответ с выработкой антител к бета-амилоиду у субъектов-людей, нуждающихся в этом, в наиболее высоких исследуемых дозах (300 и 1000 мкг антигена, когорты 3 и 4), и дозозависимый ответ с выработкой антител IgG к A β наблюдали при двух наиболее высоких дозах. Наблюдали зависимый от дозы ответ с выработкой IgG с поздним началом. Безопасность оценивали как хорошую в исследовании при всех исследуемых дозах (от 10 мкг до 1000 мкг антигена). Отсутствие SAE, связанных с исследуемым средством для лечения, отсутствие сигналов о воспалении ЦНС или других нежелательных реакциях на вакцину, отсутствие ARIA-E, отсутствие ARIA-H (1 маленький очаг с низким сигналом, характерным для кровоизлияния, который предположительно вызван микрокровоизлиянием, отмечали при дозе ACI-24, составлявшей 100 мкг (возможный артефакт)), наблюдали отсутствие признаков развития менингоэнцефалита и отсутствие активации Т-клеток, а также индукции воспалительных цитокинов.

Наблюдали тенденцию дозозависимого снижения накопления амилоида в головном мозге в двух наиболее высоких дозах в обеих когортах 3 и 4 в Неделю 52 (фиг. 1). Несмотря на то что исследование не сосредотачивалось на клинической эффективности и параметрах ПЭТ-сканирования с ограниченным количеством включенных субъектов (небольшая исследуемая популяция), исследовательский анализ выявил положительную тенденцию в отношении когнитивной деятельности, которую измеряли с помощью MMSE. Ее наблюдали в течение периода лечения с использованием самой высокой дозы в когорте 4 в сравнении с плацебо и более низкими дозами (фиг. 2). Аналогично, исследовательский анализ выявил положительную тенденцию в отношении когнитивной деятельности/функции, измеренной с помощью CDR-SB, которую наблюдали в течение периода лечения в случае наиболее высоких доз в сравнении с плацебо и более низкими дозами (фиг. 3).

Пример 2. Безопасность и эффективность у людей с AD в испытании фазы II

Цель исследования

Основная цель исследования заключается в оценке безопасности, иммуногенности и эффективности/воздействия на мишень ACI-24, вводимой пациентам с легкой болезнью Альцгеймера (AD), которую диагностировали согласно критериям Национального института старения – Ассоциации по борьбе с болезнью Альцгеймера (NIA-AA), и с оценкой при первоначальном скрининге, составляющей 20-28 согласно Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE).

Главные цели:

- Оценить безопасность и переносимость АСИ-24 у пациентов с легкой болезнью Альцгеймера.
- Оценить воздействия АСИ-24 на индукцию ответов с выработкой антител к А β в сыворотке крови.
- Оценить воздействия АСИ-24 на амилоидную нагрузку в головном мозге у пациентов с легкой болезнью Альцгеймера, которую оценивали с помощью визуализации методом ПЭТ с использованием флорбетабена через 52 недели (12 месяцев) и 76 недель (18 месяцев).

Вторичные цели:

- Изучить воздействия АСИ-24 на предполагаемые биологические маркеры развития болезни Альцгеймера, в том числе концентрации общего тау-белка и фосфорилированного тау-белка (фосфо-тау) и А β в крови и/или CSF.
- Изучить воздействия АСИ-24 на активацию Т-клеток в крови.
- Изучить воздействия АСИ-24 на объем всего мозга и объем гиппокампа с помощью волюметрической МРТ.
- Изучить воздействия АСИ-24 на клинические и когнитивные конечные показатели у пациентов с легкой болезнью Альцгеймера.
- Изучить влияние АСИ-24 на уровни воспалительных цитокинов в крови.

Критерии включения

Пациентов, удовлетворяющих всем из следующих критериев включения при скрининге, следует считать подходящими для участия в исследовании:

1. Возможная деменция при AD согласно основным клиническим критериям NIA-AA.
2. ПЭТ-сканирование с флорбетабеном при скрининге соответствует присутствию амилоидной патологии.
3. Оценка согласно Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE) 20–28 баллов.
4. Возраст, больший или равный 50 и меньший или равный 85 годам.
5. Пациенты, получавшие стабильную дозу ингибитора ацетилхолинэстеразы в течение по меньшей мере 3 месяцев перед скринингом.
6. Уход за пациентом осуществлял заслуживающий доверия супруг или другое лицо, осуществляющее уход, чтобы гарантировать соблюдение пациентом режима терапии, помогать с клиническими анализами и сообщать о проблемах с

безопасностью, и супруг или лицо, осуществляющее уход, дает согласие служить в этой роли.

7. Женщины должны находиться в постменопаузальном периоде в течение по меньшей мере одного года, должны были подвергнуться хирургической стерилизации или должны использовать надежные меры контрацепции.
8. Пациенты, которые, по мнению исследователя, способны к пониманию и могут дать письменное информированное согласие.
9. Пациенты и лица, осуществлявшие уход, должны свободно владеть официальным(официальными) языком(языками) страны, в которой они проживают, и способны выполнять все процедуры в исследовании.
10. Пациенты имеют ясное и незамутненное сознание и ориентируются x4 (узнавание людей, знание места, времени/даты и события) [применимо только в некоторых странах].

В первой когорте будут исследовать АСИ-24, которую вводили внутримышечно. Это исследование представляет собой многоцентровое проспективное плацебо-контролируемое двойное слепое и рандомизированное исследование для оценки лечения с использованием составов АСИ-24 по сравнению с плацебо в течение 76 недель (18 месяцев) у пациентов с легкой болезнью Альцгеймера. Доза антигена относится к ацетатной соли тетрапальмитоилированного Аβ1-15. Фармацевтическая форма вакцины представляет собой суспензию для инъекции (суспензию липосом в PBS).

Когорта 1 с АСИ-24

Будут исследовать одну дозу АСИ-24 в количестве 1000 мкг/доза, которую вводили посредством внутримышечного пути. Пациентов будут рандомизировать в группы с активным ингредиентом (АСИ-24) и плацебо в соотношении, составляющем 2:1.

Для пациентов, принимающих участие в когорте 1, период лечения будет составлять 76 недель, причем средство для лечения/плацебо будут вводить 8 раз (каждый раз дозу исследуемого средства для лечения будут вводить в виде двух отдельных одновременных внутримышечных инъекций); 4 раза с 4-недельными интервалами, 3 раза с 12-недельными интервалами и 1 раз спустя 26 недель после предшествующей 7-ой дозы. За периодом лечения следовал 24-недельный период последующего наблюдения для оценки безопасности, начиная с 2 недель после последнего введения. За пациентами, которые по какой-то причине получали меньше чем 8 введений, будут осуществлять последующее наблюдение в течение по меньшей мере такого же по продолжительности

периода после последнего введения. Будут измерять титры несвязанного, общего и находящегося в иммунных комплексах IgG.

Пример 3. Безопасность и эффективность у людей с DS в испытании фазы Ib

Главные цели:

- Оценить безопасность и переносимость АСИ-24 у взрослых с синдромом Дауна.
- Оценить воздействие различных доз АСИ-24 на индукцию титра Ig антител к Аβ в сыворотке крови.

Вторичные цели:

- Изучить эффективность АСИ-24 согласно Шкале оценки общего клинического впечатления (CGIC) у взрослых с синдромом Дауна.
- Изучить воздействие АСИ-24 на когнитивную деятельность (CANTAB: регуляция моторики, время реакции, парное ассоциативное обучение; BPT) и поведенческие (VABS, NPI) конечные показатели у взрослых с синдромом Дауна.
- Изучить воздействие АСИ-24 на объем всего мозга, желудочка и гиппокампа с помощью МРТ.
- Изучить воздействие АСИ-24 на активацию периферических Т-клеток.
- Изучить воздействие АСИ-24 на предполагаемые биологические маркеры патологии болезни Альцгеймера при синдроме Дауна, в том числе уровни Аβ, общего тау-белка, фосфорилированного тау-белка (фосфо-тау), sAPPα, sAPPβ, орексина-А, воспалительных цитокинов, ангиогенных белков, экспрессии TLR-4 и маркеров повреждения сосудов в плазме крови и/или в CSF* (*в подгруппе) в соответствующих случаях.
- Оценить воздействие различных доз АСИ-24 на индукцию титра Ig антител к Аβ в CSF* (*в подгруппе).

Способ:

Он представляет собой многоцентровое проспективное плацебо-контролируемое двойное слепое и рандомизированное исследование 2 доз средства для лечения АСИ-24 в сравнении с плацебо в течение 24 месяцев.

Исследование состоит из 2 дозовых когорт по 8 субъектов в каждой из них (6 субъектов с АСИ-24 300 мкг, 6 субъектов с АСИ-24 1000 мкг и 2 субъекта с плацебо в каждой дозовой когорте) с с.с. инъекциями в 0, 1, 2, 3, 6, 9 и 12 месяц (или, точнее, в Недели 0, 4, 8, 12, 24, 36 и 48) с 12-месячным периодом последующего наблюдения без лечения для оценки безопасности. Дозовые когорты исследуют последовательно в порядке возрастания дозы. Исследование 2-ой дозовой когорты начинали после того, как

данные безопасности и переносимости вплоть до 8 посещения [Неделя 14] последним субъектом из предыдущей когорты рассматривались Комиссией по оценке результатов и безопасности исследования (DSMB). Доза антигена относится к ацетатной соли тетрапальмитоилированного A β 1-15. Фармацевтическая форма вакцины представляет собой суспензию для инъекции (суспензию липосом в PBS).

Промежуточный анализ проводили в этом исследовании после 8 посещения [Неделя 14] последним субъектом в когорте 1 в качестве основания для того, чтобы позволить увеличение дозы. Анализ фокусировался на безопасности и переносимости. Промежуточный анализ проводили в неослепленном режиме и демаскированные данные представляли DSMB.

Дополнительные промежуточные анализы планируют проводить после 9 посещения [Неделя 16], 12 посещения [Неделя 28], 15 посещения [Неделя 40] и 18 посещения [Неделя 52] последним субъектом в когорте 1 и в когорте 2, соответственно. Эти анализы фокусируются на данных по безопасности, переносимости, титрам антител и уровням воспалительных цитокинов (часть биологических маркеров). Промежуточные анализы при 12 посещении [Неделя 28] и 18 посещении [Неделя 52] дополнительно включают в себя биологические маркеры, а также данные оценки согласно CGIC, NPI и по шкале Вайнленд (часть клинических рейтинговых оценок и когнитивных тестов).

Критерии включения:

- Мужчины или женщины с синдромом Дауна возрастом от ≥ 25 до ≤ 45 лет, причем цитогенетический диагноз представляет собой трисомию по хромосоме 21 или полную несбалансированную транслокацию хромосомы 21.
- Субъекты и их партнер в исследовании/юридический представитель, который, по мнению исследователя, способен к пониманию и может давать письменное информированное согласие.
- Письменное информированное согласие, полученное от субъектов и их партнера в исследовании/юридического представителя перед любой связанной с испытанием деятельностью.
- Способность, по мнению исследователя, полноценно участвовать в испытании и в достаточной степени владеть английским языком, чтобы гарантированно завершить процедуры оценки в ходе исследования.
- Субъекты имеют партнера в исследовании/юридического представителя, который имеет непосредственный контакт с субъектами по меньшей мере 10 часов в неделю, и которому можно задать вопросы относительно субъектов.

Критерии исключения:

- Субъекты с массой менее 40 кг.
- Показатель IQ менее 40 (который оценивали с помощью Краткого теста на интеллект Кауфмана, вторая редакция (КВИТ-2)).
- Любое присутствующее на момент исследования, по мнению исследователей, клинически значимое психическое или неврологическое расстройство, в том числе присутствовавшее в прошлом расстройство с риском рецидива, отличное от синдрома Дауна.
- Любое медицинское состояние, которое, вероятно, значительно затрудняет оценку безопасности исследуемого лекарственного средства.
- Критерии DSM-IV по злоупотреблению или зависимости от наркотических средств или алкоголя в настоящее время удовлетворялись в течение последних пяти лет.
- Наличие в анамнезе или присутствие неконтролируемых судорожных припадков. В случае судорожных припадков в анамнезе они должны хорошо контролироваться с отсутствием возникновения судорожных припадков в последние 2 года перед скринингом для включения в исследование. Разрешено применение противоэпилептических лекарственных препаратов.
- Менингит или менингоэнцефалит в анамнезе.
- Наличие в анамнезе злокачественных новообразований в течение 3 лет перед скринингом для включения в исследование, или в случаях, когда на данный момент присутствуют признаки рецидивирующего или метастатического заболевания.
- Наличие в анамнезе устойчивых когнитивных расстройств сразу после травмы головы.
- Воспалительные неврологические расстройства в анамнезе.
- Наличие в анамнезе аутоиммунного заболевания с потенциалом для поражения ЦНС.
- Сканирование методом МРТ при скрининге, демонстрирующее одну область с церебральным вазогенным отеком, поверхностным сидерозом или свидетельством предшествующего макрокроваизлияния или демонстрирующее более четырех мозговых микрокроваизлияний (независимо от их анатомического местоположения или диагностической характеристики как «возможные» или «четко выраженные»).
- Оценку методом МРТ невозможно выполнить по какой-либо причине, в том числе из-за металлических имплантатов, противопоказанных в случае исследований методом МРТ, и/или тяжелой клаустрофобии.

- Значительные нарушения слуха или зрения или другие проблемы, которые исследователь сочтет значимыми для предотвращения выполнения протокола и проведения измерений конечных показателей.
- Тяжелые инфекции или значительная хирургическая операция в течение 3 месяцев перед скринингом.
- Наличие в анамнезе хронических или рецидивирующих инфекций, которые исследователь посчитает клинически значимыми.
- Наличие в анамнезе или присутствие иммунологических или воспалительных состояний, которые исследователь посчитает клинически значимыми.
- Целиакия, не проявляющаяся при безглютеновой диете, в течение по меньшей мере 3 месяцев перед скринингом для включения в исследование.
- Хронические доброкачественные патологии кожи, если, по мнению исследователя, они не рассматриваются как клинически незначимые.
- Любая вакцина, которую получали в течение последних 2 месяцев до исходного момента времени, за исключением вакцины от гриппа, которую, если это указано, нужно вводить по меньшей мере за 2 недели до исходного момента времени.
- Клинически значимые аритмии или другие аномалии на ЭКГ при скрининге. (Будут допускаться незначительные аномалии, документально оформленные исследователем как клинически незначимые).
- Клинически значимые аномальные основные показатели жизнедеятельности организма, в том числе устойчивое артериальное давление в положении сидя, большее чем 160/90 мм. рт. ст.
- По мнению исследователя в конкретном учреждении, отклонения от нормальных значений для гематологических параметров, функциональных проб печени и других биохимических измеряемых показателей, которые считаются клинически значимыми.
- Субъекты, которые получают лечение гипотиреоза, не получавшие стабильную дозу лекарственного препарата в течение по меньшей мере 3 месяцев перед скринингом и имеющие клинически значимые аномальные уровни T-4 и TSH в сыворотке крови при скрининге.
- Субъекты с сахарным диабетом с уровнем HbA1c $\geq 8,0\%$.
- Субъекты, которые получали какое-либо экспериментальное средство от синдрома Дауна с отмывочным периодом, составляющим менее 30 суток или менее пяти

периодов полувыведения лекарственного средства, в зависимости от того, что дольше.

- Субъекты-женщины, являющиеся беременными, что подтверждено исследованием сыворотки крови при скрининге, или планирующие беременность, или кормящие грудью.
- Субъекты-женщины, не использующие надежный метод контрацепции (помимо воздержания).
- Пациент, получающий любое лекарственное средство-антикоагулянт или аспирин в дозах, больших чем 100 мг в сутки, за 7 суток до поясничной пункции (во избежание риска кровотечения во время запланированной или незапланированной поясничной пункции)
- Применение антидепрессантов, отличных от SSRI/SNRI, в стабильной дозе, применение антипсихотических средств (типичных или атипичных), агонистов ГАМК (например, габапентина) или стимуляторов (например, метилфенидата, модафинила). В исключительных случаях низкие дозы атипичных антипсихотических средств (например, рисперидон в дозе до 0,5 мг/сутки или кветиапин в дозе до 50 мг/сутки) или бензодиазепины допускаются только после рассмотрения главного исследования в конкретном учреждении, по согласованию с руководителем проекта и/или медицинского наблюдателя.
- Одновременное применение иммунодепрессивных или иммуномодулирующих лекарственных средств или их применение в течение последних 6 месяцев перед скринингом для вступления в исследование. Одновременное применение пероральных стероидов или их применение в течение последних 3 месяцев перед скринингом для вступления в исследование.
- Применение ингибитора холинэстеразы или применение глутаматэргических лекарственных средств (топирамат, мемантин, ламотригин), если субъект не получал стабильную дозу в течение по меньшей мере 3 месяцев перед скринингом.
- Субъекты, которые стали донорами крови или препаратов крови в течение 30 суток перед скринингом, которые планируют донорство крови во время участия в исследовании или в течение четырех недель после завершения исследования.

Результаты

Испытание представляет собой плацебо-контролируемое исследование фазы 1b с полным участием для вакцины АСИ-24 против бета-амилоида. Шестнадцать субъектов рандомизировали в исследовании. Вакцина была способна индуцировать ответ с

выработкой антител к бета-амилоиду у субъектов-людей, нуждающихся в этом, в обеих исследуемых дозах (300 и 1000 мкг антигена). Наблюдали раннее начало ответа с выработкой IgG, причем первое повышение титров происходило через 4 недели. В соответствии с данными MSD ревакцинационный эффект можно было наблюдать со временем, и ответ с выработкой антител к бета-амилоиду являлся устойчивым у большинства пациентов при наиболее высокой дозе. Вакцина хорошо переносилась субъектами с DS, демонстрируя благоприятный профиль безопасности во всех исследуемых дозах. Безопасность оценивали как хорошую при исследовании в обеих исследуемых дозах. В течение периода лечения отсутствовали отказы субъектов от участия. Не наблюдали SAE, связанных с исследуемым средством для лечения, сигналов о воспалении ЦНС или других важных нежелательных реакций на вакцину, не наблюдали ARIA-E, ARIA-H, не наблюдали признаков развития менингоэнцефалита, а также не наблюдали активации Т-клеток и индукции воспалительных цитокинов.

План последующих клинических исследований DS (пример 5) будет фокусироваться на профилактической терапии, в частности, с применением конечных показателей в виде биологических маркеров (таких как бета-амилоид, нейрофиламент и тау-белок). Вакцину будут вводить в наиболее высокой дозе (1000 мкг) посредством внутримышечного пути с целью дополнительного усиления иммуногенности. Два из выбранных измеряемых показателей будут представлять собой результаты визуализации методом ПЭТ-сканирования и результаты измерений титров несвязанного, общего и находящегося в иммунных комплексах IgG, образующихся под действием вакцины.

Пример 4. Токсикологические исследования

4.1 Токсичность однократной дозы

Токсичность однократной дозы ACI-24 оценивали в двух неклинических моделях (мыши и обезьяны). ACI-24 хорошо переносилась и не была связана с токсичностью для органов. Эти два исследования кратко изложены ниже.

4.1.1 Оценка токсичности однократной дозы после подкожного или внутримышечного введения мышам

Цель

Оценивали потенциальную токсичность, локальную переносимость и иммуногенность однократной s.c. или i.m. инъекции ACI-24 мышам.

План

Исследование проводили согласно стандартам GLP. Количество животных, вводимая лекарственная форма, путь введения и уровень дозы для каждой группы кратко

изложены в таблице 1. Животных сохраняли в течение 14-суточного периода наблюдения с целью оценки возможной отсроченной токсичности и/или обратимости наблюдаемых изменений. Сателлитные группы добавляли для оценки иммунного ответа в День 14 для обоих путей введения (s.c. и i.m.) и в Дни 1, 3 или 7 только для s.c. пути введения.

Таблица 1. Распределение по группам в исследовании

Группа	Количество животных			Вводимая лекарственная форма	Объем инъекции [мл]	Путь введения	Уровень дозы [мкг пептида/инъекция]	Уровень дозы [мкг MPLA/инъекция]
	Всего	Самец	Самка					
1	Основная = 12	6	6	PBS	0,8	s.c.	0	0
2	Основная = 12	6	6	АСI-24-250 (пустая)	0,2	s.c.	0	30
3	Основная = 12	6	6	АСI-24-1000 (пустая)	0,8	s.c.	0	30
	Сателлитная 1 = 10	5	5					
4	Основная = 11	7	6	АСI-24-250 (пустая)	2×0,1	i.m.	0	
5	Основная = 12	6	6	АСI-24-250	0,2	s.c.	65	30
6	Основная = 12	6	6	АСI-24-1000	0,8	s.c.	260	30
	Сателлитная 1 = 6	3	3					
	Сателлитная 2 = 18	9	9					
7	Основная = 12	6	6	АСI-24-1000-А	0,8	s.c.	385	30
8	Основная = 12	6	6	АСI-24-250	2×0,1	i.m.	2×32,5	30
	Сателлитная 1 = 10	5	5					

- Дозу вводили один раз в День 0.
- Образец крови в случае s.c. введения собирали в Дни: 1, 3 или 7 и 14.
- Образец крови в случае i.m. введения собирали в День 14
- АСИ-24-250 и АСИ-24-1000 соответствуют целевой дозе антигена бета-амилоида 1-15; 250 мкг и 1000 мкг, соответственно.

Животных подвергали осмотру по меньшей мере один раз в сутки для оценки смертности и по меньшей мере дважды в сутки (три раза в День 1) для оценки клинических признаков. Кожные реакции в месте инъекции регистрировали до инъекции, затем спустя 6, 24 и 48 часов, а затем спустя три и семь суток после инъекции. Значения ректальной температуры регистрировали до инъекции, затем спустя 6, 24 и 48 часов после инъекции и в конце периода наблюдения. Массу тела и потребление пищи регистрировали по меньшей мере три раза в неделю. Гематологические и биохимические исследования крови осуществляли, соответственно, на первых трех животных в опытной группе и последних трех животных в опытной группе в конце периода наблюдений. Аβ1-42-специфичные антитела IgG и IgM определяли с помощью ELISA.

В конце периода наблюдений всех выживших животных умерщвляли и направляли для полного макроскопического патологоанатомического исследования. Образцы селезенок от всех сателлитных животных собирали с целью выделения лимфоцитов. Определенные органы взвешивали и выбранные образцы тканей сохраняли в случае животных из опытной группы. Микроскопическое исследование проводили в местах подкожной инъекции у двух сателлитных мышей из группы 6 (в общей сложности девять самцов и девять самок мышей умерщвляли спустя 1, 3 и 7 суток после инъекции-), проводили окрашивание гематоксилином и эозином (HE) или поликлональным кроличьим антителом к белку-предшественнику Аβ1-40, называемому далее Аβ.

Последующую микроскопическую оценку проводили в местах внутримышечной инъекции (зафиксированные в формалине образцы мышц) у мышей из группы 8 (6 самцов и 6 самок) при использовании окрашивания гематоксилином-эозином.

Результаты

Однократное введение АС1-24 посредством s.c. (с уровнями дозы, составляющими 65, 260 или 385 мкг/инъекция) или i.m. пути (с уровнем дозы, составляющим 65 мкг/инъекция) мышам с последующим периодом наблюдения, составляющим 14 суток, хорошо переносилось. Не наблюдали смертей, связанных с обработкой средой или составами исследуемого препарата, в течение периода исследования. Никакие токсикологически значимые клинические признаки и/или различия в ректальных температурах не были связаны с обработкой исследуемым препаратом.

Не отмечали связанных с обработкой кожных реакций.

Обработка исследуемым препаратом не оказывала влияние на массу тела и потребление корма. При лабораторных исследованиях не наблюдали токсикологически значимых различий в гематологических или биологических параметрах у животных, получавших пустые липосомы или исследуемый препарат.

Микроскопическое исследование места i.m. инъекции демонстрировало, что введение АСИ-24 (2×32,5 мкг/инъекция) в икроножную мышцу у всех получавших обработку мышей приводило на выходе к не оказывающему неблагоприятных воздействий минимальному-незначительному гранулематозному воспалению спустя 2 недели, характеризующемуся инфильтратами мононуклеарных клеток, ассоциированными с минимальным фиброзом. Эти результаты считали не-неблагоприятными, поскольку степень тяжести имела низкую величину.

Заключение

В условиях проведения эксперимента в исследовании установили, что максимальная доза препарата, не приводящая к развитию наблюдаемых неблагоприятных эффектов (NOAEL), составляла 65 мкг/инъекция для i.m. пути и 385 мкг/инъекция для s.c. пути.

4.1.2 Оценка токсичности АСИ-24 после подкожного введения однократной дозы обезьянам

Цель

Токсичность и локальную переносимость однократной подкожной инъекции АСИ-24 яванским макакам оценивали в этом GLP исследовании.

План

План исследования объяснен в таблице 2.

Таблица 2. Распределение по группам в исследовании

Группа	Количество животных		Вводимая лекарственная форма	Объем инъекции [мл]	Путь введения	Уровень дозы [мкг пептида/инъекция]	Уровень дозы [мкг MPLA/инъекция]
	Самец	Самка					
1	3	3	PBS	0,8	s.c.	0	0
2	3	3	АСI-24-250 (пустая)	0,8	s.c.	0	128
3	3	3	АСI-24-250	0,2	s.c.	96	9
4	3	3	АСI-24-1000	0,8	s.c.	385	36

- Дозу вводили один раз в День 1.
- Локальную толерантность оценивали спустя 6, 24, 48 часов и 7 суток.
- Ректальную температуру регистрировали спустя 6, 24, 48 часов и 14 суток.
- АСИ-24-250 и АСИ-24-1000 соответствуют целевой дозе антигена бета-амилоида 1-15; составляющей 250 мкг и 1000 мкг, соответственно.

Лекарственные формы вводили один раз в День 1. Клинические признаки оценивали по меньшей мере три раза в сутки в течение исследования и дополнительно примерно через шесть часов после обработки в день обработки. Локальную переносимость в месте инъекции оценивали в день обработки, перед инъекцией и спустя 6, 24 и 48 часов и семь суток после обработки. Ректальную температуру регистрировали в день обработки, перед инъекцией, спустя 6, 24 и 48 часов после обработки и в конце 14-суточного периода наблюдения. Массу тела каждого животного регистрировали с определенными интервалами и потребление корма оценивали во время исследования. Электрокардиографические исследования, измерения кровяного давления и лабораторные исследования (в том числе гематологический анализ, биохимический анализ крови, анализ мочи, анализ субпопуляций лимфоцитов в крови и количественное определение иммунного ответа в сыворотке крови) осуществляли в течение периода перед обработкой, после обработки и в течение периода наблюдения. Офтальмологические исследования осуществляли в течение периода перед обработкой и один раз в конце 14-суточного периода наблюдения. По завершении периода наблюдения животных умерщвляли с целью регистрации массы органов, макроскопического патологоанатомического исследования и микроскопического исследования выбранных тканей.

Результаты

Введение АСИ-24 или пустых липосом один раз посредством s.c. инъекции яванским макакам хорошо переносилось. Никаких внеплановых смертей не происходило во время исследования. Никаких системных клинических признаков не отмечали после обработки или в течение периода наблюдения у любого животного. Отсутствовали статистические различия в регистрируемых температурах тела между контрольными животными и получавшими обработку животными в любой момент времени. Регистрируемые значения находились в пределах диапазона нормальных значений, которые регистрировали у здоровых животных этой линии и в этом возрасте. Считалось, что обработка исследуемым препаратом не оказывала влияние на массу тела и потребление корма.

Обработка исследуемым лекарственным препаратом не оказывала влияние на параметры электрокардиограммы, в том числе интервалы PQ и QT, длительность комплекса QRS и частоту сердечных сокращений. Обработка исследуемым лекарственным препаратом не оказывала влияние на измеряемые показатели систолического и диастолического кровяного давления во все моменты времени. Никаких соответствующих офтальмологических результатов не наблюдали в любой группе в течение периода перед обработкой или в конце периода обработки. Обработка

исследуемым препаратом не оказывала влияние на гематологические параметры, в том числе результаты анализа субпопуляций лимфоцитов, биохимический анализ крови и анализ мочи, в любые моменты времени.

При вскрытии обработка исследуемым препаратом не оказывала влияние на массы органов, и не наблюдались связанные с системной обработкой макроскопические очаги.

Заключение

Оказалось, что NOAEL после системного введения однократной дозы ACI-24 составляла 385 мкг пептида/инъекция в экспериментальных условиях в этом исследовании.

4.2 Токсичность повторных доз

4.2.1 Исследование по оценке потенциальной перекрестной реактивности антител к ACI-24 яванского макака с выбранным набором нормальных человеческих тканей

Цель

Цель этого GLP исследования заключалась в оценке потенциальной перекрестной реактивности антител в сыворотке крови от яванского макака, получавшего обработку ACI-24, на гистологических криостатных срезах человеческих тканей с применением иммуногистохимических методик.

План

Исследуемый материал представлял собой препарат сыворотки крови от яванского макака, ранее иммунизированного ACI-24 (животное 6529, День 31), которую вводили инъекцией в Дни 2 и 24 (в День 31 забор крови, которую использовали для иммуноокрашивания) с вакциной ACI-24-250 - другой партией вакцины (антиген Pal 1-15: 80 мкг/целевая доза, MPLA: 30 мкг/целевая доза). Эта сыворотка содержала антитела IgG к бета-амилоиду (A β) в приблизительной концентрации, составляющей 4 мкг/мл. Сыворотку крови от иммунизированной пустой липосомой обезьяны использовали в качестве сыворотки отрицательного контроля (животное 6613, День 49).

В тест-системе применялись криостатные срезы (толщиной 5 мкм) ткани головного мозга человека с болезнью Альцгеймера (Cortex), которую идентифицировали как положительную в отношении антител, индуцированных у животного 6529, День 31 (сыворотка от иммунизированной ACI-24 обезьяны). Ткани здорового головного мозга (та же область) применяли в качестве отрицательного контроля. Систему валидировали посредством выбора ткани с большим количеством мелких различных амилоидных

бляшек, которые являлись положительными в отношении Аβ по результатам скрининга с использованием мышинового антитела к Аβ.

Способ выявления валидировали с применением серийных разведений исследуемой сыворотки и сыворотки отрицательного контроля с целью определения оптимального разведения, которое давало на выходе специфичное положительное иммуногистохимическое окрашивание с минимальным неспецифичным фоновым окрашиванием в тканях головного мозга человека с болезнью Альцгеймера и здорового человека.

Криосрезы из выбранного набора человеческих тканей (таблица 3) применяли для оценки потенциальной перекрестной реактивности с тканями.

Таблица 3. Подбор дозы для тканей человека

Подбор дозы для тканей человека		
Надпочечник	Двенадцатиперстная кишка	Гипофиз
Мочевой пузырь	Подвздошная кишка	Плацента
Клетки крови	Толстая кишка	Предстательная железа
Костный мозг	Сердце	Кожа
Молочная железа	Почка (клубочек, каналец)	Спинной мозг
Головной мозг-мозжечок	Печень	Селезенка
Головной мозг-кора головного мозга	Легкое	Поперечно-полосатая мышца
Эндотелий	Лимфатический узел	Семенник
Глаз	Яичник	Тимус
Фаллопиева труба	Поджелудочная железа	Щитовидная железа
Пищевод	Паращитовидная железа	Небная миндалина
Антральный отдел желудка	Околоушная железа	Мочеточник
Тело желудка	Периферический нерв	Матка (шейка матки, эндометрий)
Для каждой ткани человека использовали три образца (от трех доноров), за исключением лимфатических узлов и гипофиза (2 образца) и паращитовидной железы (1 образец).		

Результаты

Жизнеспособность тканей подтверждали с применением антител к человеческому виментину, фактору фон Виллебранда (маркер эндотелия), цитокератину и трансферриновому рецептору (CD71).

Кроме того, криосрезы от всех тканей, окрашенные гематоксилином и эозином, указывают на то, что отсутствовал заметный аутолиз.

Результаты подбора дозы указывали на то, что разведение в соотношении 1:2000 для сыворотки 6529, День 31 (сыворотка от иммунизированной АСИ-24 обезьяны), являлось оптимальным, поскольку присутствовало специфичное окрашивание, наблюдаемое в амилоидных бляшках, и минимальное неспецифичное фоновое окрашивание окружающей ткани в ткани головного мозга человека с болезнью Альцгеймера. Отсутствие соответствующего положительного окрашивания наблюдали в ткани отрицательного контроля - коре головного мозга человека. Для подбора дозы у человека использовали разведение 1:2000, а также одно меньшее (1:1000) и одно большее (1:4000) разведение.

Отсутствие специфичного положительного окрашивания наблюдали для сыворотки 6529, День 31 (сыворотка от иммунизированной АСИ-24 обезьяны), в любой из исследуемых человеческих тканей. В большинстве тканей эта сыворотка неспецифично окрашивала гладкомышечные клетки (кровеносные сосуды, мышечная пластинка слизистой оболочки и мышечные слои), миоэпителиальные клетки и другие единичные стромальные клетки. В большинстве исследуемых тканей наблюдали неустойчивое неспецифичное окрашивание, которое считали обусловленным применением козьего антитела к IgG обезьяны, которое взаимодействовало как с сывороткой яванского макака 6529, День 31 (сыворотка от иммунизированной АСИ-24 обезьяны), так и с сывороткой отрицательного контроля (сыворотка от иммунизированной пустой липосомой обезьяны). Несмотря на то что интенсивность была выше в случае сыворотки 6529, День 31 (сыворотка от иммунизированной АСИ-24 обезьяны), чем в случае отрицательного контроля (сыворотка от иммунизированной пустой липосомой обезьяны), расположение и распределение окрашивания у сыворотки 6613, День 49 (сыворотка от иммунизированной пустой липосомой обезьяны), подразумевает, что его следует считать неспецифичным.

Минимальную величину неспецифичного окрашивания также наблюдали у отрицательного контроля с заменой буфера, и считают, что оно обусловлено недостаточным гашением эндогенной пероксидазы в гладких мышцах, соединительной ткани и макрофагах. Это минимальное неспецифичное окрашивание, которое считают

обусловленным эндогенной пероксидазой, добавляется к наблюдаемому в результате инкубирования с сывороткой 6529, Сутки 31 (сыворотка от иммунизированной АСИ-24 обезьяны), и сывороткой отрицательного контроля (сыворотка от иммунизированной пустой липосомой обезьяны).

Заключение

Результаты указывают на то, что отсутствовало специфичное положительное окрашивание, обусловленное антителами к АСИ-24 в сыворотке 6529, День 31. Таким образом, можно сделать вывод, что антитела яванского макака к АСИ-24 не обеспечивают перекрестную реакцию с человеческими тканями.

4.2.2 Токсичность повторных доз после подкожного введения АСИ-24 яванским макакам

Цель

Цель настоящего исследования заключалась в оценке потенциальной токсичности исследуемого препарата АСИ-24 при введении яванским макакам посредством подкожного пути каждые четыре недели в течение периода, составляющего 21 неделю.

По завершении периода обработки определенных животных содержали в течение двухнедельного периода ожидания для того, чтобы оценить обратимость любых наблюдаемых признаков токсичности.

Другой целью этого исследования являлся анализ Т-клеточного ответа, индуцируемого АСИ-24 у обезьян.

План

Две группы из трех самцов и трех самок яванских макаков получали обработку исследуемым препаратом АСИ-24 один раз каждые четыре недели посредством s.c. пути при уровнях дозы, составляющих 28 мкг (группа 3) или 78 мкг (группа 4) пептида/инъекция, причем общее количество составляло шесть инъекций (21 неделя). Пять самцов и пять самок яванских макаков получали обработку при уровне дозы, составляющем 311 мкг пептида/инъекция (группа 5), в соответствии с тем же планом обработки. Три самца и три самки (группа 2) получали обработку АСИ-24-пустой, а пять самцов и пять самок (группа 1) получали обработку PBS; обе из них использовали в качестве контрольных групп. Двух животных/пол из групп 1 и 5 сохраняли для двухнедельного периода восстановления.

Таблица 4. Распределение по группам в исследовании

Группа	Количество животных		Вводимая лекарственная форма	Объем инъекции/животное	Уровень дозы [мкг пептида/инъекция]	Концентрация пептида [мкг/мл]	Уровень дозы [мкг MPLA/инъекция]
	Самец	Самка					
1	5	5	PBS	0,8 мл	0	0	0
2	3	3	АСІ-24- (пустая)	0,8 мл	0	0	84
3	3	3	АСІ-24-30	0,2 мл	28	142	9
4	3	3	АСІ-24-125	0,2 мл	78	388	22
5	5	5	АСІ-24-500	0,8 мл	311	388	88

- Дозу вводили шесть раз со следующими интервалами: Неделя 1, 5, 9, 13, 17 и 21.
- Образцы крови для иммунотоксикологического исследования забирали со следующими интервалами: Неделя 15, 19 и 21.
- Образец крови для анализа иммунного ответа забирали каждую неделю (за исключением Недели 1).
- АСІ-24-30, АСІ-24-125 и АСІ-24-500 соответствуют целевой дозе антигена бета-амилоида 1-15; а именно 30 мкг, 125 мкг и 500 мкг, соответственно

Образцы крови для иммунотоксикологического анализа отбирали в течение периода перед обработкой, в Неделю 15, Неделю 19 и в конце периода обработки. Образцы крови для анализа иммунного ответа отбирали еженедельно (за исключением Недели 1) у всех животных в течение периода обработки, а у оставшихся животных из групп 1 и 5 в течение периода наблюдения.

Животных подвергали осмотру дважды в сутки для оценки смертности и клинических признаков. Значения массы тела регистрировали дважды в течение периода перед обработкой, в первые сутки получения обработки, а затем один раз в неделю до конца исследования. Ректальную температуру определяли перед обработкой (в сутки получения обработки) и через 6, 24 и 48 часов после обработки. Дополнительные измерения проводили в конце двухнедельного периода наблюдения для оставшихся животных в группах 1 и 5. Ректальную температуру регистрировали в День 15 для всех животных. Потребление корма оценивали ежесуточно в течение исследования. Офтальмологические исследования проводили на всех животных перед испытанием и один раз в конце периода обработки. Электрокардиографические исследования и измерения кровяного давления проводили на всех животных перед испытанием, затем спустя по меньшей мере два часа после введения первой дозы и один раз в конце периода обработки.

Гематологические исследования проводили на всех животных перед испытанием, затем в Недели 9, 15, 19, 21, 22 и в конце периода восстановления. Биохимический анализ крови проводили у всех животных перед испытанием, затем в Недели 9 и 22 (конец периода обработки) и в конце периода наблюдения. Анализ мочи проводили перед испытанием и в конце периода обработки. Эти анализы также проводили в конце периода наблюдения для оставшихся животных в группах 1 и 5.

Животных подвергали полному макроскопическому патологоанатомическому исследованию. Определенные органы взвешивали и выбранные образцы тканей сохраняли. Микроскопическое исследование осуществляли на определенных тканях от всех животных, которых умерщвляли в конце периода обработки.

Для исследования Т-клеточного ответа мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС) от обезьян, получавших обработку PBS, АСІ-24-пустой, АСІ-24-30, АСІ-24-125 или АСІ-24-500, собирали в период со Дня 113 по День 148 после первой иммунизации, что соответствовало моментам времени, когда наблюдали ответы с выработкой антител. РВМС подвергали повторной стимуляции конканавалином А (положительный контроль), А β 1-42, А β 1-15 или обрабатывали средой культивирования клеток (отрицательный контроль). Клетки подвергали предварительному инкубированию

со стимулирующим средством в течение трех часов, а затем переносили на планшеты для ELISPOT, где их инкубировали в течение 48 часов. Выявление клеток, вырабатывающих IFN- γ , IL-4 и IL-5, осуществляли с помощью системы для выявления на основе щелочной фосфатазы с применением ридера ELISPOT.

Результаты

Никаких внеплановых смертей или случаев преждевременного умерщвления не происходило во время исследования. Наблюдали утолщения, отеки и узелки с дозозависимой степенью тяжести в местах инъекции, и они сохранялись в течение 1-2 суток и 1-2 недель после введения лекарственных форм. Узелки наблюдали в течение одного месяца у некоторых животных независимо от уровня вводимой дозы. Отсутствие локальных реакций наблюдали у контрольных животных, получавших обработку PBS, или животных, получавших обработку ACI-24-пустой. Животные, получавшие обработку активными уровнями исследуемого препарата, демонстрировали слабые-умеренные локальные реакции в местах инъекции.

Значения массы тела и увеличения массы тела оказались аналогичными у контрольных животных и получавших обработку животных в течение периодов обработки и наблюдения. Оказалось, что обработка исследуемым препаратом не оказывала влияние потребление корма. Никаких офтальмологических изменений или результатов электрокардиографии не отмечали во время исследования у контрольных животных или получавших обработку животных. Оказалось, что гематологические и биохимические параметры крови и результаты анализа мочи были неизменными в различные оцениваемые моменты времени.

Вводимая инъекцией s.c. вакцина ACI-24 индуцировала сильные ответы с выработкой A β -специфичных IgG у пяти обезьян. Демонстрирующие ответ обезьяны получали обработку ACI-24-30 (одна обезьяна), ACI-24-125 (одна обезьяна) или ACI-24-500 (три обезьяны). Устойчивые титры IgG антител к A β наблюдали со Дня 120 и позже у трех обезьян, что говорит о том, что пять иммунизаций требовалось для того, чтобы вызвать ответ с выработкой антител IgG к A β у обезьян. Обезьяны, получавшие обработку PBS или пустыми липосомами, не демонстрировали какие-либо выявляемые антитела IgG к A β , что и ожидалось. Подобные результаты получали, когда ответ с выработкой A β -специфичных антител IgG измеряли в плазме крови вместо сыворотки. ACI-24 индуцировала титры антител IgM к A β у одной из обезьян, получавших наиболее высокую дозу (ACI-24-500). ACI-24 индуцировала титры антител IgG к MPLA у двух обезьян после ACI-24-30.

Полную обратимость отмечали в конце периода наблюдения. В местах инъекции узелки и утолщения подкожной ткани коррелировали с s.c. гранулематозным воспалением во всех получавших обработку группах, в том числе в получавшей среду контрольной группе (пустые липосомы). Все очаги в получавшей среду в контрольной группе характеризовались минимальной тяжестью. Минимальные очаги у животных, получавших активный исследуемый препарат, были подобными по своей природе.

Заключение

В условиях проведения эксперимента в исследовании установили, что NOAEL составляла 311 мкг пептида/инъекция после шести инъекций у яванских макаков, учитывая, что местные реакции, наблюдаемые в местах инъекций, не оказывали влияние на клинический статус у животных и соответствовали нормальной гранулематозной воспалительной реакции после s.c. инъекции инородного тела.

Это исследование также демонстрирует, что АСИ-24 способен преодолевать иммунную толерантность к Аβ1-15 у обезьян.

Результаты по IL-4 и отсутствие корреляции между секрецией IFN-γ РВМС от обезьян, иммунизированных АСИ-24 и подвергнутых повторной стимуляции Аβ1-15, вместе с очень низким Т-клеточным ответом указывают на преимущественный ответ Th2 в случае вакцины АСИ-24 и, следовательно, на положительный профиль безопасности АСИ-24.

4.2.3 13-Недельное исследование токсичности при подкожном пути у трансгенных мышей hAPP V717I

Цель

Цель этого соответствующего GLP исследования заключалась в оценке потенциальной токсичности АСИ-24 у трансгенных мышей, сверхэкспрессирующих человеческий белок-предшественник амилоида (hAPP V717I). Модель на трансгенных мышцах hAPP V717I выбрали, поскольку она отражает патофизиологию у пациентов с отложениями бляшек Аβ в головном мозге и, следовательно, является наиболее подходящей с биологической точки зрения для оценки безопасности АСИ-24.

План

Мышей hAPP V717I иммунизировали посредством подкожного введения АСИ-24 каждые две недели в течение всего периода обработки, составляющего 13 недель. Мышей hAPP V717I распределяли в пять различных групп, включающих три разные дозы пептида за инъекцию (80, 160 и 400 мкг; n=28), в то время как PBS и пустые липосомы (не содержащие пептидный антиген) служили в качестве отрицательных контролей (n=24). В

исследовании также оценивали токсичность MPLA, интегрированного в липосомы, в дозе 100 мкг MPLA на инъекцию.

План исследования кратко изложен в таблице 5.

Таблица 5. Распределение по группам в исследовании

Группа	Количество животных	Исследуемые или контрольные препараты	Концентрация пептида [мг/мл]	Объем инъекции [мл]	мкг пептида на инъекцию	MPLA (мкг) на инъекцию
1	24 самки	PBS	0	1,0 (2×0,5)	0	0
2	24 самки	АСI-24-пустая	0	1,0 (2×0,5)	0	76
3	28 самки	АСI-24	0,4	0,2	80	15
4	28 самки	АСI-24	0,4	0,4	160	30
5	28 самки	АСI-24	0,4	1,0 (2×0,5)	400	76

- Дозу вводили семь раз со следующими интервалами: День 1, Неделя 3, 5, 7, 9, 11 и 13.

Результаты

Иммунизация АСИ-24 индуцировала дозозависимый гуморальный иммунный ответ с выработкой антител к Аβ, которые преимущественно характеризовались как антитела IgG к Аβ и в меньшей степени как антитела IgM к Аβ, но не вызывала:

- связанную с обработкой смерть;
 - повышенную смертность;
 - значительные изменения клинических признаков;
 - изменения массы тела или относительной или абсолютной массы органов;
 - дозозависимые изменения гематологических и биохимических показателей.
- Некоторые не зависящие от дозы изменения считали имеющими ограниченную токсикологическую значимость.

Обработка АСИ-24 приводила к минимальной-умеренной подкожной фиброплазии в местах инъекций во всех получавших обработку группах с минимальным повышением

частоты и тяжести в получавших обработку липосомами группами (АСI-24 или пустые липосомы) по сравнению с контрольной группой с PBS.

Т-клеточный ответ

Спленоциты, выделенные из мышей, иммунизированных высокой дозой АСИ-24 (400 мкг), и подвергнутые повторной стимуляции *in vitro* пептидом Аβ1-15, значительно повышали количество секретирующих IL-4 клеток, что говорит о том, что АСИ-24, предпочтительно, индуцирует ответ Th2. Не наблюдали пролиферацию Т-клеток.

Локальное воспаление головного мозга

- Иммунизация АСИ-24 не индуцировала высвобождение провоспалительных цитокинов (IFN-γ, TNF-α, IL-6) в головном мозге у иммунизированных мышей, но была связана с незначительным снижением уровней IFN-γ, TNF-α и IL-6.
- Иммунизация высокими дозами АСИ-24 (400 мкг) не повышала присутствие Т-клеток (CD3, CD4 и CD8), макрофагов (F4/80) или В-клеток (B220 или CD45R) в головном мозге у иммунизированных мышей согласно результатам оценки с помощью иммуногистохимического окрашивания.
- Иммунизация АСИ-24 не повышала частоту возникновения микрокровоизлияний (окрашивание гемосидерина красителем Перлса) или уровень нагруженных коричневым пигментом периваскулярных макрофагов головного мозга при любом уровне дозы по сравнению с контрольной группой с PBS.
- Иммунизация АСИ-24 не изменяла плотность сосудов (коллаген IV типа) или повышала содержание положительных по тиофлавину-S амилоидных бляшек в сосудах, что указывает на низкий риск церебральной амилоидной ангиопатии (САА).

Заключение

Эти данные демонстрируют, что иммунизация АСИ-24 не индуцирует микрокровоизлияние, локальное воспаление головного мозга, проникновение периферических воспалительных клеток (Т-, В-клеток или макрофагов) или периваскулярное накопление Аβ, что указывает на то, что у АСИ-24 в качестве вакцины присутствует перспективный потенциал безопасности. Как подтверждено результатами этого исследования, NOAEL (максимальная доза препарата, не приводящая к развитию наблюдаемых неблагоприятных эффектов) составляла 400 мкг/инъекция АСИ-24 для системной токсичности.

4.2.4 12-Недельное исследование подкожной иммуногенности и токсичности у яванских макаков

Цель

Цель этого GLP исследования заключалась в оценке токсичности и иммуногенности различных партий ACI-24 при введении один раз каждые две недели подкожно яванским макакам в общей сложности пять раз.

План

План исследования объяснен в таблице 6.

Таблица 6. План исследования

Группа	Количество животных		Путь введения	Объем дозы (мл/инъекция)	Уровень дозы пептида (мкг) *	Доза MPLA (мкг)
	Самец	Самка				
Группа 1	3	3	s.c.	3	0 (PBS)	0
Группа 2	3	3		3	1323 мкг/инъекция (старая, сравнительный образец)*	204
Группа 3	3	3		2	880 мкг/инъекция (новая, партия 6.9)*	214
Группа 4	3	3		3	1320 мкг/инъекция (новая, партия 6.9)*	321
Группа 5	3	3		3	1278 мкг/инъекция (новая, партия 7.4)*	207

- Дозу вводили семь раз со следующими интервалами: День 1, 15, 29, 43 и 57.
- Образцы крови забирали со следующими интервалами: перед введением дозы, День 15, 29, 43, 57 и 71.

* Данные подробности относятся к изменениям в технологии производства, используемой для получения различных партий. Группе 2 вводили партию, которую ранее оценивали в токсикологических исследованиях, и, таким образом, ее использовали в качестве сравнительной группы. Группам 3, 4 и 5 вводили дополнительные партии, полученные в пересмотренных производственных условиях, которые приводят к ограниченному гидролизу MPLA в ходе первых стадий производственного процесса (что описано в международной заявке WO2012/055933, включенной в настоящий документ посредством ссылки). Помимо этого, pH конечного раствора снижали с 7,4 до 6,5 с целью улучшения стабильности MPLA во время хранения.

Во время исследования всех животных подвергали осмотру по меньшей мере дважды в сутки для оценки жизнеспособности/смертности и клинических признаков. Области инъекции подвергали осмотру ежесуточно в течение периодов обработки и восстановления.

Потребление корма оценивали для каждой клетки (количественно) дважды в сутки в течение исследования. Всех животных взвешивали дважды в неделю в течение периода перед исследованием, а затем еженедельно в течение периодов обработки и восстановления.

Образцы крови собирали для клинических лабораторных исследований в течение периода перед исследованием и в конце периода обработки (неделя 12).

Образцы крови собирали для определения антител IgG к бета-амилоиду один раз в течение периода перед исследованием и спустя 14 суток после каждого введения.

При завершении образцы крови собирали для получения сыворотки, плазмы крови и РВМС, которые либо хранили, либо подвергали анализу в рамках отдельного исследования.

После завершения запланированного периода обработки животных из групп 1, 3 и 4 подвергали вскрытию и определяли массу различных органов. Регистрировали макроскопические изменения. Полный набор тканей и органов собирали, подвергали обработке и гистологической оценке. Животных из групп 2 и 5 сохраняли для будущей исследовательской работы и, следовательно, в дальнейшем удаляли из исследования.

Результаты

Никаких смертей не происходило во время исследования. Отсутствовали соответствующие клинические признаки или локальные эффекты в местах инъекции. В течение периода обработки не наблюдали эффектов ни в отношении потребления корма, ни в отношении массы тела.

Подкожное введение трех составов АСИ-24 индуцировало сравнимый профиль антител IgG к Аβ во всех группах, тем самым указывая на подходящую корреляцию между партиями. Одно животное, вакцинированное АСИ-24 «новая партия 6.9» (группа 3, самка 24), со Дня 43 и позже демонстрировало устойчивые титры антител IgG к Аβ, которые были в три раза выше, чем обычно наблюдаемые. Обезьяны, получавшие дозу PBS, не демонстрировали какие-либо выявляемые антитела IgG к Аβ, что и ожидалось.

Отсутствовали соответствующие изменения в гематологических или биохимических параметрах крови.

Отсутствие соответствующих макроскопических результатов или заслуживающих внимания изменений в массах органов регистрировали при вскрытии.

Результаты гистологических исследований в местах инъекции, состояли из очага/очагов мононуклеарных клеток в подкожной ткани с повышенной частотой возникновения в группе 3 и повышенной частотой возникновения и тяжестью в группе 4. Эти результаты присутствовали у обезьян во всех оцениваемых группах (1, 3 и 4), в том числе у одного контрольного самца. Эти изменения имели минимальную-незначительную интенсивность, и их распространение являлось строго локальным.

Заключение

Пять подкожных введений, один раз каждые две недели, яванским макакам (в дозе примерно до 1320 мкг/инъекция) при использовании различных партий АСИ-24 хорошо переносились при отсутствии эффектов в отношении массы тела, потребления корма или параметров клинической лабораторной диагностики.

На основании полученных результатов и в этих условиях исследования все оцениваемые партии АСИ-24 считали сравнимыми с точки зрения токсичности и иммуногенности, причем дозу, составляющую приблизительно 1320 мкг/инъекция, в настоящее время рассматривают как NOAEL (максимальная доза препарата, не приводящая к развитию наблюдаемых неблагоприятных эффектов).

Пример 5. Двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование фазы 2 для оценки безопасности, переносимости и воздействия на мишень АСИ-24 у взрослых с синдромом Дауна

Основные критерии эффективности:

- Количество участников с неблагоприятными явлениями (АЕ), которые оценивали на основании интенсивности (слабая, умеренная или сильная) и причинно-следственной связи (несвязанные, маловероятно связанные, возможно связанные или вероятно связанные)

[Временные рамки: от скрининга до Недели 100]

- Среднее изменение относительно исходного уровня основных показателей жизнедеятельности организма
систолического и диастолического кровяного давления (мм. рт. ст.), частоты сердечных сокращений (количество ударов в минуту), температуры тела (градусы Цельсия)

[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]

- Среднее изменение относительно исходного уровня в суицидальных мыслях/поведении с применением Колумбийской шкалы оценки выраженности суицидальных намерений (C-SSRS)
[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]
- Количество участников, сообщающих о суицидальных мыслях или поведении при применении Колумбийской шкалы оценки выраженности суицидальных намерений (C-SSRS) [Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]
- Количество участников с аномальными результатами MPT
Возникновение связанных с амилоидом аномалий визуализации (ARIA)
[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]

Вторичные критерии эффективности:

- Изменение относительно исходного уровня совокупного соотношения стандартизированных уровней накопления (SUVR), которое оценивали с помощью визуализации амилоида методом ПЭТ с применением флорбетабена
[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 76]
- Изменение относительно исходного уровня титров антител к A β в крови
[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]
- Изменение относительно исходного уровня связанных с амилоидом биологических маркеров (A β 1-40, A β 1-42), общего тау-белка, фосфорилированного тау-белка и NfL в крови/CSF (пг/мл) (измерение в CSF является необязательным).
[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]
- Изменение относительно исходного уровня нагрузки тау-белка в головном мозге, оценивали посредством визуализации тау-белка методом ПЭТ
[Временные рамки: от скрининга до Недели 74]
- Изменение относительно исходного уровня когнитивных показателей с применением Кембриджской автоматизированной батареи нейропсихологических тестов: тест на парное ассоциативное обучение [CANTAB-PAL]
Оценка представляет собой z-оценку, находящуюся в диапазоне от -7,5 до 0. Более высокая оценка (например, 0) указывает на лучший результат.
[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]
- Изменение относительно исходного уровня когнитивных показателей с применением Кембриджского теста когнитивных функций для синдрома Дауна [CAMCOG-DS]
[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]

Общая оценка находится в диапазоне от 0 до 107. Более высокая оценка указывает на лучший результат.

- Изменение относительно исходного уровня адаптивного поведения (шкала адаптивного поведения Вайнленд)

[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]

Совокупная оценка находится в диапазоне от 20 до 140. Более высокая оценка указывает на лучший результат.

- Изменение относительно исходного уровня согласно Шкале оценки общего клинического впечатления (CGIC)

[Временные рамки: от исходного момента времени до Недели 100]

Оценка находится в диапазоне от 1 до 7. Более высокая оценка указывает на худший результат.

Способ

Это исследование представляет собой многоцентровое проспективное плацебо-контролируемое двойное слепое рандомизированное исследование для оценки воздействия одной дозы вакцины ACI-24 по сравнению с плацебо в течение 74-недельного периода обработки и 26-недельного периода последующего наблюдения для оценки безопасности.

После периода скрининга допущенных субъектов рандомизируют в соотношении 1:1 для получения либо ACI-24, либо соответствующего плацебо, причем оба из них вводят посредством внутримышечного пути. Приблизительно 72 субъекта (36 субъектов получают 1000 мкг ACI-24, и 36 субъектов получают плацебо) рандомизируют в исследовании.

Субъекты получают обработку с повторными введениями ACI-24 (доза 1000 мкг) или соответствующего плацебо посредством внутримышечного пути. ACI-24 (доза 1000 мкг) или плацебо вводят 8 раз (каждый раз дозу исследуемого средства для лечения вводят в виде 2 отдельных одновременных внутримышечных инъекций): первые 4 введения осуществляют с 4-недельными интервалами (W0, W4, W8 и W12); следующие 3 введения осуществляют с 12-недельными интервалами (W24, W36 и W48); и последнее введение осуществляют в W74 (26-недельный интервал относительно предыдущего введения). За 74-недельным периодом обработки следует 26-недельный период последующего наблюдения для оценки безопасности.

Критерии включения:

- Субъекты-мужчины или субъекты-женщины с DS, причем цитогенетический диагноз представляет собой либо трисомию по хромосоме 21, либо полную несбалансированную транслокацию хромосомы 21.
- Возраст ≥ 40 и ≤ 50 лет на момент скрининга.
- Повышенный уровень A β в головном мозге, о чем свидетельствует показатель совокупного SUVR $\geq 1,25$ согласно результатам ПЭТ-сканирования с флорбетабеном, которые оценивали с помощью центрального считывания.
- Субъекты, их юридические представители (в соответствующих случаях) и/или их партнеры в исследовании, по мнению исследователя, способны к пониманию и могут давать письменное информированное согласие перед началом какой-либо связанной с исследованием деятельности.
- По мнению исследователя, субъекты, их юридические представители (в соответствующих случаях) и/или их партнеры в исследовании способны принимать полное участие в исследовании, имеют достаточный уровень владения официальным(официальными) языком(языками) страны, в которой они живут, и способны гарантировано завершить процедуры оценки в ходе исследования.
- Умственная отсталость со степенью тяжести от легкой до умеренной согласно классификации Диагностического и статистического руководства по психическим расстройствам (DSM-5).
- Субъекты должны иметь партнера в исследовании, который имеет непосредственный и регулярный контакт с субъектом и который способен предоставлять достоверные ответы на вопросы, относящиеся к субъекту, в соответствии с указаниями исследователя.
- Субъекты на доклинической стадии AD или со слабым когнитивным нарушением, обусловленным AD.

Перечень источников

Belichenko PV, Madani R, Rey-Bellet L, et al. An Anti- β -Amyloid Vaccine for Treating Cognitive Deficits in a Mouse Model of Down Syndrome. PLOS ONE. 2016;11(3):e0152471.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Mini-Mental State": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician J Psychiatr Res 12: 189 – 198

Gilman S., Koller M., Black R.S., Jenkins L., Griffith S.G., Fox N.C., Eisner L., Kirby L., Boada Rovira M., Forette F., Orgogozo J.M., Clinical effect of A β immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. Neurology 64, 1553-1562 (2005).

Hartley SL, Handen BL, Devenny D, et al. Cognitive decline and brain amyloid- β accumulation across 3 years in adults with Down syndrome. Neurobiology of aging. 2017;58:68-76.

Head E, Powell D, Gold BT, Schmitt FA. Alzheimer's Disease in Down Syndrome. European journal of neurodegenerative disease. 2012;1(3):353-364.

Hughes CP, Berg L, Danzinger WL et al (1982) A new clinical scale for the staging of dementia. Am J Psychiatry; 140: 566 – 572

Monsonogo A., Weiner H.L., Immunotherapeutic approaches to Alzheimer's disease. Science. 31;302(5646):834-8 (2003).

Muhs A., Hickman D.T., Pihlgren M., Chuard N., Giriens V., Meerschman C., van der Auwera I., van Leuven F., Sugawara M., Weingertner M.-C., Bechinger B., Greferath R., Kolonko N., Nagel-Steger L., Riesner D., Brady R.O., Pfeifer A., Nicolau C., Liposomal vaccines with conformation-specific amyloid peptide antigens define immune response and efficacy in APP transgenic mice. PNAS, 104 23:9810-9815 (2007).

Nasreddine ZS, Phillips NA, et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A brief screening tool for mild cognitive impairment. J Am Geriatr Soc. 2005;53:695-699.

Orgogozo J.M., Gilman S., Dartigues J.F., Laurent B., Puel M., Kirby L.C., Jouanny P., Dubois B., Eisner L., Flitman S., Michel B.F., Boada M., Frank A., Hock C., Subacute

meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abet42 immunization. *Neurology* 61: 46-54 (2003).

Prasher VP, Huxley A, Haque MS (2002) A 24-week, doubleblind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Down syndrome and Alzheimer's disease—pilot study. *Int J Geriatr Psychiatry* 17(3):270–278 (PMID: 11921156)

Pihlgren M., Silva A.B., Madani R., Giriens V., Waeckerle-Men Y., Fettelschoss A., Hickman D.T., López-Deber M.P., Ndao D.M., Vukicevic M., Buccarello A.L., Gafner V., Chuard N., Reis P., Piorkowska K., Pfeifer A., Kündig T.M., Muhs A., Johansen P., TLR4- and TRIF-dependent stimulation of B lymphocytes by peptide liposomes enables T cell-independent isotype switch in mice. *Blood*. Jan 3;121(1):85-94 (2013).

Soto C., Plaque busters: strategies to inhibit amyloid formation in Alzheimer's disease. *Molecular Medicine Today* (vol 5), August 1999.

Winblad B., Graf A., Riviere M.E., Andreasen N., Ryan J.M., Active immunotherapy options for Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2014 Jan 30;6(1):7.

Если не указано иное, все технические и научные термины, применяемые в данном документе, имеют те же значения, которые обычно понятны квалифицированному специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Все публикации и патенты, специально упомянутые в настоящем документе, включены посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей применительно к настоящему изобретению.

Настоящее изобретение не ограничено в объеме конкретными вариантами осуществления, описанными в настоящем документе. В действительности, различные модификации настоящего изобретения дополнительно к описанным в настоящем документе станут очевидны специалистам в данной области техники из вышеизложенного описания и прилагаемых фигур. Такие модификации, как предполагается, попадают в рамки объема пунктов приложенной формулы изобретения. Более того, все аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в настоящем документе, рассматривают как, в целом, применимые и комбинируемые с любыми и всеми другими соответствующими вариантами осуществления, в том числе с вариантами осуществления, которые взяты из других аспектов настоящего изобретения (в том числе в отрыве от них), в соответствующих случаях.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:
 - a. полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген, представленный на поверхности липосомы, который содержит, состоит, по существу, из или состоит из аминокислот 1-15 A β ; и
 - b. адъювант, содержащий монофосфорил-липид А (MPLA),
для применения в индукции иммунного ответа с выработкой антител к A β у субъекта-человека без индукции серьезного неблагоприятного явления, причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводится в количестве, составляющем 300-2000 мкг.
2. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 1, причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводится в количестве, составляющем 500-2000 мкг, предпочтительно, 1000-1500 мкг, более предпочтительно, в количестве, составляющем 1000 мкг.
3. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 1 или п. 2, причем MPLA вводится в количестве, составляющем 15-600 мкг, как например, 50-600 мкг, предпочтительно, 150-450 мкг и, более предпочтительно, 175 или 225 мкг.
4. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-3, причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводится в количестве от 850 до 1150 мкг, предпочтительно, 1000 мкг, и адъювант MPLA вводится в количестве, составляющем от 50 до 300 мкг, предпочтительно, 175 или 225 мкг.
5. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-3, причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген вводится в количестве от 255 до 345 мкг, предпочтительно, 300 мкг, и адъювант MPLA вводится в количестве, составляющем от 15 до 90 мкг, предпочтительно, 52,5 или 67,5 мкг.
6. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-5, причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген является липидированным.
7. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-6, причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген является тетрапальмитоилированным.
8. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-7, причем адъювант образует часть наружного слоя липосомы, необязательно, при этом адъювант является по меньшей мере частично представленным на поверхности липосомы.

9. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-8, причем монофосфорил-липид А (MPLA) содержит синтетический монофосфорил-липид А (MPLA).

10. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 9, причем монофосфорил-липид А (MPLA) содержит монофосфорилгексаацил-липид А, 3-дезацил (синтетический) (3D-(6-ацил) PHAD®) и/или фосфорилированный гексаацилдисахарид (PHAD®).

11. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-10, причем липосома содержит фосфолипиды.

12. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-11, причем фосфолипиды содержат димиристоилфосфатидилхолин (DMPC) и димиристоилфосфатидилглицерин (DMPG).

13. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-12, причем липосома содержит холестерин.

14. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 13, причем молярное отношение димиристоилфосфатидилхолин (DMPC): димиристоилфосфатидилглицерин (DMPG): холестерин составляет 9:1:7.

15. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 14, причем молярное отношение димиристоилфосфатидилхолин (DMPC): димиристоилфосфатидилглицерин (DMPG): холестерин: MPLA составляет 9:1:7:0,05.

16. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-15, причем липосомальная вакцинная композиция вводится с помощью инъекции.

17. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-16, причем липосомальная вакцинная композиция вводится внутримышечно или подкожно.

18. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 17, причем липосомальная вакцинная композиция вводится внутримышечно.

19. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 17, причем липосомальная вакцинная композиция вводится подкожно.

20. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-19, причем липосомальная вакцинная композиция вводится в первый раз и вводится во второй раз спустя 1-4 недели.

21. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-20, причем липосомальная вакцинная композиция вводится каждые 4-12 недель в течение периода, составляющего по меньшей мере 48 недель, предпочтительно, при этом липосомальная вакцинная композиция вводится каждые 4 недели в течение периода,

составляющего 12 недель, и каждые 12 недель в течение дальнейшего периода, составляющего по меньшей мере 36 недель.

22. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-21, дополнительно предусматривающая введение бустер-дозы в последующий момент времени.

23. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-22, причем индуцированный иммунный ответ с выработкой антител к А β предназначен для лечения, предупреждения, индукции защитного иммунного ответа против ассоциированного с бета-амилоидом заболевания или состояния или облегчения симптомов, ассоциированных с заболеванием или состоянием, ассоциированным с бета-амилоидом, у субъекта-человека.

24. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 23, причем ассоциированное с бета-амилоидом заболевание или состояние является выбранным из болезни Альцгеймера, легкого когнитивного нарушения (MCI), синдрома Дауна (DS), в том числе связанной с синдромом Дауна болезни Альцгеймера, амилоидоза сердца, церебральной амилоидной ангиопатии (CAA), рассеянного склероза, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, ALS (боковой амиотрофический склероз), диабет зрелого возраста, миозита с включенными тельцами (IBM), амилоидоза глаза, глаукомы, макулярной дегенерации, решетчатой дистрофии и неврита зрительного нерва.

25. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 24, причем ассоциированное с бета-амилоидом заболевание или состояние представляет собой болезнь Альцгеймера.

26. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 25, причем болезнь Альцгеймера представляет собой болезнь Альцгеймера на ранней стадии.

27. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 26, причем болезнь Альцгеймера на ранней стадии включает в себя легкое когнитивное нарушение, обусловленное болезнью Альцгеймера, и болезнь Альцгеймера с легкой степенью тяжести.

28. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 25, причем болезнь Альцгеймера представляет собой болезнь Альцгеймера с легкой степенью тяжести.

29. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 25, причем болезнь Альцгеймера представляет собой болезнь Альцгеймера со степенью тяжести от легкой до умеренной.

30. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 25, причем болезнь Альцгеймера представляет собой болезнь Альцгеймера с умеренной степенью тяжести.

31. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 25, причем болезнь Альцгеймера не представляет собой тяжелую болезнь Альцгеймера.

32. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 24, причем ассоциированное с бета-амилоидом заболевание или состояние представляет собой синдром Дауна.

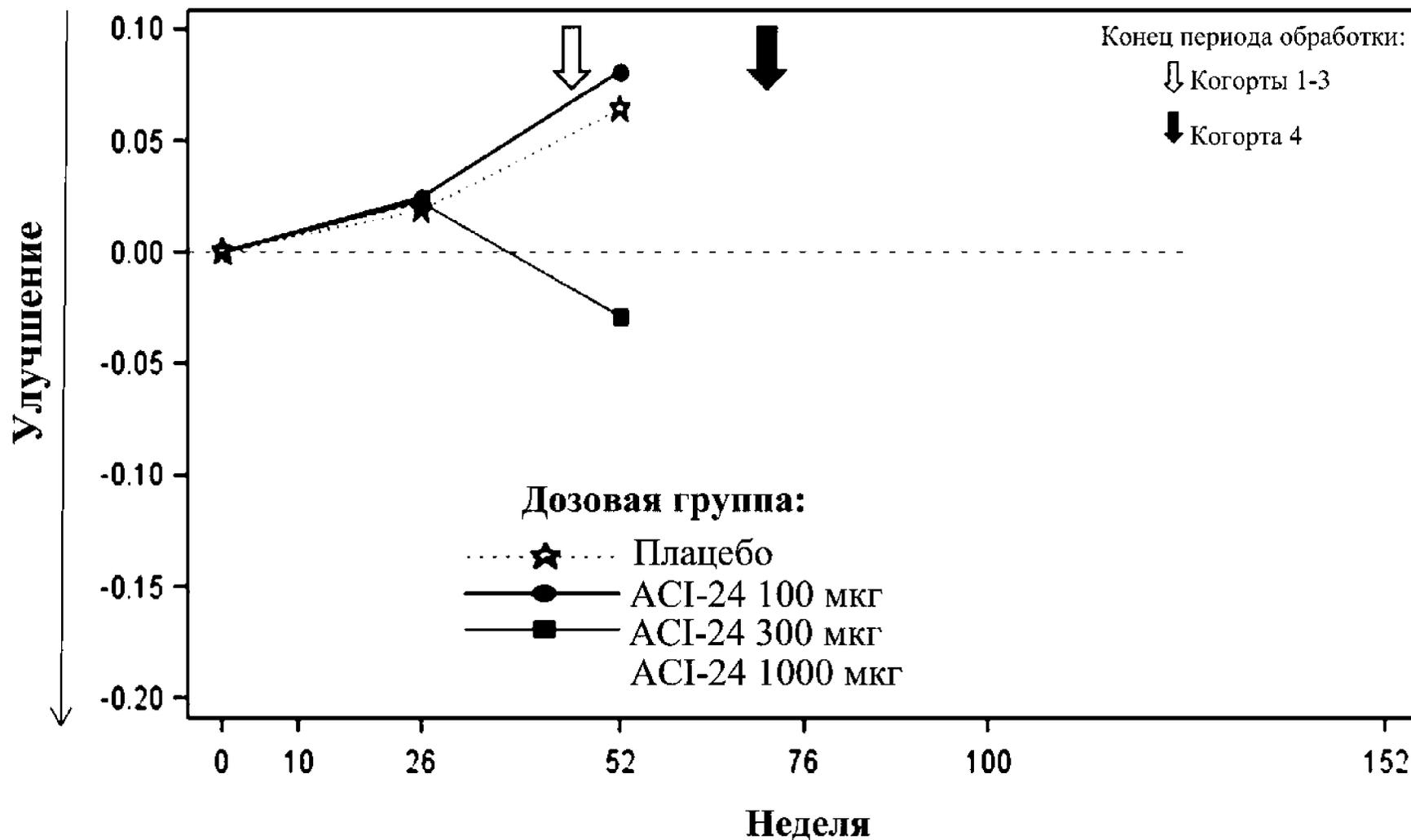
33. Липосомальная вакцинная композиция для применения по п. 24 или п. 32, причем ассоциированное с бета-амилоидом заболевание или состояние представляет собой связанную с синдромом Дауна болезнь Альцгеймера.

34. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-33, причем субъект-человек до лечения демонстрирует когнитивную функцию, соответствующую оценке по Краткой шкале оценки психического статуса (MMSE), составляющей по меньшей мере 18, как например, 18-28, или по меньшей мере 20, как например, 20-28.

35. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-34, причем полученный из β -амилоида (A β) пептидный антиген представляет собой тетрапальмитоилированный бета-амилоид 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 1.

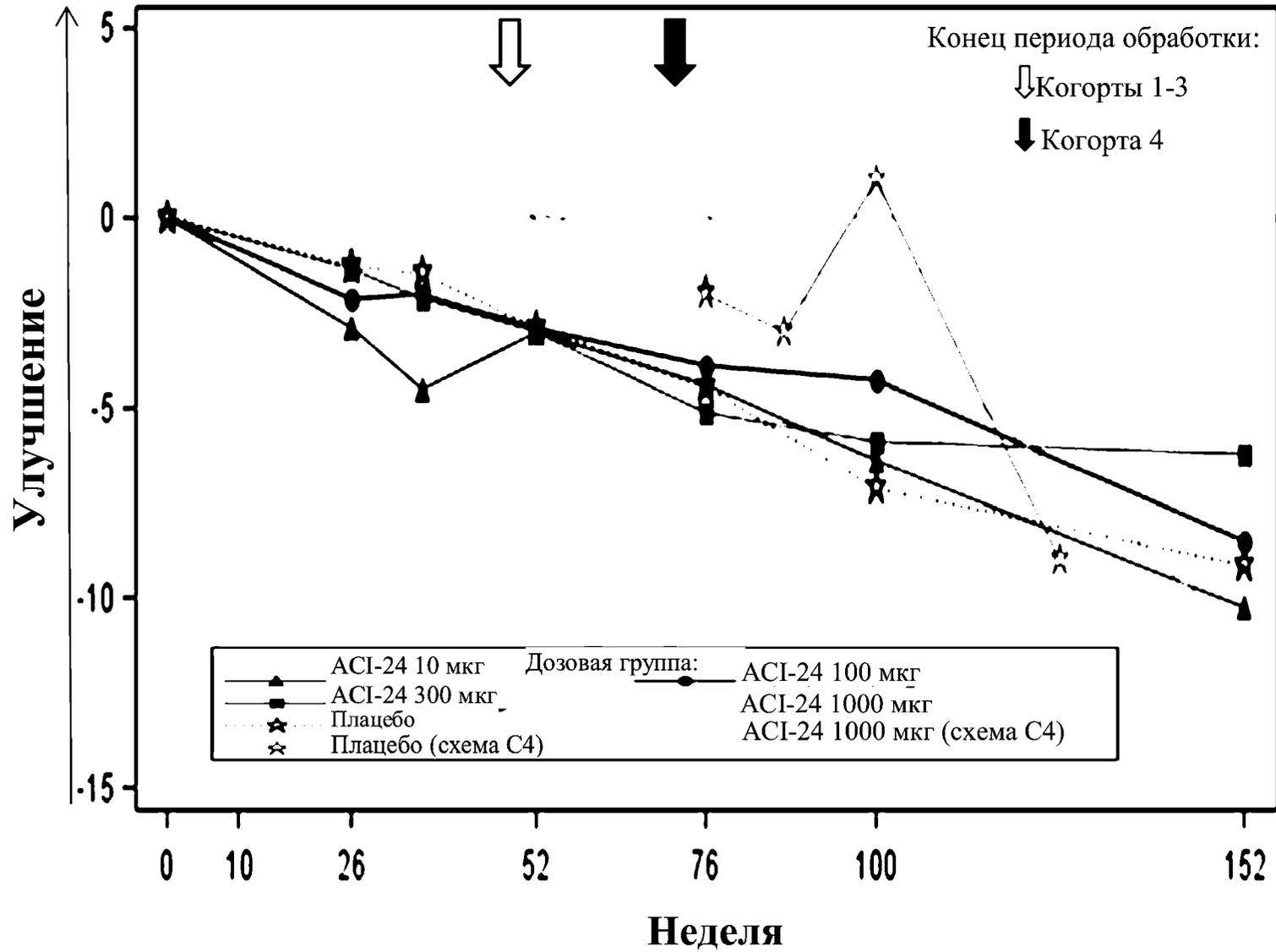
36. Липосомальная вакцинная композиция для применения по любому из пп. 1-35, причем вводимое количество бета-амилоида 1-15, который изложен в SEQ ID NO: 2, составляет 152-1016 мкг.

Изменение совокупного SUVR-MCG

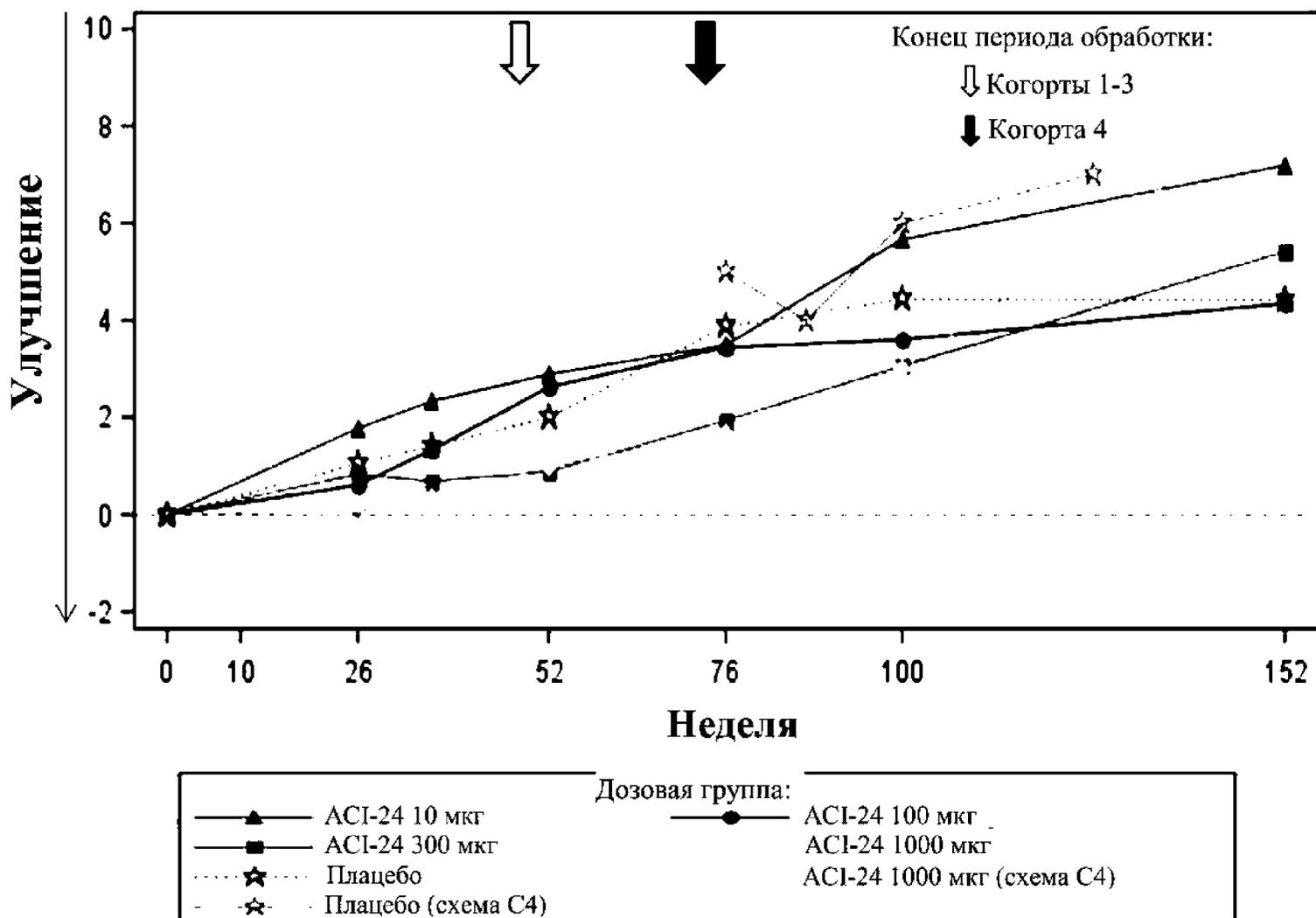


Фиг. 1

Изменение общей оценки MMSE



Изменение оценки CDR-SB



Фиг. 3