

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202292121 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2022.12.07(51) Int. Cl. A61K 39/12 (2006.01)  
A61P 31/20 (2006.01)(22) Дата подачи заявки  
2021.02.09

## (54) ВАКЦИНА ПРОТИВ HPV

(31) 62/976,673

(32) 2020.02.14

(33) US

(86) PCT/US2021/017157

(87) WO 2021/163002 2021.08.19

(71) Заявитель:  
МЕРК ШАРП ЭНД ДОУМ ЛЛС (US)

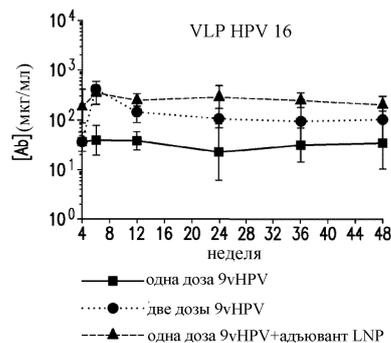
(72) Изобретатель:

Джинди Мэриан Е., Билелло Джон П.,  
Эспесет Эми С., Бетт Эндрю Дж., Фу  
Тун-Мин (US)

(74) Представитель:

Строкова О.В., Гизатуллин Ш.Ф.,  
Гизатуллина Е.М., Прищепный С.В.,  
Джермакян Р.В., Христофоров А.А.,  
Угрюмов В.М., Костюшенкова М.Ю.  
(RU)

(57) Изобретение относится, среди прочего, к фармацевтической композиции, которая включает адъювант на основе липидных наночастиц и вирусоподобные частицы (VLP) против вируса папилломы человека (HPV), содержащие HPV, по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82.



A1

202292121

202292121

A1

## **ВАКЦИНА ПРОТИВ HPV**

### **Описание**

#### **Область техники настоящего изобретения**

Настоящее изобретение в общем относится к профилактике инфекции, вызванной вирусом папилломы человека (HPV). Более конкретно, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям и составам, вводимым как однодозовая вакцина, которые включают вирусоподобные частицы (VLP) HPV и адъювант на основе липидных наночастиц (LNP). Настоящее изобретение относится, среди прочего, к однодозовой вакцинной композиции, которая включает липидные наночастицы и вакцину против вируса папилломы человека (HPV), где однократное введение вакцинной композиции приводит к сопоставимому или усиленному иммунному ответу по сравнению с многократными введениями той же вакцины против HPV, составленной (или той же вакциной против HPV, вводимой) без адъюванта на основе LNP. Кроме того, настоящее изобретение относится к способам применения раскрытых композиций и составов.

#### **Ссылка на родственные заявки**

Согласно настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с заявкой U.S.S.N. 62/976673, поданной 14 февраля 2020, раскрытие которой включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

#### **Предшествующий уровень техники настоящего изобретения**

Вирусы папилломы человека (HPV) представляют собой небольшие двухцепочечные ДНК-вирусы, поражающие кожу и внутренний плоский эпителий слизистых оболочек у мужчин и женщин. HPV классифицируют на основании их канцерогенных свойств. HPV включают основной (L1) и минорный (L2) капсидные белки. Было идентифицировано более 200 различных генотипов HPV (Li et al., "Rational design of a triple-type human papillomavirus vaccine by compromising viral-type specificity," *Nature*, 9:5360 (2018)), многие из которых были связаны с патологиями в диапазоне от доброкачественных пролиферативных бородавок до злокачественных карцином шейки матки (для обзора см. McMurray et al., *Int. J. Exp. Pathol.* 82(1): 15-33 (2001)). К группе «высокого риска» относятся типы HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 68 и 59 (Chan et al., "Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer: Epidemiology, Screening, and Vaccination—Review of Current Perspectives," *Journal of Oncology*, vol. 2019, Article ID 3257939, 11 pages, 2019.)

HPV является основным этиологическим агентом при раке шейки матки, одного из самых частых видов рака у женщин, а также плоскоклеточном раке ануса, миндалин, языка, вульвы, влагалища и полового члена. HPV16 и HPV18 хорошо известны как наиболее вирулентные среди типов HPV высокого риска, поскольку они вызывают около 70% всех случаев инвазивного рака шейки матки в мире.

Папилломавирусы представляют собой небольшие (50-60 нм в диаметре) безоболочечные ДНК-вирусы с икосаэдрической формой, которые кодируют ранние (E1-E7) и поздние (L1-L2) гены. Белок L1 является основным капсидным белком и имеет молекулярную массу 55-60 кДа. Экспрессия белка L1 или комбинации белков L1 и L2 в дрожжах, клетках насекомых, клетках млекопитающих или бактериях приводит к самосборке вирусоподобных частиц (VLP) (для обзора см. Schiller and Roden, in *Papillomavirus Reviews: Current Research on Papillomaviruses*, Lacey, ed. Leeds, UK: Leeds Medical Information, pp 101-12 (1996)).

VLP морфологически подобны аутентичным вирионам и способны индуцировать высокие титры нейтрализующих антител при введении животным или человеку. Поскольку VLP не содержат потенциально онкогенного вирусного генома, они представляют собой безопасную альтернативу использованию живого вируса при разработке вакцин против HPV (для обзора см. Schiller and Hidesheim, *J. Clin. Virol.* 19: 67-74 (2000)). По этой причине гены L1 и L2 были идентифицированы как иммунологические мишени для разработки профилактических и терапевтических вакцин против инфекции и заболевания, вызываемых HPV.

Вакцины на основе VLP доказали свою эффективность при индукции иммунных ответов у пациентов-людей, вакцинированных бивалентными вакцинами на основе VLP HPV 16 и 18 (Harper *et al.* *Lancet* 364(9447): 1757- 65 (2004)), четырехвалентными вакцинами на основе VLP HPV 6, 11, 16 и 18 (Villa *et al.* *Vaccine* 24: 5571-5583 (2006)) и поливалентными вакцинами на основе VLP HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58. Три утвержденные вакцины против HPV на основе VLP вводят в соответствии с 2-х или 3-х дозовыми схемами. CERVARIX® (GlaxoSmithKline Biologics, Rixensart, Belgium) представляет собой двухвалентную вакцину, защищающую от HPV 16 и 18. GARDASIL® и GARDASIL®9 (Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA) защищают от двух и семи дополнительных типов HPV, соответственно, и предотвращают дополнительные аногенитальные заболевания, связанные с HPV, включая образование бородавок. Дополнительные пять штаммов высокого риска в GARDASIL®9 по сравнению с GARDASIL® повышают защиту против от около 70% до около 90% аногенитальных злокачественных новообразований (*Id.*, M. Nygård, *et al.*, "Evaluation of the long-term anti-human papillomavirus 6 (HPV6), 11, 16, and 18 immune responses generated by the quadrivalent HPV vaccine," *Clinical and Vaccine Immunology*, vol. 22, no. 8, pp. 943–948, 2015.)

Несмотря на улучшение, показатели вакцинации против HPV во всем мире остаются субоптимальными. Уровень охвата вакцинацией против HPV во всем мире можно повысить посредством сокращения количества посещений медицинских работников, необходимых для вакцинации, повышения уровня информированности о профилактике заболеваний, вызванных HPV, и смягчения социальной стигматизации, связанной с вакцинацией. По оценкам, доля подростков в Америке и Европе, завершивших серию двухдозовой вакцинации, составляет менее 50%. Соответственно, желательно улучшить показатели вакцинации против HPV путем создания иммунитета против HPV посредством однократного введения, которое обеспечивает сопоставимый иммунный ответ по сравнению с существующей 2-3-дозовой вакциной против HPV.

Неожиданно было обнаружено, что однократная инъекция адъюванта на основе LNP в комбинации с вакциной против HPV обеспечивает сопоставимый или усиленный начальный иммунный ответ против HPV по сравнению со стандартным многодозовым протоколом известной поливалентной вакцины против HPV, содержащей алюминиевый адъювант.

### **Сущность настоящего изобретения**

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере один тип VLP из вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, адъювант на основе липидных наночастиц (LNP) и фармацевтически приемлемый носитель. Согласно одному аспекту настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей алюминиевый адъювант и VLP по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, адъювант на основе LNP и фармацевтически приемлемый носитель.

Кроме того, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей:

(a) VLP по меньшей мере одного типа HPV (VLP HPV), где по меньшей мере один тип HPV выбран из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и (b) от около 1 мкг до около 200 мг адьюванта на основе LNP, где VLP HPV содержат рекомбинантный белок L1 или рекомбинантный белок L1 + L2 по меньшей мере одного HPV, где VLP любого из по меньшей мере одного типа HPV присутствуют в концентрации от около 1 мкг до около 100 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, где общая концентрация VLP составляет от 1 мкг до 2000 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции.

Кроме того, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей:

(a) VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, где по меньшей мере один тип HPV выбран из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, (b) от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта и (c) от около 1 мкг до около 200 мг адьюванта на основе липидных наночастиц (LNP), где VLP HPV содержат рекомбинантный белок L1 или рекомбинантный белок L1 + L2 по меньшей мере одного HPV, где VLP любого из по меньшей мере одного типа HPV присутствуют в концентрации от около 1 мкг до около 100 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, где общая концентрация VLP составляет от 1 мкг до 2000 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, и где VLP HPV адсорбированы на алюминиевом адьюванте.

Кроме того, настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает (a) адьювант на основе липидных наночастиц (LNP), где адьювант на основе LNP содержит один или несколько катионных липидов в количестве от около 30 мол.% до около 65 мол.%, один или несколько конъюгатов липида и полимера в количестве от около 0,5 мол.% до около 4,0 мол.%, один или несколько фосфолипидов в количестве от около 5 мол.% до около 30 мол.%, холестерин в количестве от около 10 мол.% до около 40 мол.%, (b) вакцинную композицию против HPV, содержащую VLP по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, или VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, где однодозовая вакцинная композиция приводит к повышенному или сопоставимому иммунному ответу против HPV по сравнению с многократными дозами той же композиции, составленной или вводимой без адьюванта на основе LNP.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против HPV у пациента-человека, предусматривающему введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, адьювант на основе LNP, фармацевтически приемлемый носитель и необязательно алюминиевый адьювант.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против HPV у пациента-человека, предусматривающему введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей:

(a) VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, где по меньшей мере один тип вируса папилломы человека (HPV) выбран из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, (b) необязательно от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта и (c) от около 1 мкг до около 200 мг адьюванта на основе липидных наночастиц (LNP), где VLP HPV содержат рекомбинантный белок L1 или рекомбинантный белок L1 + L2 по меньшей мере одного типа HPV, где VLP HPV любого по меньшей мере одного типа HPV присутствуют в концентрации от около 1 мкг до около 100

мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, где общая концентрация VLP составляет от 1 мкг до 2000 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, и где VLP HPV адсорбированы на алюминиевом адъюванте, если алюминиевый адъювант присутствует.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против HPV у пациента-человека, предусматривающему введение пациенту однодозовой вакцинной композиции, которая включает: (a) адъювант на основе LNP, где адъювант на основе LNP содержит один или несколько катионных липидов в количестве от около 30 мол.% до около 65 мол.%, один или несколько конъюгатов липида и полимера в количестве от около 0,5 мол.% до около 4,0 мол.%, один или несколько фосфолипидов в количестве от около 5 мол.% до около 30 мол.%, холестерин в количестве от около 10 мол.% до около 40 мол.%, (b) (i) вакцинную композицию против HPV, содержащую VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, или (ii) VLP HPV по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, где однодозовая вакцинная композиция приводит к повышенному или сопоставимому иммунному ответу против HPV по сравнению с многократными дозами той же композиции, составленной или вводимой без адъюванта на основе LNP.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против HPV у пациента-человека, предусматривающему введение пациенту (a) фармацевтической композиции, содержащей VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и (b) адъювант на основе LNP.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против HPV у пациента-человека, предусматривающему введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей VLP HPV по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и адъювант на основе LNP, фармацевтически приемлемый носитель и необязательно алюминиевый адъювант.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против HPV у пациента-человека, предусматривающему введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей: (a) VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, где по меньшей мере один тип HPV выбран из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, (b) необязательно от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адъюванта и (c) от около 1 мкг до около 200 мкг адъюванта на основе липидных наночастиц (LNP), где VLP HPV содержат рекомбинантный белок L1 или рекомбинантный белок L1 + L2 по меньшей мере одного HPV, где VLP любого из по меньшей мере одного типа HPV присутствуют в концентрации от около 1 мкг до около 100 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, где общая концентрация VLP составляет от 1 мкг до 2000 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, и где VLP HPV адсорбированы на алюминиевом адъюванте, если алюминиевый адъювант присутствует.

Настоящее изобретение также относится к способу профилактики у человека-пациента инфекции, вызванной HPV, предусматривающему введение пациенту однодозовой вакцинной композиции, которая включает (a) адъювант на основе LNP, где адъювант содержит один или несколько катионных липидов в количестве от около 30 мол.% до около 65 мол.%, один или несколько конъюгатов липида и полимера в количестве от около 0,5 мол.% до около 4,0 мол.%, один или несколько фосфолипидов в количестве от около

5 мол.% до около 30 мол.%, холестерин в количестве от около 10 мол.% до около 40 мол.%, (b) (i) вакцинную композицию против HPV, содержащую VLP по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, или (ii) VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, где однодозовая вакцинная композиция приводит к повышенному или сопоставимому иммунному ответу против HPV по сравнению с многократными дозами той же композиции, составленной или вводимой без адьюванта на основе LNP.

Настоящее изобретение также относится к способу профилактики у человека-пациента инфекции, вызванной HPV, предусматривающему совместное введение пациенту (a) фармацевтической композиции, содержащей VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и (b) адьювант на основе LNP.

Настоящее изобретение также относится к способу доставки фармацевтической композиции, которая вызывает (индуцирует) нейтрализующий титр против антигена HPV у хозяина, предусматривающему: введение однодозовой вакцинной композиции, содержащей: (a) адьювант на основе LNP и (b) (i) композицию против HPV, содержащую VLP по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, или (ii) VLP по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и (c) необязательно алюминиевый адьювант, и индукцию нейтрализующего титра против антигена HPV у хозяина, где однодозовая вакцинная композиция приводит к повышенному или сопоставимому нейтрализующему титру по сравнению с многократными дозами той же композиции, составленной или вводимой без адьюванта на основе LNP.

Настоящее изобретение также относится к способу доставки фармацевтической композиции, которая вызывает нейтрализующий титр против антигена HPV у хозяина, предусматривающему: совместное введение (a) адьюванта на основе LNP и (b) композиции, содержащей VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и индукцию нейтрализующего титра против антигена HPV у хозяина, где одно совместное введение (a) и (b) приводит к повышенным или сопоставимым нейтрализующим титрам по сравнению с многократными дозами той же композиции (b), вводимой без адьюванта на основе LNP.

Настоящее изобретение также относится к набору, содержащему вакцинную композицию против HPV и адьювант на основе LNP.

### **Определения**

Как используется во всем описании и в приложенной формуле изобретения, формы единственного числа включают ссылку на множественное число, если из контекста явно не следует иное.

В описании и в приложенной формуле изобретения применяются следующие определения и аббревиатуры:

**Около:** В контексте настоящего изобретения термин «около» при использовании в настоящем документе в отношении значения относится к значению, которое является таким же или, в контексте, подобным значению, на которое делается ссылка. Как правило, специалисты в данной области техники способны оценить абсолютную величину и/или относительную степень различия, охватываемого термином

«около» в контексте настоящего изобретения. Например, согласно некоторым вариантам осуществления термин «около» может охватывать диапазон значений в пределах 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % или менее от указанного значения.

**Адьювант:** В контексте настоящего изобретения термин «адьювант» относится к композиции или соединению, которое способно усиливать иммунный ответ против представляющего интерес антигена. Адьюванты представляют собой вещества или комбинации веществ, которые используют в комбинации с вакцинным антигеном для усиления (например, повышения, ускорения, пролонгации и/или возможной мишени) или модулирования до другого типа (например, переключения иммунного ответа Th1 на ответ Th2 или гуморального ответа на цитотоксический Т-клеточный ответ) специфического иммунного ответа на вакцинный антиген для повышения клинической эффективности вакцины. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант может модифицировать (Th1/Th2) иммунный ответ. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант может повышать силу и продолжительность иммунного ответа. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант может расширять иммунный ответ на одновременно вводимый антиген. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант может быть способен индуцировать сильный ответ антител и Т-клеточный ответ. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант можно использовать для уменьшения количества антигена, необходимого для индукции желаемого иммунного ответа и обеспечения защиты от заболевания. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант можно использовать для уменьшения количества инъекций, необходимых в клинической схеме для того, чтобы вызвать стойкий иммунный ответ и обеспечить защиту от заболевания. Составы, содержащие адьювант, описанные в настоящем документе, могут демонстрировать усиление гуморальной и/или клеточной иммуногенности вакцинных антигенов, например, субъединичных вакцинных антигенов. Адьюванты согласно настоящему изобретению не используют для доставки антигенов, антител, API или VLP.

**Введение:** В контексте настоящего изобретения термин «введение» относится к действию предоставления активного агента, композиции или состава субъекту. Иллюстративными путями введения в организм человека могут быть глаза (офтальмологический), рот (пероральный), кожа (чрескожный), нос (назальный), легкие (ингаляционный), ректальный, вагинальный, слизистая оболочка полости рта (буккальный), ухо, путем инъекции (например, внутривенно (IV), подкожно, внутрипухолово, внутрибрюшинно, внутримышечно (IM), внутрикожно (ID) и т.д.) и т.п.

**Агент:** В контексте настоящего изобретения термин «агент» относится к частице, соединению, молекуле или веществу любого химического класса, включая, например, VLP, малую молекулу, полипептид (например, белок), полинуклеотид (например, полинуклеотид ДНК или полинуклеотид РНК), сахарид, липид или их комбинацию или комплекс. Согласно некоторым вариантам осуществления термин «агент» может относиться к соединению, молекуле или веществу, которые включают полимер или их множество.

**Антитело:** В контексте настоящего изобретения термин «антитело» (или «Ab») относится к любой форме антитела, которая проявляет желаемую биологическую активность. Таким образом, он используется в самом широком смысле и конкретно охватывает без ограничения моноклональные антитела (включая полноразмерные моноклональные антитела), поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), гуманизированные, полностью человеческие антитела и химерные антитела.

**Антиген:** В контексте настоящего изобретения термин «антиген» относится к любому антигену, который может вызывать один или несколько иммунных ответов. Антигеном может быть белок (включая

рекомбинантные белки), VLP, полипептид или пептид (включая синтетические пептиды). Согласно определенным вариантам осуществления антиген представляет собой липид или углевод (полисахарид). Согласно определенным вариантам осуществления антиген представляет собой белковый экстракт, клетку (включая опухолевую клетку) или ткань. Антиген может представлять собой антиген, вызывающий гуморальный и/или CTL-иммунный ответ.

**API:** В контексте настоящего изобретения термин «API» относится к активному фармацевтическому ингредиенту, например, VLP HPV, который является компонентом композиций или составов, раскрытых в настоящем документе, который является биологически активным (например, способен индуцировать соответствующий иммунный ответ) и придает терапевтическую или профилактическую пользу человеку или животному, нуждающемуся в этом. В контексте настоящего изобретения API представляет собой активный ингредиент вакцины.

**Катионный липид:** В контексте настоящего изобретения термин «катионный липид» относится к видам липидов, которые несут суммарный положительный заряд при выбранном значении pH, таком как физиологическое значение pH. Специалистам в данной области техники известно, что катионный липид может включать без ограничения раскрытые в публикациях патентных заявок США № US 2008/0085870, US 2008/0057080, US 2009/0263407, US 2009/0285881, US 2010/0055168, US 2010/0055169, US 2010/0063135, US 2010/0076055, US 2010/0099738, US 2010/0104629, US 2013/0017239 и US 2016/0361411, публикациях международных патентных заявок № WO2011/022460 A1, WO2012/040184, WO2011/076807, WO2010/021865, WO 2009/132131, WO2010/042877, WO2010/146740, WO2010/105209 и в патентах США № 5208036, 5264618, 5279833, 5283185, 6890557 и 9669097.

**Совместное введение:** В контексте настоящего изобретения термин «совместное введение» или «совведение» относится к введению адьюванта на основе LNP и фармацевтического состава (например, вакцины против HPV) одновременно, т.е. одновременно во времени, или последовательно, т.е. введение вакцины против HPV с последующим введением адьюванта на основе LNP (или наоборот). То есть, после введения вакцины против HPV (или адьюванта на основе LNP), адьювант на основе LNP (или вакцину против HPV) можно вводить практически сразу после вакцины против HPV (или адьюванта на основе LNP) или адьювант на основе LNP (или вакцину против HPV) можно вводить по истечении эффективного периода времени после вакцины против HPV (или адьюванта на основе LNP), эффективный период времени представляет собой период времени, который обычно находится в пределах 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 или 60 минут.

**Доза:** В контексте настоящего изобретения термин «доза» означает количество агента, API, состава или фармацевтической композиции, принятое или рекомендованное для приема в определенное время.

**Состав:** В контексте настоящего изобретения термин «состав» относится к композиции, содержащей активный фармацевтический или биологический ингредиент вместе с одним или несколькими дополнительными компонентами. Термин «состав» используется взаимозаменяемо с термином «фармацевтическая композиция». Составы могут быть жидкими или твердыми (например, лиофилизированными). Дополнительные компоненты, которые могут быть включены в случае необходимости, включают фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, добавки, разбавители, буферы, сахара, аминокислоты, хелатирующие агенты, поверхностно-активные вещества, полиолы, наполнители, стабилизаторы, лиопротекторы, солюбилизаторы, эмульгаторы, соли, адьюванты, повышающие тонус агенты, средства доставки и антимикробные консерванты. Составы нетоксичны для реципиентов при используемых дозах и концентрациях. Согласно некоторым вариантам осуществления

состав относится к однократной дозе вакцины, которая может быть включена в любом объеме, подходящем для инъекции.

**HPV и PV:** В контексте настоящего изобретения термины «HPV» и «PV» относятся к вирусу папилломы человека и папилломавирусу, соответственно.

**Липид:** В контексте настоящего изобретения термин «липид» относится к любому из группы органических соединений, которые представляют собой сложные эфиры жирных кислот и характеризуются нерастворимостью в воде или низкой растворимостью в воде, но могут быть растворимы во многих органических растворителях. Липиды можно разделить по меньшей мере на три класса: (1) «простые липиды», которые включают, например, жиры и масла, а также воски, (2) «сложные липиды», которые включают, например, фосфолипиды и гликолипиды, и (3) «производные липиды», которые включают, например, стероиды.

**Липидная наночастица:** В контексте настоящего изобретения термин «липидная наночастица» (или «LNP») относится к липидной композиции, которая образует частицу, имеющую измерение длины или ширины (например, максимальное измерение длины или ширины) от 10 до 1000 нанометров. Согласно некоторым вариантам осуществления LNP можно использовать в качестве адъюванта для повышения или усиления иммунного ответа против представляющего интерес антигена при использовании в качестве компонента вакцины. Согласно некоторым вариантам осуществления липидную наночастицу можно использовать в качестве адъюванта или использовать в комбинации с адъювантами, не основанными на LNP.

**МАА:** В контексте настоящего изобретения термин «МАА» (или алюминиевый адъювант Merck) относится к адъюванту аморфному гидроксифосфатсульфату алюминия («ААHS»). Термин «МАА» используется в настоящем документе взаимозаменяемо с термином «ААHS».

**Многодозовая:** В контексте настоящего изобретения термин «многодозовая» относится к вакцинной композиции или фармацевтической композиции, которая требует более одной дозы, или введения, или инъекции ее компонентов в клинической схеме для индукции устойчивого иммунного ответа и обеспечения защиты от заболевания. Специалистам в данной области техники известно как определить устойчивый иммунный ответ, например, путем измерения титров антител в течение определенного периода времени.

**Нейтральный липид:** В контексте настоящего изобретения термин «нейтральный липид» относится к видам липидов, которые существуют либо в незаряженной, либо в нейтральной цвиттер-ионной форме при выбранном значении pH. При физиологическом значении pH к таким липидам относятся, например, диацилфосфатидилхолин, диацилфосфатидилэтаноламин, церамид, сфингомиелин, цефалин, холестерин, цереброзиды и диацилглицеролы.

**Пациент:** В контексте настоящего изобретения термин «пациент» относится к любому человеку, который должен получить вакцину против HPV или фармацевтическую композицию, раскрытые в настоящем документе. В контексте настоящего изобретения «пациент» включает тех, кто уже инфицирован HPV, а также тех, у кого инфекцию, вызванную HPV, необходимо предотвратить.

**Фармацевтически приемлемый:** Используемый в контексте настоящего изобретения в отношении носителя, разбавителя или вспомогательного вещества фармацевтической композиции термин «фармацевтически приемлемый» указывает на то, что носитель, разбавитель или вспомогательное вещество должны быть совместимы с другими ингредиентами композиции и не оказывать вредного воздействия на реципиента.

**Фармацевтическая композиция:** В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтическая композиция» относится к композиции, в которой активный агент составлен вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями. Согласно некоторым вариантам осуществления активный агент присутствует в количестве однократной дозы, подходящем для введения согласно терапевтической схеме, которая демонстрирует статистически значимую вероятность достижения заданного терапевтического эффекта при введении соответствующей популяции. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтическая композиция может быть специально составлена для введения в твердой или жидкой форме, включая те, которые адаптированы для следующего: пероральное введение, например, в виде капель (водные или неводные растворы или суспензии), таблеток, например, предназначенных для трансбуккального, сублингвального и системного всасывания, болюсов, порошков, гранул, паст для нанесения на язык, парентеральное введение, например, путем подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции в виде, например, стерильного раствора, или суспензии, или состава с замедленным высвобождением, местное применение, например, в виде крема, мази, пластыря с контролируемым высвобождением или спрея, вводимых на кожу, в легкие или ротовую полость, интравагинальное введение или интаректальное введение, например, в виде пессария, крема или пены, сублингвальное введение, введение через глаза, чрескожное или назальное введение, легочное введение и введение на другие поверхности слизистых оболочек.

**Однократная доза:** В контексте настоящего изобретения термин «однократная доза» относится к вакцинной композиции, которая требует только однократного введения или инъекции согласно клинической схеме для того, чтобы вызвать устойчивый иммунный ответ и обеспечить защиту от заболевания. Специалистам в данной области техники известно как определить устойчивый иммунный ответ, например, путем измерения титров антител в течение определенного периода времени.

**Субъект:** В контексте настоящего изобретения термин «субъект» относится к организму, как правило, к млекопитающему (например, к человеку, согласно некоторым вариантам осуществления, включая пренатальные человеческие формы). Согласно некоторым вариантам осуществления субъект страдает соответствующим заболеванием, нарушением или состоянием. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект восприимчив к заболеванию, нарушению или состоянию. Согласно некоторым вариантам осуществления у субъекта проявляются один или несколько симптомов или признаков заболевания, нарушения или состояния. Согласно некоторым вариантам осуществления у субъекта не проявляются какие-либо симптомы или признаки заболевания, нарушения или состояния. Согласно некоторым вариантам осуществления субъектом является субъект с одним или несколькими признаками, характерными для предрасположенности или риска заболевания, нарушения или состояния. Согласно некоторым вариантам осуществления субъектом является пациент. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект представляет собой индивидуума, которому поставлен диагноз, и/или проводится терапия, и/или терапия была проведена.

**Терапевтически эффективное количество:** В контексте настоящего изобретения термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству активного ингредиента (например, терапевтического белка, вакцины или антитела), достаточному для получения желаемого терапевтического эффекта у человека или животного, например, к количеству, необходимому для индукции иммунного ответа, лечения, излечения, предотвращения или ингибирования развития и прогрессирования заболевания или его симптомов, и/или количеству, необходимому для облегчения симптомов или индукции регрессии

заболевания. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от структуры и активности активного ингредиента и предполагаемого способа введения. Специалист в данной области техники может легко определить терапевтически эффективное количество данного антитела, или терапевтического белка, или вакцинного антигена.

**Вакцина:** В контексте настоящего изобретения термин «вакцина» или «иммуногенная композиция» относится к веществу, используемому для стимуляции выработки антител и обеспечения иммунитета против одного или нескольких заболеваний, полученному из возбудителя заболевания, его продуктов или синтетического заменителя, обработанным таким образом, чтобы действовать как антиген, не вызывая заболевания. Вакцинная композиция может включать по меньшей мере один антиген или VLP HPV в фармацевтически приемлемом носителе, подходящем для индукции иммунного ответа у хозяина. Вакцинную композицию вводят дозами и способами, известными специалистам в области фармацевтики или ветеринарии, принимая во внимание такие факторы, как возраст, пол, вес, вид и состояние животного-реципиента и путь введения.

**Валентная:** В контексте настоящего изобретения термин «валентная» относится к присутствию определенного количества антигенов в молекуле. Например, термины бивалентная, двухвалентная, 2-х валентная или 2-валентная относятся к двум разным антигенам. Подобным образом, термины четырехвалентная, 4-х валентная или 4-валентная относятся к четырем различным антигенам. Термины 9-ти валентная или 9-валентная оба относятся к девяти различным антигенам.

**Вирусоподобные частицы:** В контексте настоящего изобретения термин «вирусоподобные частицы» или «VLP» относится к агентам, которые морфологически сходны с аутентичными вирионами или обеспечивают упорядоченное отображение антигена и способны индуцировать высокую степень нейтрализации антител после введения животному. В VLP отсутствует вирусный генетический материал аутентичных вирионов и поэтому они не являются инфицирующими.

#### **Краткое описание чертежей**

На фиг. 1A и 1B показаны продолжительные уровни антител против VLP HPV 16 (фиг. 1A) и VLP HPV 18 (фиг. 1B) у кроликов после однократной инокуляции 9-валентной вакцины против HPV в комбинации с адьювантом на основе LNP.

На фиг. 2 показаны индивидуальные уровни антител против VLP HPV у кроликов, измеренные через 48 недель после однократной инокуляции 9-валентной вакцины против HPV в комбинации с адьювантом на основе LNP.

На фиг. 3A и 3B показаны продолжительные уровни антител против VLP HPV 16 (фиг. 3A) и VLP HPV 18 (фиг. 3B) у макак-резусов после однократной инокуляции 9-валентной вакцины против HPV в комбинации с адьювантом на основе LNP.

На фиг. 4 показаны индивидуальные уровни антител против VLP HPV у макак-резусов, измеренные через 20 недель после однократной инокуляции 9-валентной вакцины против HPV в комбинации с адьювантом на основе LNP.

На фиг. 5A и 5B показаны продолжительные уровни антител против VLP HPV 16 (фиг. 5A) и VLP HPV 18 (фиг. 5B) у макак-резусов после однократной инокуляции 9-валентной вакцины против HPV в комбинации с адьювантом на основе LNP.

На фиг. 6 показаны индивидуальные уровни антител против VLP HPV у макак-резусов, измеренные через 12 недель после однократной инокуляции 9-валентной вакцины против HPV в комбинации с адьювантом на основе LNP.

### **Подробное описание настоящего изобретения**

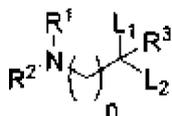
В настоящее время существует множество одобренных вакцин против HPV, которые состоят из сконструированных вирусоподобных частиц (VLP) и очень эффективны для защиты вакцинированных пациентов от предраковых поражений, аногенитального рака и генитальных бородавок при введении до естественного инфицирования субъектам в возрасте 9 лет и старше согласно многодозовым схемам. В соответствии с настоящим изобретением было показано, что однодозовая вакцинная композиция против HPV, которая включает VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV («типы-мишени HPV») и адьювант на основе LNP, способна обеспечивать сопоставимые или повышенные титры антител к тем же самым типам-мишеням HPV по сравнению с многократными дозами вакцинных композиций, которые включают VLP типов-мишеней HPV, полученными или вводимыми без адьюванта на основе LNP. Композиции согласно настоящему изобретению предназначены для создания иммунитета против подтипов HPV посредством схемы с одной инъекцией, который сопоставим по меньшей мере со схемой с 2-3 инъекциями такой вакцины против HPV, включая одобренную двух-, четырех- или девятивалентную вакцину против HPV.

#### *Адьювант на основе LNP*

Адьюванты на основе липидных наночастиц (LNP) согласно настоящему изобретению применяют согласно настоящему изобретению для усиления иммунного ответа, вызываемого вакциной против HPV. В общем, адьюванты на основе LNP иммунологических композиций согласно настоящему изобретению включают один или несколько катионных липидов, один или несколько конъюгатов липида и полимера (например, поли(этиленгликоль)-липид (ПЭГ-липид)), один или несколько холестерина и один или несколько фосфолипидов.

Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включают любой катионный липид, упомянутый в публикациях патентных заявок США № US 2008/0085870, US 2008/0057080, US 2009/0263407, US 2009/0285881, US 2010/0055168, US 2010/0055169, US 2010/0063135, US 2010/0076055, US 2010/0099738, US 2010/0104629, US 2013/0017239 и US 2016/0361411, публикациях международных патентных заявок № WO2011/022460 A1, WO2012/040184, WO2011/076807, WO2010/021865, WO 2009/132131, WO2010/042877, WO2010/146740, WO2010/105209 и в патентах США № 5,208,036, 5,264,618, 5,279,833, 5,283,185, 6,890,557 и 9,669,097.

Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP может включать катионный липид, имеющий следующую структуру, проиллюстрированную формулой 1:



Формула 1,

где

R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> каждый представляет собой метил,

R<sup>3</sup> представляет собой H,

n представляет собой 1 или 2,

L<sub>1</sub> выбран из C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> алкила и C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> алкенила, и

L<sub>2</sub> выбран из C<sub>4</sub>-C<sub>9</sub> алкила и C<sub>4</sub>-C<sub>9</sub> алкенила,

или его любую фармацевтически приемлемую соль или стереоизомер.

Согласно некоторым вариантам осуществления катионный липид представляет собой аминоалкильный липид. Согласно некоторым вариантам осуществления катионный липид представляет собой асимметрический аминоалкильный липид. Согласно некоторым вариантам осуществления катионный липид представляет собой (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин (см. патент США № 9,669,097).

Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 30-65 мол.% катионного липида. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 30-55 мол.% катионного липида. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 30-45 мол.% катионного липида. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 55-65 мол.% катионного липида. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 58 мол.% катионного липида.

Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP может включать нейтральный липид, выбранный из фосфолипидов, диацилфосфатидилхолина, диацилфосфатидилэтаноламина, церамида, сфингомиелина, цефалина, холестерина, цереброзидов, диацилглицеролов и их комбинаций. Согласно некоторым вариантам осуществления нейтральный липид может включать фосфолипид и холестерин.

Согласно некоторым вариантам осуществления нейтральный липид может включать стерол, такой как холестерин. Согласно некоторым вариантам осуществления нейтральный липид включает холестерин. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 10-40 мол.% холестерина. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 15-25 мол.% холестерина. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 10-20 мол.% холестерина. Согласно некоторым вариантам осуществления LNP включает 20-30 мол.% холестерина. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 10-15 мол.% холестерина. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 25-35 мол.% холестерина. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP включает 30 мол.% холестерина.

Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP может включать фосфолипид, выбранный из: фосфолипидов, аминоклипов и сфинголипидов. Согласно некоторым вариантам осуществления LNP может включать фосфолипид, выбранный из фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, фосфатидной кислоты, пальмитоилолеилфосфатидилхолина, лизофосфатидилхолина, лизофосфатидилэтаноламина, дипальмитоилфосфатидилхолина, диолеилфосфатидилхолина, дистеароилфосфатидилхолина или дилинолеилфосфатидилхолина. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP может включать нейтральный липид, выбранный из сфинголипида, семейств гликосфинголипида, диацилглицеролов и S-ацилоксикислот. Согласно некоторым вариантам осуществления LNP может включать нейтральный липид, выбранный из фосфатидилхолина (PC), фосфатидилэтаноламина (PE) и фосфатидилглицерола (PG), фосфатидилсерина (PS), фосфатидилинозитола (PI), фосфатидной кислоты

(фосфатидата) (PA), дипальмитоилфосфатидилхолина, моноацилфосфатидилхолина (лизо PC), 1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (POPC), N-ацил-PE, фосфоинозитидов и фосфосфинголипидов. Согласно некоторым вариантам осуществления LNP может включать нейтральный липид, выбранный из фосфатидной кислоты (DMPA, DPPA, DSPA), фосфатидилхолина (DDPC, DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, POPC, DEPC), фосфатидилглицерола (DMPG, DPPG, DSPG, POPG), фосфатидилэтаноламина (DMPE, DPPE, DSPE, DOPE) и фосфатидилсерина (DOPS). Согласно некоторым вариантам осуществления LNP может включать нейтральный липид, выбранный из жирных кислот, включающих C14:0, пальмитиновую кислоту (C16:0), стеариновую кислоту (C18:0), олеиновую кислоту (C18:1), линолевую кислоту (C18:2), линоленовую кислоту (C18:3), арахидоновую кислоту (C20:4), C20:0, C22:0 и лецитин. Согласно некоторым вариантам осуществления фосфолипид может включать 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DSPC).

Согласно некоторым вариантам осуществления нейтральный липид может включать фосфолипид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 5-30 мол.% фосфолипида. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 5-15 мол.% фосфолипида. Согласно некоторым вариантам осуществления the LNP включает 10-20 мол.% фосфолипида. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 20-30 мол.% фосфолипида. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 10-15 мол.% фосфолипида. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 25-30 мол.% фосфолипида. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 10 мол.% фосфолипида.

Согласно некоторым вариантам осуществления конъюгат полимера и липида может включать ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления ПЭГ конъюгирован с липидом посредством прямой связи (см., например, cPEG2000-DMG, описанный ниже) или конъюгирован с липидом через линкер (см., например, ePEG2000-DMG). Согласно некоторым вариантам осуществления ПЭГ-липид конъюгирован с диацилглицеролом (a PEG-DAG). Согласно некоторым вариантам осуществления ПЭГ конъюгирован с DAG, как описано в, например, публикациях патентов США № 2003/0077829 и 2005/008689. Согласно одному варианту осуществления конъюгат PEG-DAG представляет собой конъюгат ПЭГ и димиристилглицерола (с14). Согласно некоторым вариантам осуществления ПЭГ-липид представляет собой ПЭГ-димиристилглицерол (PEG-DMG).

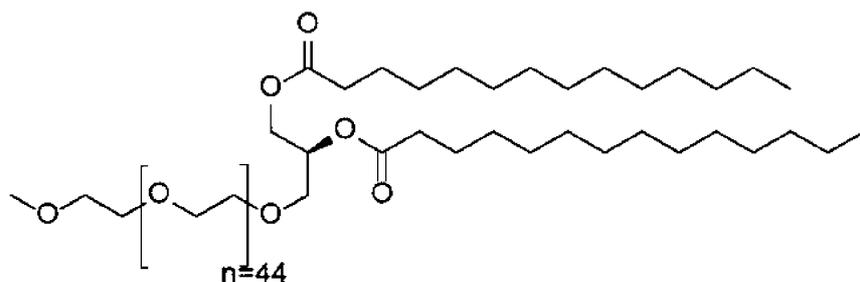
Согласно определенным вариантам осуществления ПЭГ-липид представляет собой ПЭГ, конъюгированный с димиристилглицеролом (PEG-DMG), например, как описано в Abrams et al., 2010, *Molecular Therapy* 18(1):171 и публикациях патентов США №2006/0240554 и US 2008/0020058.

Согласно определенным вариантам осуществления ПЭГ-липид содержит полиэтиленгликоль, имеющий среднюю молекулярную массу в интервале от около 500 Дальтон до около 10000 Дальтон, от около 75 Дальтон до около 5000 Дальтон, от около 1000 Дальтон до около 5000 Дальтон, от около 1500 Дальтон до около 3000 Дальтон или около 2000 Дальтон. Согласно определенным вариантам осуществления ПЭГ-липид содержит PEG1500, PEG2000 или PEG5000.

Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP может включать ПЭГ-липид, выбранный из:

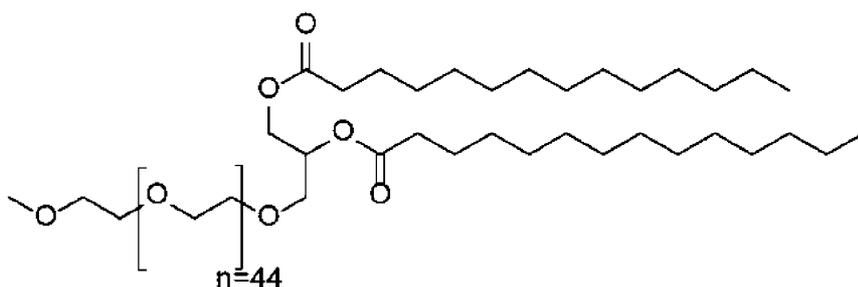
1,2-димиристоил-sn-глицеролметокси-поли(этиленгликоля),

1,2-димиристоил-sn-глицеролметокси-поли(этиленгликоля)-2000 (cPEG2000-DMG), который имеет следующую структуру:



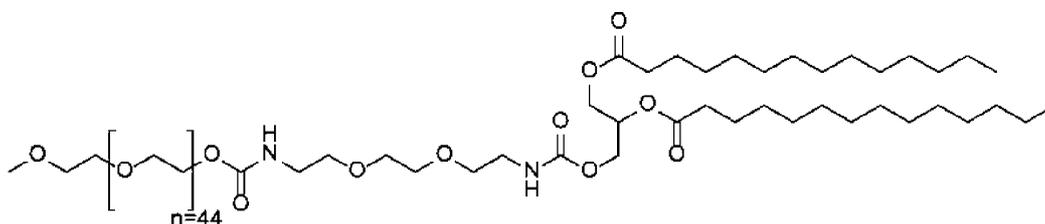
1,2-димиристоил-гас-глицеролметокси-поли(этиленгликоля),

1,2-димиристоил-гас-глицеролметокси-поли(этиленгликоля)-2000 (сPEG2000-DMG), который имеет следующую структуру:

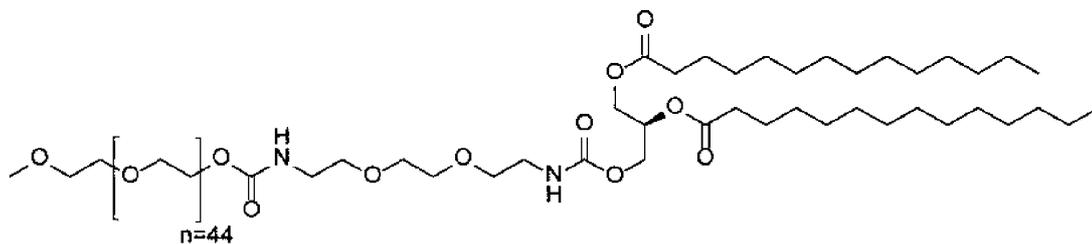


$\alpha$ -[8'-(1,2-димиристоил-3-пропанокси)-карбоксамид-3',6'-диооктаонил]карбамоил- $\omega$ -метил-поли(этиленгликоля),

$\alpha$ -[8'-(1,2-димиристоил-3-пропанокси)-карбоксамид-3',6'-диооктаонил]карбамоил- $\omega$ -метил-поли(этиленгликоля)-2000 (сPEG2000-DMG), который имеет следующую структуру:

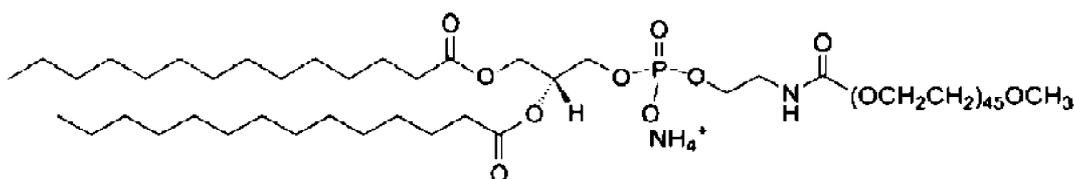


(R)- $\alpha$ -[8'-(1,2-димиристоил-3-пропанокси)-карбоксамид-3',6'-диооктаонил]карбамоил- $\omega$ -метил-поли(этиленгликоля)-2000, который имеет следующую структуру:



1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин-N-[метокси(полиэтиленгликоля)],

1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоля)-2000], который имеет следующую структуру:



1,2-дидеканоил-гас-глицеро-3-метилполиоксиэтилена,

1,2-дидодеканоил-гас-глицеро-3-метилполиоксиэтилена или

1,2-дистеароил-гас-глицеро-3-метилполиоксиэтилена.

Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 0,05-5 мол.% конъюгата полимер-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 1-4 мол.% конъюгата полимер-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 0,5-2 мол.% конъюгата полимер-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 1-4 мол.% конъюгата полимер-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 1-3 мол.% конъюгата полимер-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 1-2,5 мол.% конъюгата полимер-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 2 мол.% конъюгата полимер-липид. (В каждом случае выражено как общий мол.% липида в частице)

Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 30-65 мол.% катионного липида, 10-30 мол.% холестерина, 5-30 мол.% фосфолипида и 0,05-4 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 55-65 мол.% катионного липида, 25-35 мол.% холестерина, 5-15 мол.% фосфолипида и 1-2,5 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 40-50 мол.% катионного липида, 15-20 мол.% холестерина, 18-20 мол.% фосфолипида и 1,5-2,5 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 56-59 мол.% катионного липида, 15-20 мол.% холестерина, 18-20 мол.% фосфолипида и 0,5-1,5 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 56-59 мол.% катионного липида, 28-32 мол.% холестерина, 8-12 мол.% фосфолипида и 1-3 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 58 мол.% катионного липида, 30 мол.% холестерина, 10 мол.% ПЭГ-липид и 2 мол.% ПЭГ-липид.

#### *Способы получения адъювантов на основе LNP*

Согласно некоторым вариантам осуществления адъюванты на основе LNP получают, например, путем быстрого процесса осаждения, который предусматривает микросмешение липидных компонентов, растворенных в растворе низшего алканола (например, в этаноле), с водным раствором с использованием устройства для смешивания ограниченного объема, такого как Т-образный смеситель ограниченного объема, вихревой смеситель с несколькими входами, микрофлюидные смесители или другие устройства. Липидный раствор может включать один или несколько катионных липидов, один или несколько нейтральных липидов (например, фосфолипиды, DSPC, холестерин), один или несколько конъюгатов полимер-липид (например,

cPEG2000-DMG, sPEG-2000-DMG или ePEG2000-DMG) при определенных молярных соотношениях в этаноле.

Согласно некоторым вариантам осуществления водный и органический растворы необязательно нагревают до температуры в диапазоне 25°C-45°C, предпочтительно 30°C-40°C, а затем смешивают в смесителе ограниченного объема с образованием LNP. Когда используется Т-образный смеситель ограниченного объема, Т-образный смеситель может иметь внутренний диаметр в диапазоне от 0,25 до 10,0 мм. Согласно некоторым вариантам осуществления спиртовые и водные растворы можно подавать на вход Т-смесителя с помощью программируемых шприцевых насосов и с общей скоростью потока от 10 мл/мин до 600 л/мин. Согласно некоторым вариантам осуществления водный и спиртовой растворы можно смешивать в смесителе ограниченного объема при соотношении от 1:1 до 4:1 об.:об. Согласно некоторым вариантам осуществления водный и спиртовой растворы могут быть объединены при соотношении в диапазоне от 1,1:1 до 4:1, от 1,2:1 до 4:1, от 1,25:1 до 4:1, от 1,3:1 до 4:1, от 1,5:1 до 4:1, от 1,6:1 до 4:1, от 1,7:1 до 4:1, от 1,8:1 до 4:1, от 1,9:1 до 4:1, от 2,0:1 до 4:1, от 2,5:1 до 4:1, от 3,0:1 до 4:1 и от 3,5:1 до 4:1.

Согласно некоторым вариантам осуществления комбинация объемной доли этанола, скорости потока раствора, концентраций липида (липидов), конфигурации и внутреннего диаметра смесителя и внутреннего диаметра трубки смесителя, используемых на этой стадии смешивания, может обеспечить LNP, имеющие размер частиц от 30 до 300 нм. Полученную суспензию LNP можно разбавлять буферами с более высоким значением pH в диапазоне 6-8.

Согласно некоторым вариантам осуществления LNP также можно концентрировать и фильтровать с помощью процесса ультрафильтрации для удаления спирта. Согласно некоторым вариантам осуществления буфер с высоким значением pH также может быть удален и заменен на конечный буферный раствор. Согласно некоторым вариантам осуществления конечный буферный раствор может быть выбран из фосфатно-солевого буфера или любой буферной системы, пригодной для криоконсервации (например, буферов, содержащих сахарозу, трегалозу или их комбинации). После фильтрации продукт LNP во флаконах можно хранить в подходящих условиях хранения (таких как 2°C-8°C или от -80 до -20°C в замороженном виде) или можно лиофилизировать.

#### VLP

Как указано выше, фармацевтические композиции и составы согласно настоящему изобретению содержат VLP по меньшей мере одного типа HPV, такого как HPV 16 или 18. Согласно конкретным вариантам осуществления композиций, раскрытых в настоящем документе, вакцина дополнительно содержит VLP по меньшей мере одного дополнительного типа HPV. Согласно другим вариантам осуществления по меньшей мере один дополнительный тип HPV выбран из группы, состоящей из: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению содержат VLP HPV, состоящие из рекомбинантных белков L1 или рекомбинантных белков L1 + L2 HPV. Белок L1 или L1+L2 HPV может быть рекомбинантно экспрессирован путем молекулярного клонирования ДНК L1 или L1+L2 в вектор экспрессии, содержащий подходящий промотор и другие соответствующие регуляторные элементы транскрипции, и перенесен в прокариотические или эукариотические клетки-хозяева для получения рекомбинантного белка. Методики таких манипуляций полностью описаны в Sambrook *et al.* (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, (1989)),

которая включена в настоящий документ посредством ссылки. VLP могут подвергаться самосборке, когда белок L1 рекомбинантно экспрессируется в клетке-хозяине.

Рекомбинантные белки L1 HPV согласно настоящему изобретению могут представлять собой любую полноразмерную последовательность белка L1, которая может быть обнаружена в природе, или любой мутированный или укороченный белок L1, который способен к самосборке в VLP. Согласно конкретным вариантам осуществления настоящего изобретения фармацевтические композиции и вакцины, описанные в настоящем документе, содержат VLP HPV, состоящие из рекомбинантного белка L1 HPV, и не содержат белок L2 HPV. Согласно определенным вариантам осуществления вакцинные композиции или фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, содержат VLP HPV, состоящие из полноразмерного рекомбинантного белка L1 HPV. Последовательности белка L1 для использования в настоящем изобретении могут быть определены путем выделения ДНК из одного или нескольких клинических образцов, содержащих выбранный тип HPV, определения последовательности ДНК L1 HPV и трансляции последовательности ДНК в аминокислотную последовательность с использованием генетического кода. Многие иллюстративные последовательности L1, подходящие для использования в настоящем изобретении, можно найти в литературе. См., например, патенты США № 5820870, 7250170, 7276243, 7482428, 7976848, 7498036, 7700103, 7744892 и 5437951, Kirii *et al.* (*Virology* 185(1): 424-427 (1991)). Другие белки L1, которые можно использовать в композициях и составах согласно настоящему изобретению, включают биологически активные фрагменты и/или мутанты последовательности L1 HPV, включающие без ограничения аминокислотные замены, делеции, добавления, аминоконцевые усечения и карбоксиконцевые усечения, таким образом, что эти мутации обеспечивают белки L1 или фрагменты белков, которые способны образовывать VLP. См., например, международную публикацию WO 2006/114312 и патент США № 6599508. Подходящие клетки-хозяева для экспрессии рекомбинантного белка L1 или рекомбинантного белка L1+L2 HPV и последующей самосборки VLP включают без ограничения дрожжевые клетки, клетки насекомых, клетки млекопитающих или бактерии. Согласно иллюстративным вариантам осуществления настоящего изобретения VLP продуцируются в дрожжевых клетках, таких как дрожжи, выбранные из группы, состоящей из: *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces lactis* и *Schizosaccharomyces pombe*. Согласно конкретным вариантам осуществления VLP HPV продуцируются в клетках *Saccharomyces cerevisiae*. Экспрессия VLP HPV в дрожжевых клетках имеет преимущества, заключающиеся в экономичности и простоте адаптации к крупномасштабному росту в ферментерах.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим мутантные формы VLP HPV, такие как VLP HPV, которые содержат биологически активные фрагменты и/или мутанты белка L1 или L2 HPV, включающие без ограничения аминокислотные замены, делеции, добавления, аминоконцевые усечения и карбоксиконцевые усечения, таким образом, что эти мутации обеспечивают белки или белковые фрагменты терапевтического или профилактического применения и могут быть полезны для разработки вакцины на основе VLP HPV. Любая такая мутантная форма белка L1 HPV должна быть способна образовывать VLP и вызывать иммунный ответ против желаемого типа HPV при введении человеку.

Кроме того, специалисту в данной области понятно, что белок L1 или L1+L2, который используется для самосборки VLP для включения в композиции, раскрытые в настоящем документе, может кодироваться полноразмерным полинуклеотидом L1 или L2 HPV дикого типа или может кодироваться фрагментом или мутантом известной последовательности дикого типа. Полинуклеотидные последовательности дикого типа, которые кодируют мРНК, экспрессирующую белок L1 или L2 HPV, доступны в данной области техники.

Любой мутантный полинуклеотид будет кодировать либо белок, либо фрагмент белка, который по меньшей мере по существу имитирует фармакологические свойства белка L1 или L2 HPV, включая способность образовывать VLP, способные вызывать иммунный ответ против представляющего интерес типа HPV при введении человеку. Любой такой полинуклеотид включает без ограничения нуклеотидные замены, делеции, добавления, аминоконцевые усечения и карбоксиконцевые усечения.

Количество вирусоподобных частиц каждого типа HPV, подлежащее включению в составы и композиции согласно настоящему изобретению, будет зависеть от иммуногенности экспрессируемого генного продукта. В общем, терапевтически эффективная доза VLP любого по меньшей мере одного типа HPV составляет от около 1 мкг до около 100 мкг. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтически эффективная доза VLP по меньшей мере одного типа HPV составляет предпочтительно около от 10 мкг до 80 мкг. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтически эффективная доза VLP по меньшей мере одного типа HPV составляет предпочтительно около от 20 мкг до 60 мкг.

Согласно некоторым вариантам осуществления доза 0,5 мл композиции или вакцины, включающей VLP по меньшей мере одного типа HPV, включает:

- 15-40 мкг VLP белка L1 HPV типа 6,
- 20-50 мкг VLP белка L1 HPV типа 11,
- 30-70 мкг VLP белка L1 HPV типа 16,
- 20-50 мкг VLP белка L1 HPV типа 18,
- 10-30 мкг VLP белка L1 HPV типа 31,
- 10-30 мкг VLP белка L1 HPV типа 33,
- 10-30 мкг VLP белка L1 HPV типа 45,
- 10-30 мкг VLP белка L1 HPV типа 52,
- 10-30 мкг VLP белка L1 HPV типа 58.

Согласно некоторым вариантам осуществления доза 0,5 мл композиции или вакцины, включающей VLP по меньшей мере одного типа HPV, включает:

- 30 мкг VLP белка L1 HPV типа 6,
- 40 мкг VLP белка L1 HPV типа 11,
- 60 мкг VLP белка L1 HPV типа 16,
- 40 мкг VLP белка L1 HPV типа 18,
- 20 мкг VLP белка L1 HPV типа 31,
- 20 мкг VLP белка L1 HPV типа 33,
- 20 мкг VLP белка L1 HPV типа 45,
- 20 мкг VLP белка L1 HPV типа 52,
- 20 мкг VLP белка L1 HPV типа 58.

#### *Алюминиевый адъювант*

Алюминиевый адъювант согласно настоящему изобретению может быть в форме гидроксида алюминия ( $Al(OH)_3$ ), фосфата алюминия ( $AlPO_4$ ), гидроксифосфата алюминия, аморфного гидроксифосфатсульфата алюминия (AAHS) или, так называемого, «квасца» ( $KAl(SO_4) \cdot 12H_2O$ ) (см. Klein et al, Analysis of aluminum hydroxyphosphate vaccine adjuvants by  $(27)Al$  MAS NMR., J Pharm. Sci. 89(3): 311-21 (2000)). Согласно иллюстративным вариантам осуществления настоящего изобретения, раскрытых в

настоящем изобретении, алюминиевый адъювант представляет собой гидроксифосфат алюминия или AAHS. Соотношения фосфата и алюминия в алюминиевом адъюванте может быть в диапазоне от 0 до 1,3. Согласно предпочтительным вариантам осуществления этого аспекта настоящего изобретения соотношения фосфата и алюминия находится в диапазоне от 0,1 до 0,70. Согласно предпочтительным вариантам осуществления соотношения фосфата и алюминия находится в диапазоне от 0,2 до 0,50.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения алюминиевый адъювант находится в форме AAHS (упоминается в настоящем документе взаимозаменяемо как алюминиевый адъювант Merck (MAA)). MAA несет нулевой заряд при нейтральном значении pH, в то время как AlOH несет суммарный положительный заряд, а  $AlPO_4$  обычно несет суммарный отрицательный заряд при нейтральном значении pH. MAA обладает более высокой способностью связывать VLP HPV, чем AlOH. Кроме того, VLP, адсорбированные на MAA, могут индуцировать более выраженный гуморальный иммунный ответ у мышей, чем VLP, адсорбированные на AlOH. Caulfield et al, Human Vaccines 3: 139-146 (2007). Без ограничения теорией, возможно, суммарный заряд алюминиевого адъюванта может влиять на его способность связывать антиген VLP, при этом сильно заряженные адъюванты не могут связывать антиген так же сильно, как нейтрально заряженные адъюванты. По этой причине предпочтительно, чтобы алюминиевый адъювант фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению имел нулевой поверхностный заряд при нейтральном значении pH. Специалист в данной области техники может варьировать буфер, концентрацию соли и/или процент свободного фосфата для того, чтобы обеспечить нулевой поверхностный заряд при нейтральном значении pH.

Специалист в данной области техники может определить оптимальную дозу алюминиевого адъюванта, которая является одновременно безопасной и эффективной для усиления иммунного ответа на целевой (целевые) тип (типы) HPV. Обсуждение профиля безопасности алюминия, а также количества алюминия, включенных в вакцины, одобренные FDA, см. в Baylor *et al.*, Vaccine 20: S18-S23 (2002). Как правило, эффективная и безопасная доза алюминиевого адъюванта варьируется от 100 до 900 мкг/доза (концентрация от 200 до 1800 мкг/мл), согласно конкретным вариантам осуществления составов и композиций согласно настоящему изобретению от 200 до 300 мкг алюминиевого адъюванта на дозу вакцины. Согласно альтернативным вариантам осуществления составов и композиций согласно настоящему изобретению содержится от 300 до 500 мкг алюминиевого адъюванта на дозу вакцины.

#### *Вакцина на основе VLP HPV*

Любая вакцина на основе VLP HPV является подходящей для использования в фармацевтических композициях и способах согласно настоящему изобретению. Известные вакцины на основе VLP HPV могут быть модифицированы для включения как алюминиевого адъюванта, так и адъюванта на основе LNP. В соответствии с описанным в настоящем документе изобретением могут быть разработаны новые вакцины, содержащие по меньшей мере один тип HPV, необязательно в форме VLP HPV, адсорбированных на алюминиевом адъюванте, в комбинации с адъювантом на основе LNP. Кроме того, в соответствии с описанным в настоящем документе изобретением могут быть разработаны новые вакцины, которые содержат по меньшей мере один тип HPV в форме VLP HPV, адсорбированных на алюминиевом адъюванте, в комбинации с адъювантом на основе LNP.

Одной иллюстративной вакциной против HPV является двухвалентная вакцина, защищающая от HPV 16 и 18, которая коммерчески доступна как CERVARIX® (GlaxoSmithKline Biologics, Rixensart, Belgium).

Другой иллюстративной вакциной на основе VLP HPV является неинфицирующая рекомбинантная четырехвалентная вакцина, полученная из высокоочищенных VLP главного капсидного (L1) белка HPV типов 6, 11, 16 и 18, которая упоминается в настоящем документе под своим торговым наименованием GARDASIL® (Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA), см. Bryan, J.T. *Vaccine* 25(16): 3001-6 (2007), Shi *et al.* *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 81(2): 259-64 (2007). Другой иллюстративной вакциной на основе VLP HPV является девятивалентная вакцина, предназначенная для профилактики HPV (включающая капсидный (L1) белок HPV типов 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58), которая упоминается в настоящем документе под своим торговым наименованием GARDASIL®9 (Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA).

В дополнение к VLP, каждая доза вакцины GARDASIL® и GARDASIL®9 включает алюминиевый адъювант (в виде гидроксифосфатсульфата алюминия), хлорид натрия, L-гистидин, полисорбат 80, борат натрия и воду для инъекций. Согласно некоторым вариантам осуществления вакцина против HPV может включать 100-900 мкг алюминия, 1-50 мг хлорида натрия, 0,05-10 мг L-гистидина, 1-100 мкг полисорбата, 1-100 мкг бората натрия и воду для инъекций. Согласно некоторым вариантам осуществления вакцина против HPV может включать около 500 мкг алюминия, около 9,56 мг хлорида натрия, около 0,78 мг L-гистидина, около 50 мкг полисорбата 80, около 35 мкг бората натрия и воду для инъекций. Известные вакцины на основе VLP HPV могут быть модифицированы с включением как алюминиевого адъюванта, так и адъюванта на основе LNP в соответствии с настоящим изобретением.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения фармацевтические композиции и составы содержат вакцины на основе VLP HPV или VLP HPV, как описано в настоящем документе, которые являются моновалентными, двухвалентными, трехвалентными и четырехвалентными, 5-валентными, 6-валентными, 7-валентными, 8-валентными или 9-валентными. Согласно конкретным вариантам осуществления фармацевтические композиции и составы являются 9-валентными. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции содержат вакцины на основе VLP HPV или VLP HPV, как описано в настоящем документе, с более чем четырьмя различными типами VLP HPV. Например, фармацевтические композиции и составы согласно настоящему изобретению могут включать вакцины на основе VLP HPV или VLP HPV, как описано в настоящем документе, которые являются 8-валентными, 9-валентными, 10-валентными и так далее. Например, фармацевтические композиции, содержащие VLP HPV 16 и/или HPV 18, без включения других типов VLP HPV, входят в объем настоящего изобретения. В настоящем документе также раскрыты поливалентные вакцины, содержащие VLP HPV, отличающиеся от типов HPV, включенных в GARDASIL® или GARDASIL®9.

Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 6 и 11 включены в фармацевтические композиции, вакцины и способы согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 16, 31 и 35 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 18, 45 и 59 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 26, 51 и 69 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 33, 52 и 58 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 39, 68 и 70 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 53, 56 и 66 включены.

Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 16 и 18 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 6, 11, 16 и 18 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 и 58 включены. Согласно некоторым

вариантам осуществления VLP типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 58 и 59 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 58, 59 и 69 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 58, 59, 68, 69 и 70 включены. Согласно некоторым вариантам осуществления VLP типов HPV 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69 и 70 включены.

Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтические композиции и составы содержат вакцины на основе VLP HPV и/или антигены, как перечислено в Таблице I ниже:

Таблица I:

Название	Антиген	Адьювант	Компания
CERVARIX® (2vHPV вакцина)	L1 VLP HPV-16 и HPV-18	гидроксид алюминия и MPL	GlaxoSmithKline Biologics (Rixensart, Belgium)
GARDASIL® (4vHPV вакцина)	L1 VLP HPV-6, HPV-11, HPV-16 и HPV-18	AHSS	Merck Sharp & Dohme Corp., Kenilworth NJ USA
GARDASIL® 9 (9vHPV вакцина)	L1 VLP HPV-6, HPV-11, HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33, HPV-45, HPV-52 и HPV-58	AHSS	Merck Sharp & Dohme Corp., Kenilworth NJ USA
CECOLIN®	L1 VLP HPV-16 и HPV-18	Гидроксид алюминия	Xiamen Inovax
GEOCOLIN®	L1 VLP HPV-6 и HPV-11	Гидроксид алюминия	Xiamen Inovax
L1 капсомеры	L1 капсомеры HPV-16	неизвестный	R. Garcea, University of Colorado– Boulder
RG1-VLP	HPV-16 L1-L2 (17–36) VLP	Гидроксид алюминия	R. Kimbauer, NCI, Pathovax LLC
L2-AAV	L2 пептиды HPV-16 и HPV-31, представленные на AAV VLP	неизвестный	2A Pharma
L2 мультимер	Слитый белок L2 ~11–88 HPV-6, HPV-16, HPV-18, HPV-31 и HPV-39	квасец	Sanofi, BravoVax
L2-тиоредоксин	L2 пептид, представленный на тиоредоксине	неизвестный	M. Muller, DKFZ
AX03	L2 пептид, представленный на бактериофаге	неизвестный	Agilvax, NIAID
L1-E7 VLP	HPV-16 L1-E7 VLP	нет	Medigene AG
TA-CIN	HPV-16 L2E7E6 слитый белок	нет	Cantab Pharmaceuticals, Xenova

Название	Антиген	Адьювант	Компания
TA-GW	HPV-6 L2E7 слитый белок	Гидроксид алюминия или AS03	Cantab Pharmaceuticals, GSK

*Однодозовые вакцинные композиции*

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая представляет собой фармацевтическую композицию (т.е. включает фармацевтически приемлемый носитель) и включает адьювант на основе LNP и частицы VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает адьювант на основе LNP и частицы VLP HPV по меньшей мере двух типов HPV. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает адьювант на основе LNP и частицы VLP HPV по меньшей мере четырех типов HPV. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к вакцинной композиции, которая включает адьювант на основе LNP и частицы VLP HPV по меньшей мере девяти типов HPV.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает адьювант на основе LNP и частицы VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV и алюминиевый адьювант. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает адьювант на основе LNP и частицы VLP HPV по меньшей мере двух типов HPV и алюминиевый адьювант. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает адьювант на основе LNP и частицы VLP HPV по меньшей мере четырех типов HPV и алюминиевый адьювант. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к вакцинной композиции, которая включает адьювант на основе LNP и частицы VLP HPV по меньшей мере девяти типов HPV и алюминиевый адьювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от около 1 мкг до около 200 мг адьюванта на основе LNP, от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта и частицы VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, где VLP каждого из HPV, когда присутствуют в однодозовой вакцинной композиции, присутствуют в концентрации от около 1 мкг до около 100 мкг на 0,5 мл однодозовой вакцинной композиции, и где общая концентрация VLP составляет от около 10 мкг до около 2000 мкг на 0,5 мл однодозовой вакцинной композиции.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от около 1 мкг до около 200 мг адьюванта на основе LNP, от около 1 мкг до около 2000 мкг частиц VLP HPV по меньшей мере двух типов HPV и от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает адьювант на основе LNP, частицы VLP HPV по меньшей мере четырех типов HPV и от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной

композиции, которая включает адъювант на основе LNP, частицы VLP HPV по меньшей мере девяти типов HPV и от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адъюванта.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP и от 1 мкг до около 100 мкг VLP каждого HPV, присутствующей в однодозовой вакцинной композиции. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP и от 2 мкг до около 200 мкг VLP HPV двух типов HPV (т.е. однодозовая вакцина представляет собой двухвалентную вакцину на основе VLP HPV). Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP и от 4 мкг до около 400 мкг VLP HPV четырех типов HPV (т.е. однодозовая вакцина представляет собой четырехвалентную вакцину на основе VLP HPV). Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP и от 9 мкг до около 900 мкг VLP HPV девяти типов (9) HPV (т.е. однодозовая вакцина представляет собой 9-валентную вакцину на основе VLP HPV). Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP и от 20 мкг до около 2000 мкг VLP HPV двадцати (20) типов HPV (т.е. однодозовая вакцина представляет собой 20-валентную вакцину на основе VLP HPV).

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP, от 1 мкг до около 100 мкг моновалентных VLP HPV и от 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адъюванта. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP и от 1 мкг до около 100 мкг на VLP бивалентных VLP HPV (т.е. VLP HPV двух типов HPV), и от 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адъюванта. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP и от 1 мкг до около 100 мкг на VLP четырехвалентных VLP HPV (т.е. VLP HPV четырех типов HPV), и от 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адъюванта. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP и от 1 мкг до около 100 мкг на VLP 9-валентных VLP HPV (т.е. VLP HPV девяти типов HPV) и от 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адъюванта. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции, которая включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP, от 1 мкг до около 100 мкг на VLP 20-валентных VLP HPV (т.е. VLP HPV двадцати типов HPV), и от 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адъюванта.

Согласно некоторым вариантам осуществления однодозовая вакцинная композиция включает от 1 мкг до около 100 мкг, на VLP, VLP HPV (HPV типов 16 и 18) и от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP, который состоит из (1) катионного липида, (2) холестерина, (3) фосфолипидов, DSPC и (4) полиэтиленгликоль-липидов (например, cPEG2000-DMG, sPEG2000-DMG или ePEG2000-DMG). Согласно некоторым вариантам осуществления однодозовая вакцинная композиция включает от 1 мкг до около 100 мкг, на VLP, VLP HPV (HPV типов 6, 11, 16 и 18) и от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP, который состоит из (1) катионного липида, (2) холестерина, (3) фосфолипидов, DSPC и (4) полиэтиленгликоль-липидов (например, cPEG2000-

DMG, сPEG2000-DMG или ePEG2000-DMG). Согласно некоторым вариантам осуществления однодозовая вакцинная композиция включает от 1 мкг до около 100 мкг, на VLP, VLP HPV (HPV типов 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58) и от 1 мкг до 200 мг адьюванта на основе LNP, который состоит из (1) катионного липида, (2) холестерина, (3) фосфолипида, DSPC и (4) полиэтиленгликоль-липиды (например, сPEG2000-DMG, сPEG2000-DMG или ePEG2000-DMG).

Согласно некоторым вариантам осуществления однодозовая вакцинная композиция включает от 1 мкг до около 100 мкг, на VLP, VLP HPV (HPV типов 16 и 18), от 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта и от 1 мкг до 200 мг адьюванта на основе LNP, который состоит из (1) катионного липида, (2) холестерина, (3) фосфолипида, DSPC и (4) полиэтиленгликоль-липиды (например, сPEG2000-DMG, сPEG2000-DMG или ePEG2000-DMG). Согласно некоторым вариантам осуществления однодозовая вакцинная композиция включает от 1 мкг до около 100 мкг, на VLP, VLP HPV (HPV типов 6, 11, 16 и 18), от 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта и от 1 мкг до 200 мг адьюванта на основе LNP, который состоит из (1) катионного липида, (2) холестерина, (3) фосфолипида, DSPC и (4) полиэтиленгликоль-липиды (например, сPEG2000-DMG, сPEG2000-DMG или ePEG2000-DMG). Согласно некоторым вариантам осуществления однодозовая вакцинная композиция включает от 1 мкг до около 100 мкг, на VLP, VLP HPV (HPV типов 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58), от 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта и от 1 мкг до 200 мг адьюванта на основе LNP, который состоит из (1) катионного липида, (2) холестерина, (3) фосфолипида, DSPC и (4) полиэтиленгликоль-липиды (например, сPEG2000-DMG, сPEG2000-DMG или ePEG2000-DMG).

Вакцины согласно настоящему изобретению содержат VLP, содержащие антигенные детерминанты, необходимые для индукции образования нейтрализующих антител у хозяина. Вакцины достаточно безопасны для введения без риска клинической инфекции, не имеют токсических побочных эффектов, стабильны, совместимы с обычными носителями и могут эффективно вводиться. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP согласно настоящему изобретению можно комбинировать с рекомбинантной бивалентной (типы 16 и 18) вакциной против вируса папилломы человека. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP согласно настоящему изобретению можно комбинировать с CERVARIX®. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP согласно настоящему изобретению можно комбинировать с рекомбинантной четырехвалентной (типы 6, 11, 16, 18) вакциной против вируса папилломы человека. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP согласно настоящему изобретению можно комбинировать с GARDASIL®. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP согласно настоящему изобретению можно комбинировать с 9-ти валентной рекомбинантной вакциной против вируса папилломы человека. Согласно некоторым вариантам осуществления адьювант на основе LNP согласно настоящему изобретению можно комбинировать с GARDASIL® 9.

Фармацевтические композиции, составы и однодозовые вакцины согласно настоящему изобретению можно вводить подкожно, местно, перорально, через слизистую оболочку, внутривенно или внутримышечно. Фармацевтические композиции, составы и вакцины вводят в количестве, достаточном для того, чтобы вызвать защитный ответ. Вакцины, фармацевтические композиции и составы можно вводить различными путями, например, перорально, парентерально, подкожно, через слизистую оболочку или внутримышечно. Вводимая доза может варьироваться в зависимости от общего состояния, пола, веса и возраста пациента, пути введения

и типа VLP HPV в вакцине. Вакцина, фармацевтическая композиция, состав могут быть в форме капсулы, суспензии, эликсира или раствора. Они могут быть составлены с иммунологически приемлемым носителем.

*Наборы согласно настоящему изобретению*

Кроме того, настоящее изобретение относится к наборам, включающим любую из однодозовых фармацевтических композиций вакцин, как описано выше, и инструкции по применению.

Кроме того, настоящее изобретение относится к наборам, включающим (a) фармацевтическую композицию, содержащую VLP HPV по меньшей мере одного типа HPV, и (b) адъювант на основе LNP.

Согласно некоторым вариантам осуществления наборов фармацевтическая композиция согласно (a) содержит VLP HPV, содержащие по меньшей мере один тип вируса папилломы человека (HPV), выбранный из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтическая композиция согласно (a) представляет собой вакцину против HPV. Согласно некоторым вариантам осуществления вакцина против HPV представляет собой бивалентную рекомбинантную вакцину против вируса папилломы человека (типы 16 и 18). Согласно некоторым вариантам осуществления вакцина против HPV представляет собой CERVARIX®. Согласно некоторым вариантам осуществления вакцина против HPV представляет собой четырехвалентную рекомбинантную вакцину против вируса папилломы человека (типы 6, 11, 16, 18). Согласно некоторым вариантам осуществления вакцина против HPV представляет собой GARDASIL®. Согласно некоторым вариантам осуществления вакцина против HPV представляет собой 9-валентную рекомбинантную вакцину против вируса папилломы человека. Согласно некоторым вариантам осуществления вакцина против HPV представляет собой GARDASIL® 9.

Согласно некоторым вариантам осуществления наборов адъювант на основе LNP представляет собой любой из адъювантов на основе LNP, описанных в настоящем документе выше. Согласно некоторым вариантам осуществления набор включает от 1 мкг до 200 мг адъюванта на основе LNP. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP состоит из (1) катионного липида, (2) холестерина, (3) фосфолипида, (например, DSPC) и (4) полиэтиленгликоль-липид (например, cPEG2000-DMG, sPEG2000-DMG или ePEG2000-DMG). Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 30-65 мол.% катионного липида, 10-30 мол.% холестерина, 5-30 мол.% фосфолипида и 0,05-4 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 55-65 мол.% катионного липида, 25-35 мол.% холестерина, 5-15 мол.% фосфолипида и 1-2,5 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 40-50 мол.% катионного липида, 15-20 мол.% холестерина, 18-20 мол.% фосфолипида и 1,5-2,5 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 56-59 мол.% катионного липида, 15-20 мол.% холестерина, 18-20 мол.% фосфолипида и 0,5-1,5 мол.% ПЭГ-липид. Согласно некоторым вариантам осуществления адъювант на основе LNP включает 58 мол.% катионного липида, 30 мол.% холестерина, 10 мол.% ПЭГ-липид и 2 мол.% ПЭГ-липид.

Согласно некоторым вариантам осуществления наборов набор включает этикетку или вкладыш в упаковку, которые содержат описание компонентов и/или инструкции по применению компонентов *in vivo*. Согласно некоторым вариантам осуществления наборы включают инструкции по совместному введению (или вакцинации) (a) фармацевтической композиции или вакцины против HPV и (b) адъюванта на основе LNP. Согласно некоторым вариантам осуществления наборы включают инструкции по смешиванию (a)

фармацевтической композиции или вакцины против HPV и (b) адьюванта на основе LNP и последующему введению (или вакцинации) смеси пациенту.

Согласно варианту осуществления 1 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, которая содержит вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV) (VLP HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, адьювант на основе липидных наночастиц (LNP) и фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно варианту осуществления 2 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 1, где фармацевтическая композиция содержит VLP по меньшей мере типов HPV 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 3 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 1-2, где фармацевтическая композиция содержит VLP по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 4 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 1-3, где фармацевтическая композиция содержит VLP по меньшей мере типов HPV 31, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 5 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-4, где фармацевтическая композиция содержит VLP по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 6 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-5, где адьювант на основе LNP содержит катионный липид, фосфолипид, холестерин и ПЭГ-липид.

Согласно варианту осуществления 7 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-6, где адьювант на основе LNP содержит 30-65 мол.% катионного липида, 5-30 мол.% фосфолипида, 10-40% холестерин и 0,5-4 мол.% ПЭГ-липид.

Согласно варианту осуществления 8 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-7, где адьювант на основе LNP содержит 55-65 мол.% катионного липида, 5-15 мол.% фосфолипида, 25-35% холестерин и 1-2,5 мол.% ПЭГ-липид.

Согласно варианту осуществления 9 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-8, где адьювант на основе LNP содержит DSPC, холестерин, ePEG2000-DMG и (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин.

Согласно варианту осуществления 10 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-9, где адьювант на основе LNP содержит 5-15 мол.% DSPC, 25-35 мол.% холестерина, 1-2,5 мол.% ePEG2000-DMG и 55-65 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин.

Согласно варианту осуществления 11 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно любому из вариантов осуществления 1-10, дополнительно содержащей алюминиевый адьювант.

Согласно варианту осуществления 12 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей:

(a) вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV) (VLP HPV), где по меньшей мере один тип HPV выбран из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82,

(b) от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта и

(c) от около 1 мкг до около 200 мг адьюванта на основе липидных наночастиц (LNP),

где VLP каждого из HPV содержат рекомбинантный белок L1 или рекомбинантный белок L1 + L2,

где VLP каждого из HPV, если присутствуют в фармацевтической композиции, присутствуют в концентрации от около 1 мкг до около 100 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции,

где общая концентрация VLP составляет от 1 мкг до 2000 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, и

где VLP HPV адсорбированы на алюминиевом адьюванте.

Согласно варианту осуществления 13 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 12, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 14 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-13, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 15 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-14, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 31, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 16 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-15, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 17 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-16, где адьювант на основе LNP содержит катионный липид, фосфолипид, холестерин и ПЭГ-липид.

Согласно варианту осуществления 18 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-17, где адьювант на основе LNP содержит 30-65 мол.% катионного липида, 5-30 мол.% фосфолипида, 10-40 мол.% холестерина и 0,5-4 мол.% ПЭГ-липид.

Согласно варианту осуществления 19 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-18, где адьювант на основе LNP содержит DSPC, холестерин, ePEG2000-DMG и (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин.

Согласно варианту осуществления 20 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-19, где адьювант на основе LNP содержит 5-15 мол.% DSPC, 25-35 мол.% холестерина, 1-2,5 мол.% ePEG2000-DMG и 55-65 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амина.

Согласно варианту осуществления 20a настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-20, где адьювант на основе LNP содержит 10 мол.% DSPC, 30 мол.% холестерина, 2 мол.% конъюгата полимера и липида и 58 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амина.

Согласно варианту осуществления 20b настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-20, где адъювант на основе LNP содержит 10 мол.% DSPC, 30 мол.% холестерина, 2 мол.% сPEG2000-DMG и 58 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амина.

Согласно варианту осуществления 20c настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-20, где адъювант на основе LNP содержит 10 мол.% DSPC, 30 мол.% холестерина, 2 мол.% сPEG2000-DMG и 58 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амина.

Согласно варианту осуществления 20d настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-20, где адъювант на основе LNP содержит 10 мол.% DSPC, 30 мол.% холестерина, 2 мол.% сPEG2000-DMG и 58 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амина.

Согласно варианту осуществления 21 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-20 и 20a-20d, где VLP HPV содержат белок L1 HPV и не содержат белок L2 HPV.

Согласно варианту осуществления 22 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 12-20 и 20a-20d, где VLP HPV состоят из белка L1 HPV.

Согласно варианту осуществления 23 настоящее изобретений относится к однодозовой вакцинной композиции, содержащей:

адъювант на основе липидных наночастиц (LNP), где адъювант содержит 30-65 мол.% катионного липида, 5-30 мол.% фосфолипида, 10-40% холестерина и 0,5-4 мол.% ПЭГ-липиды,

вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV) (VLP HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82,

где однодозовая вакцинная композиция обеспечивает повышенный или сопоставимый иммунный ответ против HPV по сравнению с многократными дозами той же композиции, составленной или вводимой без адъюванта LNP.

Согласно варианту осуществления 24 настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции согласно варианту осуществления 23, где вакцина против HPV дополнительно содержит алюминиевый адъювант.

Согласно варианту осуществления 25 настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции согласно варианту осуществления 24, где VLP HPV адсорбированы на алюминиевом адъюванте.

Согласно варианту осуществления 26 настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции согласно вариантам осуществления 23-25, где VLP каждого из HPV, если присутствуют в однодозовой вакцинной композиции, присутствуют в концентрации от около 10 мкг до около 100 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, и где общая концентрация VLP HPV составляет от 10 мкг до 2000 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции.

Согласно варианту осуществления 26a настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции согласно вариантам осуществления 23-26, где однодозовая вакцинная композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 26b настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции согласно вариантам осуществления 23-26, где однодозовая вакцинная композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 26c настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции согласно вариантам осуществления 23-26, где однодозовая вакцинная композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 31, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 26d настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции согласно вариантам осуществления 23-26, где однодозовая вакцинная композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 26e настоящее изобретение относится к однодозовой вакцинной композиции согласно вариантам осуществления 23-26d, где VLP HPV содержат белок L1 HPV и не содержат белок L2 HPV.

Согласно варианту осуществления 26f настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 23-26d, где VLP HPV состоят из белка L1 HPV.

Согласно варианту осуществления 27 настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против вируса папилломы человека (HPV) у пациента-человека, предусматривающему введение пациенту фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 1-22 или однодозовой вакцинной композиции согласно вариантам осуществления 23-26f.

Согласно варианту осуществления 28 настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против вируса папилломы человека (HPV) у пациента-человека, предусматривающему совместное введение пациенту (a) фармацевтической композиции, содержащей вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV) (VLP HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82. и (b) адьюванта на основе LNP.

Согласно варианту осуществления 28a настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 28, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 28b настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 28, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 28c настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 28, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 31, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 28d настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 28, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 28e настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 28 и 28a-28d, где фармацевтическая композиция, содержащая VLP HPV, представляет собой вакцину против HPV.

Согласно варианту осуществления 28f настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 28e, где вакцина против HPV представляет собой 9-ти валентную рекомбинантную вакцину против вируса папилломы человека.

Согласно варианту осуществления 28g настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 28e и 28f, где вакцина против HPV представляет собой GARDASIL® 9.

Согласно варианту осуществления 29 настоящее изобретение относится к способу профилактики у пациента-человека инфекции, вызываемой вирусом папилломы человека (HPV), предусматривающему введение пациенту фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 1-22 или однодозовой вакцинной композиции согласно вариантам осуществления 23 и 26f.

Согласно варианту осуществления 30 настоящее изобретение относится к способу профилактики у пациента-человека инфекции, вызываемой вирусом папилломы человека (HPV), предусматривающему совместное введение пациенту (a) фармацевтической композиции, содержащей вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и (b) адьюванта на основе LNP.

Согласно варианту осуществления 30a настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 30, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 30b настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 30, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16 и 18.

Согласно варианту осуществления 30c настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 30, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 31, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 30d настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 30, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58.

Согласно варианту осуществления 30e настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 30 и 30a-30d, где фармацевтическая композиция, содержащая VLP HPV, представляет собой вакцину против HPV.

Согласно варианту осуществления 30f настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 30e, где вакцина против HPV представляет собой 9-ти валентную рекомбинантную вакцину против вируса папилломы человека.

Согласно варианту осуществления 30g настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 30e и 30f, где вакцина против HPV представляет собой GARDASIL® 9.

Согласно варианту осуществления 31 настоящее изобретение относится к набору, содержащему (a) вакцину против вируса папилломы человека (HPV) и (b) адьювант на основе LNP.

Согласно варианту осуществления 32 настоящее изобретение относится к набору согласно варианту осуществления 31, дополнительно содержащему инструкции по совместному введению пациенту-человеку вакцины против HPV и адьюванта на основе LNP.

Согласно варианту осуществления 32a настоящее изобретение относится к набору согласно варианту осуществления 31, дополнительно содержащему инструкции по смешиванию вакцины против HPV и адьюванта на основе LNP и введению смеси пациенту-человеку.

Согласно варианту осуществления 33 настоящее изобретение относится к набору согласно варианту осуществления 31-32a, где вакцина против HPV содержит вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82.

Согласно варианту осуществления 33a настоящее изобретение относится к набору согласно вариантам осуществления 31-33, где вакцина против HPV представляет собой 9-ти валентную рекомбинантную вакцину против вируса папилломы человека.

Согласно варианту осуществления 33b настоящее изобретение относится к набору согласно вариантам осуществления 31-33a, где вакцина против HPV представляет собой GARDASIL® 9.

Согласно варианту осуществления 34 настоящее изобретение относится к способу доставки фармацевтической композиции, которая вызывает нейтрализующий титр против антигена у хозяина, предусматривающему:

(a) введение однодозовой вакцинной композиции, содержащей:  
адьювант на основе липидных наночастиц (LNP) и  
вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82,

и

(b) индукцию нейтрализующего титра против антигена у хозяина,  
где однодозовая вакцинная композиция приводит к повышенному или сопоставимому нейтрализующему титру по сравнению с многократными дозами той же композиции, составленной или вводимой без адьюванта на основе LNP.

Согласно варианту осуществления 35 настоящее изобретение относится к способу согласно варианту осуществления 34, дополнительно содержащему алюминиевый адьювант.

Согласно варианту осуществления 36 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей

- (a) вирусоподобные частицы (VLP) типов HPV (VLP HPV) 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58,
- (b) адьювант на основе LNP,
- (c) необязательно алюминиевый адьювант и
- (d) фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно варианту осуществления 37 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 37, где VLP HPV содержат 30 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 6, 40 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 11, 60 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 16, 40 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 18, 20 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 31, 20 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 33, 20 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 45, 20 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 52 и 20 мкг VLP HPV белка L1 HPV типа 58.

Согласно варианту осуществления 38 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-37, где адъювант на основе LNP содержит от около 1 мкг до около 200 мкг адъюванта на основе LNP.

Согласно варианту осуществления 39 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-38, где фармацевтическая композиция содержит от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адъюванта.

Согласно варианту осуществления 39a настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 39, где VLP HPV адсорбированы на алюминиевом адъюванте.

Согласно варианту осуществления 40 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-39, где адъювант на основе LNP содержит катионный липид, фосфолипид, холестерин и ПЭГ-липид.

Согласно варианту осуществления 41 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-40, где адъювант на основе LNP содержит 30-65 мол.% катионного липида, 5-30 мол.% фосфолипида, 10-40% холестерин и 0,5-4 мол.% ПЭГ-липид.

Согласно варианту осуществления 42 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-41, где адъювант на основе LNP содержит DSPC, холестерин, ePEG2000-DMG и (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин.

Согласно варианту осуществления 43 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-42, где адъювант на основе LNP содержит 5-15 мол.% DSPC, 25-35 мол.% холестерина, 1-2,5 мол.% ePEG2000-DMG и 55-65 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин.

Согласно варианту осуществления 44 настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-43, где адъювант на основе LNP содержит 10 мол.% DSPC, 30 мол.% холестерина, 2 мол.% ePEG2000-DMG и 58 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин.

Согласно варианту осуществления 45 настоящее изобретение относится к способу индукции иммунного ответа против вируса папилломы человека (HPV) у пациента-человека, предусматривающему введение пациенту фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-44.

Согласно варианту осуществления 46 настоящее изобретение относится к способу профилактики у пациента-человека инфекции, вызванной вирусом папилломы человека (HPV), предусматривающему введение пациенту фармацевтической композиции согласно вариантам осуществления 36-44.

Все публикации, указанные в настоящем документе, включены посредством ссылки с целью описания и раскрытия методологий и материалов, которые могут быть использованы в связи с настоящим изобретением. Ничто в настоящем документе не должно быть истолковано как признание того, что настоящее изобретение не может предшествовать такому раскрытию в силу предшествующего изобретения.

После описания предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения со ссылкой на прилагаемые чертежи следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается этими конкретными вариантами осуществления и что специалист в данной области техники может использовать различные изменения и модификации, не выходя за рамки объема или сущности настоящего изобретения, как определено в прилагаемой формуле изобретения.

Следующие примеры иллюстрируют, но не ограничивают настоящее изобретение.

## **Примеры**

### **Пример 1. Получение адьюванта на основе липидных наночастиц**

Композиции, включающие адьювант на основе LNP, согласно настоящему изобретению получали согласно следующему способу. Сначала липидные компоненты (DSPC, холестерин, ePEG2000-DMG и (13Z, 16Z)-N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин) растворяли в этаноле с образованием органического раствора. Затем композицию липид/этанол подвергали процессу быстрого осаждения, посредством которого раствор липида/этанола микроперемешивали с водным раствором солевого раствора, буферизованного цитратом натрия, имеющего значение pH около 2-6, с использованием Т-образного смесителя ограниченного объема. Водный и органический растворы смешивали в смесителе ограниченного объема при соотношении около от 1:1 до 4:1 об. :об., с общей скоростью потока от 10 мл/мин до 600 л/мин, с образованием адьюванта на основе LNP. Полученный адьювант на основе LNP разбавляли цитратным буфером, имеющим pH около 6-8.

Адьювант на основе LNP затем концентрировали и фильтровали с помощью процесса ультрафильтрации, при котором спирт удаляли, а буфер заменяли фосфатно-солевым буфером с pH от 6 до 8. В процессе ультрафильтрации, имеющем формат тангенциальной проточной фильтрации («TFF»), использовали диапазон отсеивания по номинальной молекулярной массе полволоконной мембраны от 30 до 500 кДа, с нацеливанием на 100 кДа. TFF удерживала LNP в ретентате, а фильтрат или пермеат содержал спирт и отходы конечного буфера. TFF обеспечивала начальное концентрирование LNP до концентрации липидов 1-100 мг/мл. После концентрирования адьювант на основе LNP подвергали диалфильтрации против конечного буфера (например, фосфатно-солевого буфера («PBS»)) для удаления спирта и замены буфера. Затем материал концентрировали с помощью ультрафильтрации.

Концентрированный адьювант на основе LNP затем стерильно фильтровали в подходящий контейнер в асептических условиях. Стерильную фильтрацию осуществляли путем пропускания суспензии LNP через предварительный фильтр (капсула Асторак 500 PES 0,45/0,8 мкм) и фильтр для уменьшения бионагрузки (капсула Асторак 500 PES 0,2/0,8 мкм). После фильтрации флакон с адьювантом LNP хранили в подходящих условиях.

### **Пример 2. Получение композиций согласно настоящему изобретению**

Состав, включающий адьювант на основе LNP, описанный в примере 1 (далее «адьювант на основе LNP»), объединяли с дозой 9-валентной вакцины против HPV/алюминиевого адьюванта (далее «Вакцина 9vHPV») с получением однодозовой вакцинной композиции.

### **Пример 3. Фармакология in vivo**

После начального скрининга иммуногенности на кроликах нескольких различных адьювантов в комбинации с вакциной 9vHPV проводили исследования, описанные ниже, чтобы подтвердить наблюдение, что однодозовая вакцинная композиция вакцины 9vHPV, смешанной с адьювантом на основе LNP, приводит к иммунным ответам, сопоставимым с иммунными ответами, достигаемыми после введения 2 доз вакцины 9vHPV.

**Пример 4. Иммуногенность и устойчивость однократной дозы вакцины 9vHPV + адьюванта на основе LNP на кроликах**

Как описано в Таблице 1 ниже, иммуногенность вакцины 9vHPV в комбинации с адьювантом на основе LNP оценивали на неклинической кроличьей модели иммуногенности. В группе 1 четырех новозеландских белых кроликов вакцинировали внутримышечным введением однократной дозы (т.е. одной дозы на неделе 0) вакцины 9vHPV. В группе 2 четыре новозеландских белых кроликов вакцинировали внутримышечно несколькими дозами (т.е. двумя дозами, одна на неделе 0 и одна на неделе 4) вакцины 9vHPV. В группе 3 четырех новозеландских белых кроликов вакцинировали однократной дозой (т.е. одной дозой на неделе 0) вакцины 9vHPV, смешанной с адьювантом на основе LNP. В последнем случае применяли 0,5 мл инокулята, приготовленного путем смешивания вакцины 9vHPV с адьювантом на основе LNP, который инъецировали в заднюю четырехглавую мышцу кролика путем внутримышечного введения в течение 4 часов.

**Таблица 1. Группы, уровни доз и схема дозирования у кроликов**

Группа	Число кроликов	Инокулят	Уровень дозы		ROA <sup>a</sup>	Схема дозирования
			Вакцина 9vHPV <sup>b</sup>	адьювант на основе LNP <sup>c</sup>		
1	4	вакцина 9vHPV	одна доза <sup>b</sup>	NA	IM	неделя 0
2	4	вакцина 9vHPV		NA	IM	недели 0, 4
3	4	вакцина 9vHPV + доза на основе LNP		1 мг	IM	неделя 0

<sup>a</sup> Все дозы вводили в дозе 500 мкл в одну четырехглавую мышцу бедра

<sup>b</sup> Одна доза вакцины 9vHPV для кролика эквивалентна 1/20 дозы вакцины 9vHPV для человека.

<sup>c</sup> Доза адьюванта на основе LNP относится к общей дозе липидов

IM = внутримышечно, NA = не применимо, ROA=путь введения

Для оценки иммуногенности сыворотки отдельных животных оценивали с помощью мультиплексного анализа для измерения уровней антител к 9 типам HPV в вакцине. Концентрации антител к VLP HPV определяли на неделе исследования 4, 6, 12, 24, 36 и 48. Репрезентативные титры к VLP HPV 16 и VLP HPV 18 показаны на фиг. 1. Группа 3, т.е. животные, получившие однократную дозу (т.е. однократную инокуляцию) вакцины 9vHPV в сочетании с адьювантом на основе LNP, продуцировала концентрации антител, подобные Группе 2, т.е. животным, которым вводили многократную дозу (т.е. две дозы) вакцины 9vHPV с интервалом в 4 недели. Уровни антител в группе 3, т.е. у животных, получавших вакцину 9vHPV, смешанную с адьювантом на основе LNP, были приблизительно в 10 раз выше по сравнению с уровнями антител в группе 1, т.е. у животных, получавших одну дозу только вакцины 9vHPV. Уровни антител в группе 3, т.е. в группе, получавшей вакцину 9vHPV + адьювант на основе LNP, оставались на одном уровне на протяжении всего исследования (48 недель).

Кроликам (n=4/группа) проводили внутримышечную инъекцию согласно схеме однократной дозы (т.е. одну дозу вводили только на 0-й неделе) или многодозовой схеме (т.е. одну дозу вводили на 0-й неделе, а вторую дозу вводили на 4-й неделе) введения доз вакцины 9vHPV (9vHPV) и по сравнению с группой, которая

получила однократную дозу (т.е. одну дозу, введенную на неделе 0) вакцины 9vHPV, смешанной с 1 мг адьюванта на основе LNP. Уровни антител (Ab) ко всем вирусоподобным частицам (VLP) 9 типов вируса папилломы человека (HPV) отслеживали в течение 48 недель. На фиг. 1 представлены концентрации антител (мкг/мл), обнаруженные в сыворотке против VLP HPV типа 16 (фиг. 1A) и 18 (фиг. 1B) на неделе 4, 6, 12, 24, 36 и 48. Данные представлены как средние геометрические концентрации и 95% доверительные интервалы (CI). Иммунные ответы, наблюдаемые для всех 9 типов VLP на 48-й неделе, представлены на фиг. 2. Уровни антител против VLP HPV были такими же или выше в группе 3 по сравнению с группой 2 для всех типов.

Кроликам (n=4/группа) проводили внутримышечную инъекцию согласно схеме однократной дозы (т.е. одну дозу вводили только на 0-й неделе) или многодозовой схеме (т.е. одну дозу вводили на 0-й неделе, а вторую дозу вводили на 4-й неделе) введения доз вакцины 9vHPV (9vHPV) и по сравнению с группой, которая получала однократную дозу (т.е. одну дозу, введенную на неделе 0) вакцины 9vHPV, смешанной с 1 мг адьюванта на основе LNP. Уровни антител (Ab) ко всем вирусоподобным частицам (VLP) 9 типов вируса папилломы человека (HPV) отслеживали в течение 48 недель. Показаны концентрации антител (мкг/мл), обнаруженные в сыворотке против девяти типов VLP HPV на 48-й неделе. Данные представлены в виде средних геометрических концентраций и 95% доверительных интервалов (CI).

#### **Пример 5. Иммуногенность и устойчивость однократной дозы вакцины 9vHPV + адьювант на основе LNP у макак-резусов**

Иммуногенность вакцины 9vHPV в сочетании с увеличением количества или количеством адьюванта на основе LNP оценивали на неклинической модели иммуногенности приматов, отличных от человека. Обозначение групп описано в Таблица 2. В группах 1, 3, 4 и 5 6 макак-резусов вакцинировали на 0-й неделе либо однократной дозой вакцины 9vHPV отдельно, либо вакциной 9vHPV в сочетании с 1, 3 или 6 мг адьюванта на основе LNP. В группе 2 6 макак-резусов вакцинировали согласно многодозовой схеме, при которой животным вводили первую дозу вакцины 9vHPV на 0-й неделе и вторую дозу вакцины 9vHPV на 4-й неделе. Дозы 1,0 мл вакцины 9vHPV в сочетании с 1, 3 или 6 мг адьюванта на основе LNP получали путем смешивания вакцины 9vHPV и адьюванта на основе LNP и вводили комбинации в четырехглавую мышцу макаки-резуса в течение 4 часов после получения.

Таблица 2. Группы, уровни доз и схема дозирования у приматов, отличных от человека

Группа	Число макак-резус	Инокулят	Уровень дозы		ROA <sup>a</sup>	Схема дозирования
			Вакцина 9vHPV <sup>b</sup>	Адьювант на основе LNP <sup>c</sup>		
1	6	Вакцина 9vHPV	одна доза <sup>b</sup>	NA	IM	неделя 0
2	6	Вакцина 9vHPV		NA	IM	недели 0, 4
3	6	Вакцина 9vHPV + адьювант на основе LNP		1 мг	IM	неделя 0
4	6	Вакцина 9vHPV + адьювант на основе LNP		3 мг	IM	неделя 0
5	6	Вакцина 9vHPV + адьювант на основе LNP		6 мг	IM	неделя 0

<sup>a</sup> Все дозы вводили в дозе 1 мл в одну четырехглавую мышцу бедра

<sup>b</sup> Одна доза вакцины 9vHPV для макаки-резуса эквивалентна 1/20 дозы вакцины 9vHPV для человека.

<sup>c</sup> Доза адьюванта на основе LNP относится к общей дозе липидов

IM = внутримышечно, NA = не применимо, ROA=путь введения

Макакам-резусам (n=6/группа) вводили внутримышечно одну (неделя 0) или две (неделя 0 и 4) дозы вакцины 9vHPV (9vHPV) или одну дозу (неделя 0) вакцины 9vHPV в сочетании с 1, 3, или 6 мг адьюванта на основе LNP. Уровни антител (Ab) ко всем 9 типам VLP HPV отслеживали в течение 20 недель. На фиг. 3 показаны концентрации антител (мкг/мл), обнаруженные в сыворотке против VLP HPV типа 16 (фиг. 3А) и 18 (фиг. 3Б) на 4, 6, 8, 12 и 20 неделе. На фиг. 4 показаны концентрации антител (мкг/мл), обнаруженные в сыворотке против девяти типов VLP HPV на 20-й неделе. Данные на обоих чертежах представлены в виде средних геометрических концентраций и 95% доверительных интервалов (CI).

Для оценки иммуногенности сыворотки отдельных животных оценивали с помощью мультиплексного анализа для измерения уровней антител к 9 типам HPV в вакцине. Концентрации антител к VLP HPV определяли на 4-й, 6-й, 8-й, 12-й и 20-й неделе исследования. Как показано на фиг. 3 и 4, однократная инокуляция вакцины 9vHPV в сочетании с адьювантом на основе LNP приводила к концентрациям антител, аналогичным двум дозам вакцины 9vHPV, вводимым с интервалом в 4 недели, при всех уровнях доз оцениваемого адьюванта на основе LNP. Одноразовая схема (т.е. однократная инокуляция) вакцины 9vHPV в сочетании с адьювантом на основе LNP продуцировала такие же концентрации антител, что и многодозовая схема (т.е. две отдельные дозы) вакцины 9vHPV, вводимые с интервалом в 4 недели. Уровни антител в группе, получавшей однократную дозу вакцины 9vHPV + адьювант на основе LNP, оставались на том же уровне вплоть до 20 недель после вакцинации. У животных, получавших вакцину 9vHPV в сочетании с адьювантом на основе LNP, уровни антител против VLP HPV были такими же или выше по сравнению с группой, получавшей многодозовую вакцину 9vHPV для всех типов.

**Пример 6. Иммуногенность однократной дозы вакцины 9vHPV в сочетании с более низкими уровнями доз адъюванта на основе LNP у макак-резусов**

Иммуногенность вакцины 9vHPV в сочетании с более низкими количествами адъюванта на основе LNP (1 мг, 0,33 мг и 0,11 мг) оценивали на неклинической модели иммуногенности приматов, отличных от человека. Обозначения групп описаны в таблице 3 ниже. На неделе 0 каждую группу инокулировали либо одной вакциной 9vHPV, либо вакциной 9vHPV в сочетании с 1 мг, 0,33 мг или 0,11 мг адъюванта на основе LNP. На 4-й неделе животным группы 2 вводили вторую дозу вакцины 9vHPV. Никакие другие группы не подвергали повышению. Дозы объемом 1,0 мл готовили путем смешивания вакцины 9vHPV и адъюванта на основе LNP и введения в четырехглавую мышцу макаки-резуса в течение 4 часов.

**Таблица 3. Группы, уровни доз и схема дозирования у приматов, отличных от человека**

Группа	Число макак-резус	Инокулят	Уровень дозы		ROA <sup>a</sup>	Схема дозирования
			Вакцина 9vHPV <sup>b</sup>	Адъювант на основе LNP <sup>c</sup>		
1	5	Вакцина 9vHPV	одна доза	NA	IM	недели 0, 4
2	5	Вакцина 9vHPV + адъювант на основе LNP		1 мг	IM	неделя 0
3	5	Вакцина 9vHPV + адъювант на основе LNP	одна доза	0,33 мг	IM	неделя 0
4	5	Вакцина 9vHPV + адъювант на основе LNP		0,11 мг	IM	неделя 0

<sup>a</sup> Все дозы вводили в дозе 1 мл в одну четырехглавую мышцу бедра

<sup>b</sup> Одна доза вакцины 9vHPV для макаки-резуса эквивалентна 1/20 дозы вакцины 9vHPV для человека.

<sup>c</sup> Доза адъюванта на основе LNP относится к общей дозе липидов

IM = внутримышечно, NA = не применимо, ROA=путь введения

Для оценки иммуногенности сыворотки отдельных животных оценивали с использованием мультиплексного анализа для измерения уровней антител к 9 типам HPV 9- валентной вакцины против HPV. Концентрации антител к VLP HPV определяли на 4, 6 и 12 неделе. Репрезентативные титры к VLP HPV 16 и VLP HPV 18 показаны на фиг. 5. Уровни антител, измеренные у животных, получивших однократную дозу (т.е. однократную инокуляцию) 9vHPV вакцины в сочетании с адъювантом на основе LNP, зависели от количества или дозы вводимого адъюванта на основе LNP. У животных, получавших вакцину 9vHPV в сочетании с 1 мг адъюванта на основе LNP, концентрации антител были подобны концентрации антител у животных, получавших многодозовую схему (т.е. две дозы вакцины 9vHPV), при инъекции с интервалом в 4 недели. Животные, получавшие вакцину 9vHPV в сочетании с дозой 0,33 или 0,11 мг адъюванта на основе LNP, имели более низкие концентрации антител по сравнению с группами, получавшими 1 мг адъюванта LNP

и согласно многодозовой схеме (т.е. две дозы вакцины 9vHPV). Отмечено, что уровни антител, измеренные у животных, получавших однократную дозу вакцины 9vHPV в сочетании с 0,11 мг адьюванта на основе LNP, были подобны таковым у животных, которые получали однократную дозу вакцины 9vHPV отдельно, т.е. получали вакцину 9vHPV без адьюванта на основе LNP.

Макакам-резусам (n=5/группа) вводили внутримышечно две (неделя 0 и неделя 4) дозы вакцины 9vHPV или одну дозу (неделя 0) вакцины 9vHPV в сочетании с 1, 0,33 или 0,11 мг адьюванта на основе LNP. Уровни антител (Ab) к вирусоподобным частицам (VLP) вируса папилломы человека (HPV) всех 9 типов отслеживали в течение 12 недель. На фиг. 5 показаны концентрации антител (мкг/мл), обнаруженные в сыворотке против VLP HPV типа 16 (фиг. 5A) и 18 (фиг. 5B) на 4, 6 и 12 неделе. На фиг. 6 показаны концентрации антител (мкг/мл), обнаруженные в сыворотке против девяти типов VLP HPV на 12-й неделе. Данные на обоих чертежах представлены в виде средних геометрических концентраций и 95% доверительных интервалов (CI).

Уровни антител в группах, получавших вакцину 9vHPV + адьювант на основе LNP, оставались на аналогичных уровнях в течение 12 недель после вакцинации. Иммунные ответы, наблюдаемые для всех 9 типов VLP на 12-й неделе, представлены на Фиг. 6. Уровни антител, измеренные у животных, получивших однократную дозу (т.е. однократную инокуляцию) вакцины 9vHPV в сочетании с адьювантом на основе LNP, зависели от дозы или количества вводимого адьюванта на основе LNP. У животных, получавших однократную дозу вакцины 9vHPV в сочетании с дозой 1 мг адьюванта на основе LNP, уровни антител против VLP HPV были такими же или выше по сравнению с группой, получавшей многократную дозу вакцины 9vHPV для всех типов.

**Пример 7. Клиническое исследование фазы 1 для оценки безопасности и переносимости однократной дозы Gardasil® 9 с адьювантом на основе LNP.**

Целью исследования фазы 1 являлась оценка безопасности и переносимости 9-валентной вакцины против HPV (GARDASIL® 9) в сочетании с адьювантом на основе LNP и определение, стимулируют ли возрастающие дозы адьюванта на основе LNP при добавлении к 9-валентной вакцине против HPV ответы антител на каждый тип HPV, которые сопоставимы с ответами, достигаемыми при утвержденной клинической схеме введения 2-3 доз GARDASIL® 9. Исследование представляет собой исследование с повышением однократной дозы в отношении адьюванта на основе LNP, с четырьмя панелями эскалации, включающими до 16 здоровых молодых людей на панель. Каждая группа субъектов получала компоненты GARDASIL® 9 (содержащие 270 мкг VLP 9 типов HPV и 500 мкг AAHS) в сочетании с конкретной дозой адьюванта LNP на панель в виде 1 мл внутримышечной инъекции. Каждую панель дозировали и проверяли на безопасность и переносимость в течение 1 недели, прежде чем принимали решение о повышении дозы. GMT (среднегеометрический титр) IgG, специфического для типа HPV, в моменты времени 7, 12, 18 и 24 месяца служил основной конечной точкой.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Фармацевтическая композиция, содержащая:  
вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82,  
адьювант на основе липидных наночастиц (LNP) и фармацевтически приемлемый носитель.
2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где фармацевтическая композиция содержит VLP по меньшей мере типов HPV 16 и 18.
3. Фармацевтическая композиция по п. 1, где фармацевтическая композиция содержит VLP по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16 и 18.
4. Фармацевтическая композиция по п. 1, где фармацевтическая композиция содержит VLP по меньшей мере типов HPV 31, 45, 52 и 58.
5. Фармацевтическая композиция по п. 1, где фармацевтическая композиция содержит VLP по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58.
6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-5, где адьювант на основе LNP содержит катионный липид, фосфолипид, холестерин и ПЭГ-липид.
7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-6, где адьювант на основе LNP содержит 30-65 мол.% катионного липида, 5-30 мол.% фосфолипида, 10-40 мол.% холестерина и 0,5-4 мол.% ПЭГ-липид.
8. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-7, где адьювант на основе LNP содержит 55-65 мол.% катионного липида, 5-15 мол.% фосфолипида, 25-35 мол.% холестерина и 1-2,5 мол.% ПЭГ-липид.
9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, где адьювант на основе LNP содержит DSPC, холестерин, ePEG2000-DMG и (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин.
10. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-9, где адьювант на основе LNP содержит 5-15 мол.% DSPC, 25-35 мол.% холестерина, 1-2,5 мол.% ePEG2000-DMG и 55-65 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амина.
11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-10, дополнительно содержащая алюминиевый адьювант.
12. Фармацевтическая композиция, содержащая:  
(a) вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), где по меньшей мере один тип HPV выбран из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82,  
(b) от около 100 мкг до около 900 мкг алюминиевого адьюванта и  
(c) от около 10 мкг до около 200 мг адьюванта на основе липидных наночастиц (LNP),  
где VLP каждого из HPV содержат рекомбинантный белок L1 или рекомбинантный белок L1 + L2,  
где VLP каждого из HPV присутствуют в концентрации от около 10 мкг до около 100 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции,

где общая концентрация VLP HPV составляет от 10 мкг до 2000 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, и

где VLP HPV адсорбированы на алюминиевом адьюванте.

13. Фармацевтическая композиция по п. 12, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 16 и 18.

14. Фармацевтическая композиция по п. 12, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16 и 18.

15. Фармацевтическая композиция по п. 12, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 31, 45, 52 и 58.

16. Фармацевтическая композиция по п. 12, где фармацевтическая композиция содержит VLP HPV по меньшей мере типов HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 и 58.

17. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 12-16, где адьювант на основе LNP содержит катионный липид, фосфолипид, холестерин и ПЭГ-липид.

18. Фармацевтическая композиция по п. 17, где адьювант на основе LNP содержит 30-65 мол.% катионного липида, 5-30 мол.% фосфолипида, 10-40 мол.% холестерина и 0,5-4 мол.% ПЭГ-липид.

19. Фармацевтическая композиция по п. 18, где адьювант на основе LNP содержит DSPC, холестерин, ePEG2000-DMG и (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амин.

20. Фармацевтическая композиция по п. 19, где адьювант на основе LNP содержит 5-15 мол.% DSPC, 25-35 мол.% холестерина, 1-2,5 мол.% ePEG2000-DMG и 55-65 мол.% (13Z, 16Z) – N,N-диметил-3-нонилдокоза-13,16-диен-1-амина.

21. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-20, где VLP HPV содержит белок L1 HPV и не содержит белок L2 HPV.

22. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-20, где VLP HPV состоит из белка L1 HPV.

23. Однодозовая вакцинная композиция, содержащая:

адьювант на основе липидных наночастиц (LNP), где адьювант содержит 30-65 мол.% катионного липида, 5-30 мол.% фосфолипида, 10-40 мол.% холестерина и 0,5-4 мол.% ПЭГ-липид,

вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82,

где однодозовая вакцинная композиция обеспечивает повышенный или сопоставимый иммунный ответ против HPV по сравнению с многократными дозами той же композиции, составленной без адьюванта на основе LNP.

24. Однодозовая вакцинная композиция по п. 23, где вакцина дополнительно содержит алюминиевый адьювант.

25. Однодозовая вакцинная композиция по п. 24, где VLP HPV адсорбированы на алюминиевом адьюванте.

26. Однодозовая вакцинная композиция по любому из пп. 23-25, где VLP каждого из HPV присутствуют в концентрации от около 10 мкг до около 100 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции, и где общая концентрация VLP HPV составляет от 10 мкг до 2000 мкг на 0,5 мл фармацевтической композиции.

27. Способ индукции иммунного ответа против вируса папилломы человека (HPV) у пациента-человека, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по любому из пп. 1-22 или однодозовой вакцинной композиции по любому из пп. 23-26.

28. Способ индукции иммунного ответа против вируса папилломы человека (HPV) у пациента-человека, включающий совместное введение пациенту (а) фармацевтической композиции, содержащей вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и (b) адьюванта на основе LNP.

29. Способ профилактики у пациента-человека инфекции, вызываемой вирусом папилломы человека (HPV), включающий введение пациенту фармацевтической композиции по любому из пп. 1-22 или однодозовой вакцинной композиции по любому из пп. 23-26.

30. Способ профилактики у пациента-человека инфекции, вызываемой вирусом папилломы человека (HPV), включающий совместное введение пациенту (а) фармацевтической композиции, содержащей вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82, и (b) адьюванта на основе LNP.

31. Набор, содержащий:

(а) вакцину против вируса папилломы человека (HPV) и

(b) адьювант на основе LNP.

32. Набор по п. 31, дополнительно содержащий инструкции по введению пациенту-человеку вакцины против HPV и адьюванта на основе LNP.

33. Набор по любому из пп. 25 и 26, где вакцина против HPV содержит вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82.

34. Способ доставки фармацевтической композиции, которая индуцирует нейтрализующий титр против антигена HPV у хозяина, включающий:

(а) введение фармацевтической композиции, содержащей:

адьювант на основе липидных наночастиц (LNP) и

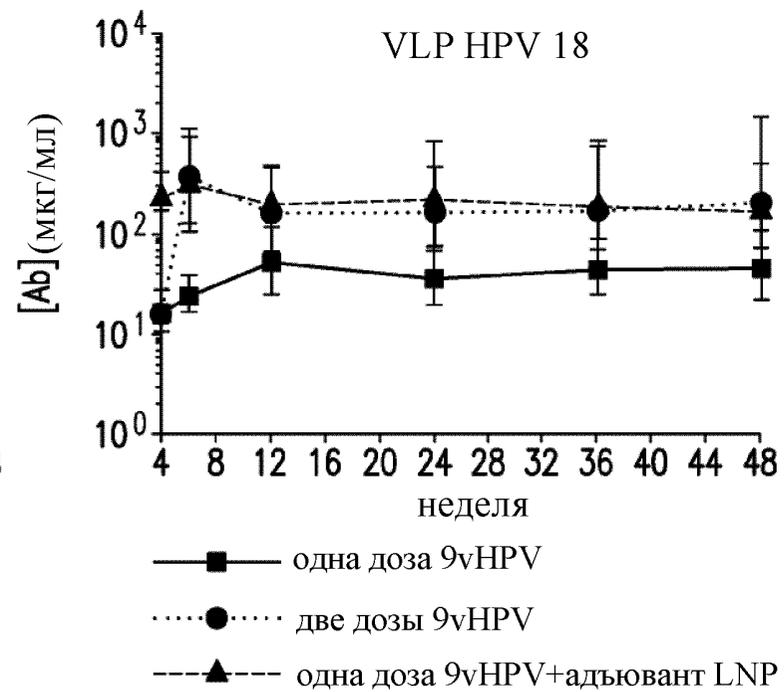
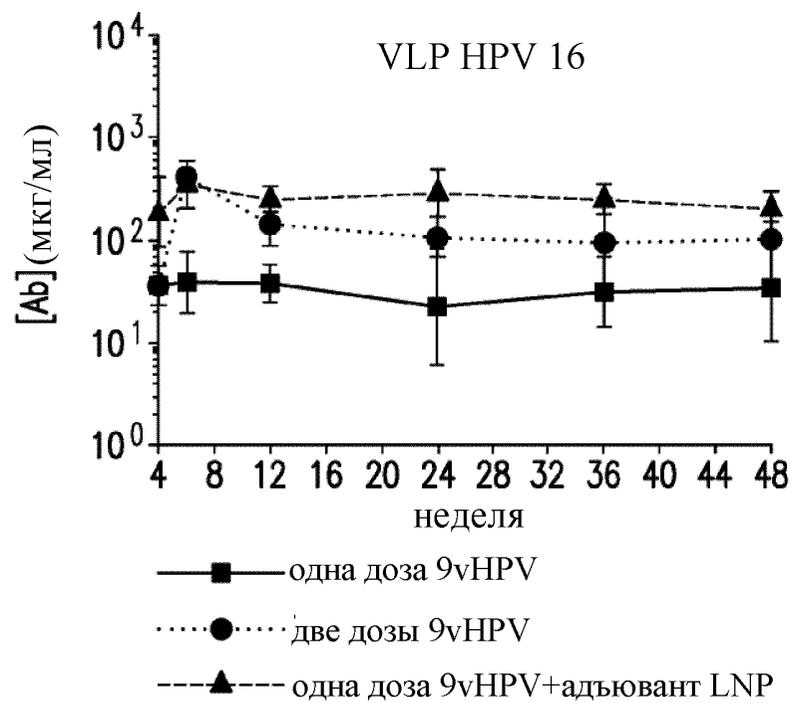
вирусоподобные частицы (VLP) по меньшей мере одного типа вируса папилломы человека (HPV), выбранного из группы, состоящей из типов HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73 и 82,

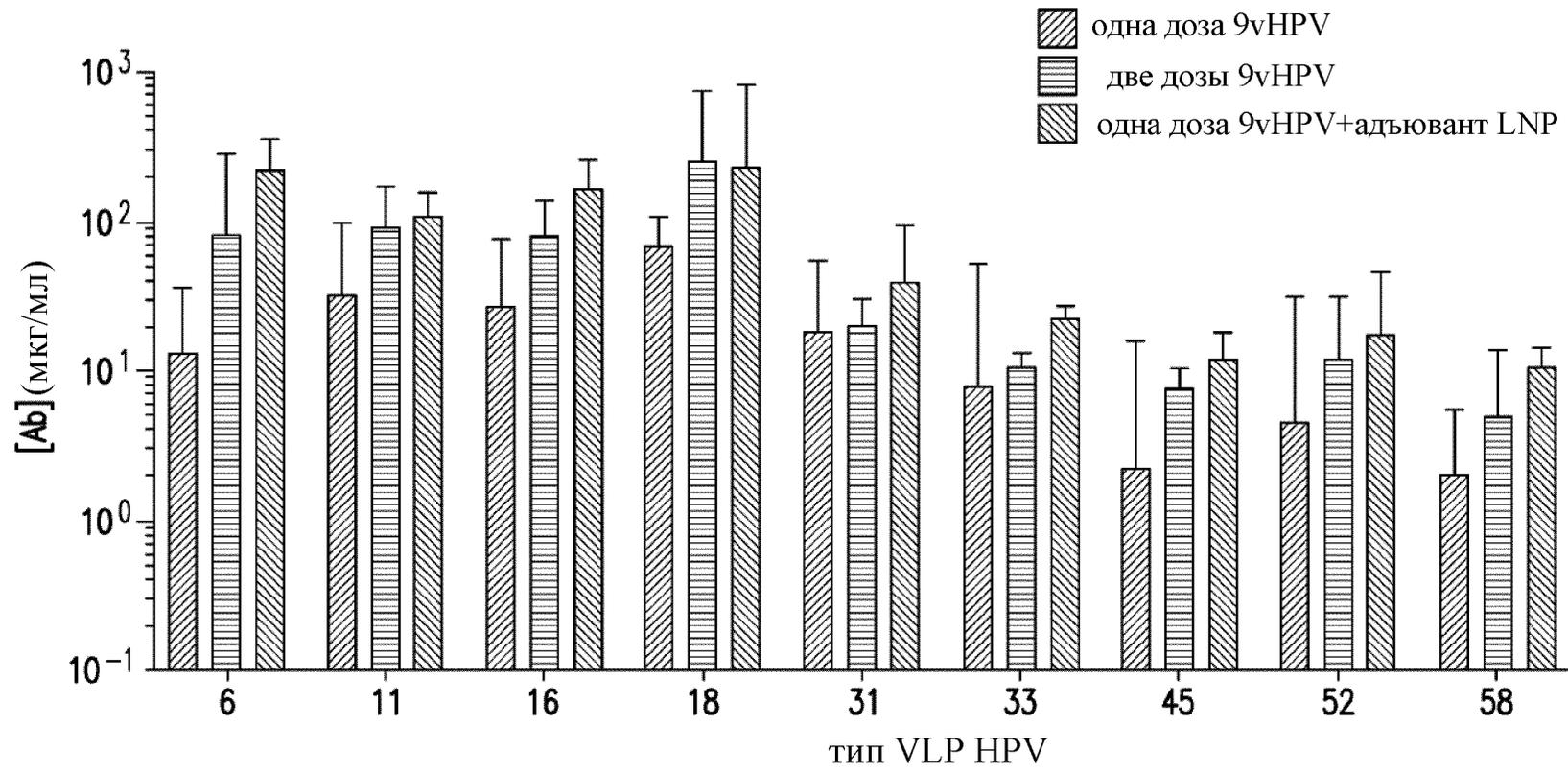
и

(b) индукцию нейтрализующего титра против антигена HPV у хозяина,

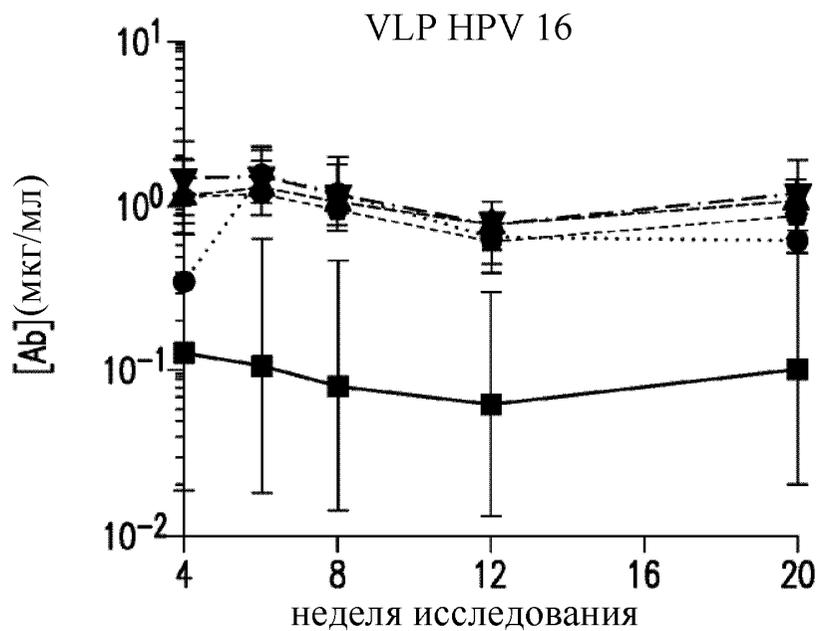
где одна доза фармацевтической композиции обеспечивает повышенный или сопоставимый нейтрализующий титр по сравнению с многократными дозами той же фармацевтической композиции, когда композиция против HPV составлена без адьюванта.

35. Способ по п. 34, дополнительно включающий алюминиевый адьювант.



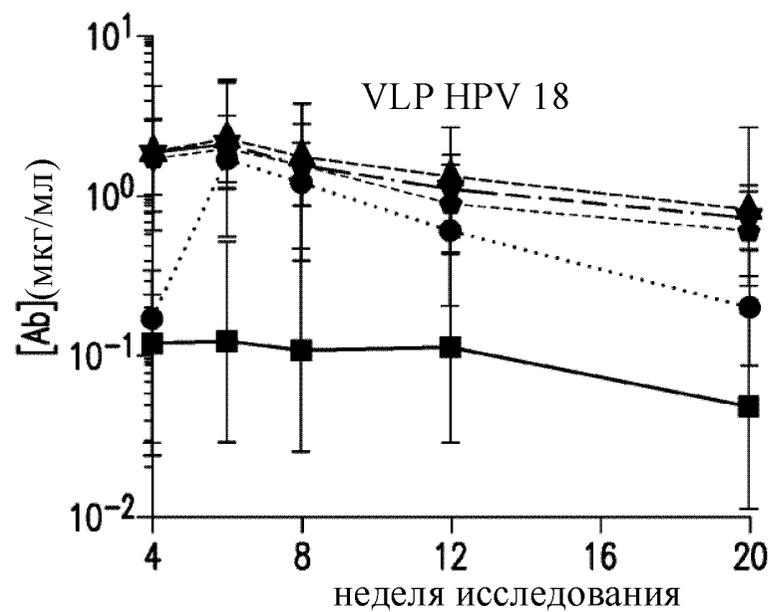


Фиг.2



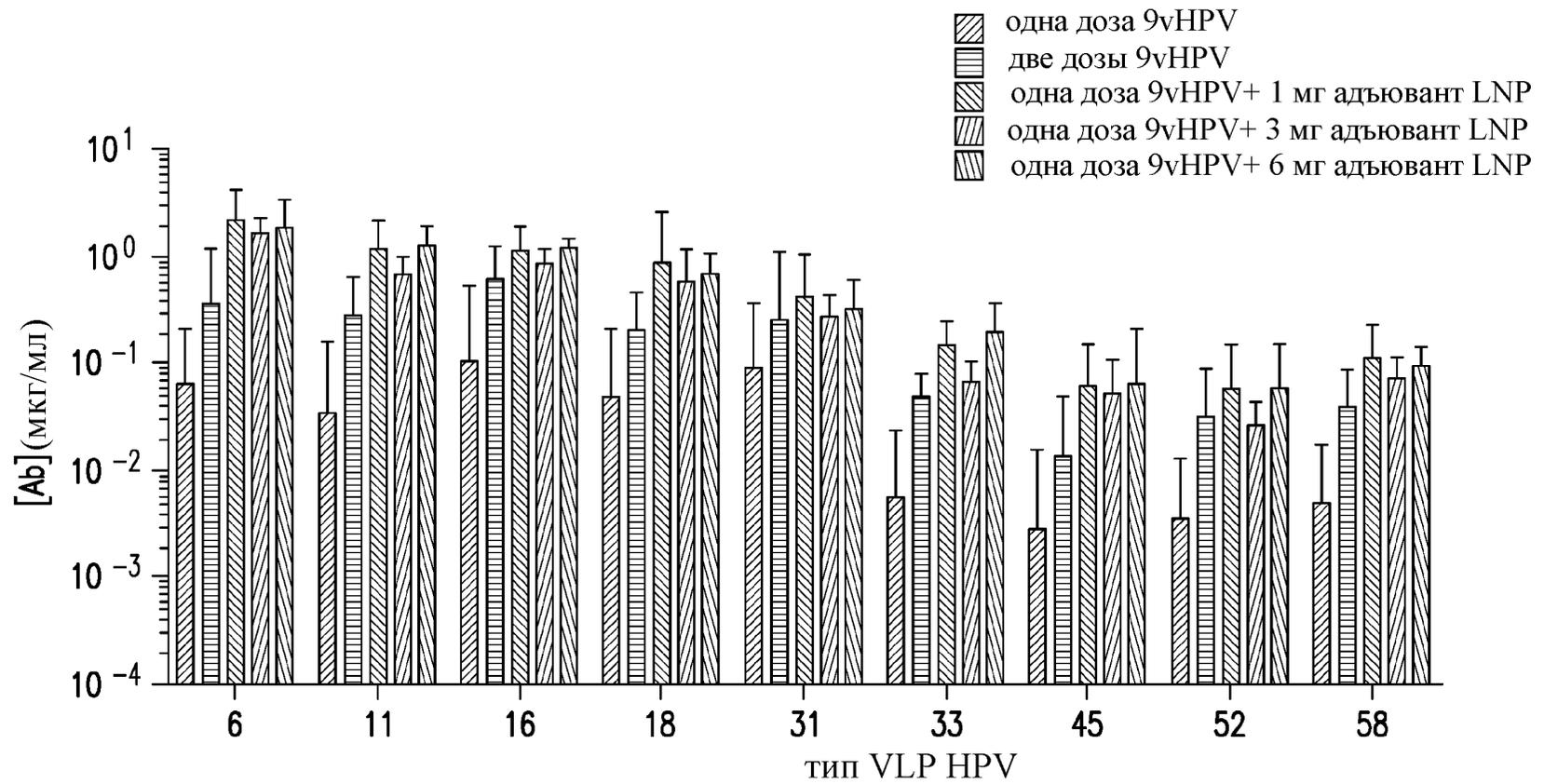
- одна доза 9vHPV
- .....●..... две дозы 9vHPV
- ▲----- одна доза 9vHPV+ 1 мг адьювант LNP
- .-.-.-◆-.-.-.- одна доза 9vHPV+ 3 мг адьювант LNP
- ▼----- одна доза 9vHPV+ 6 мг адьювант LNP

Фиг.3А

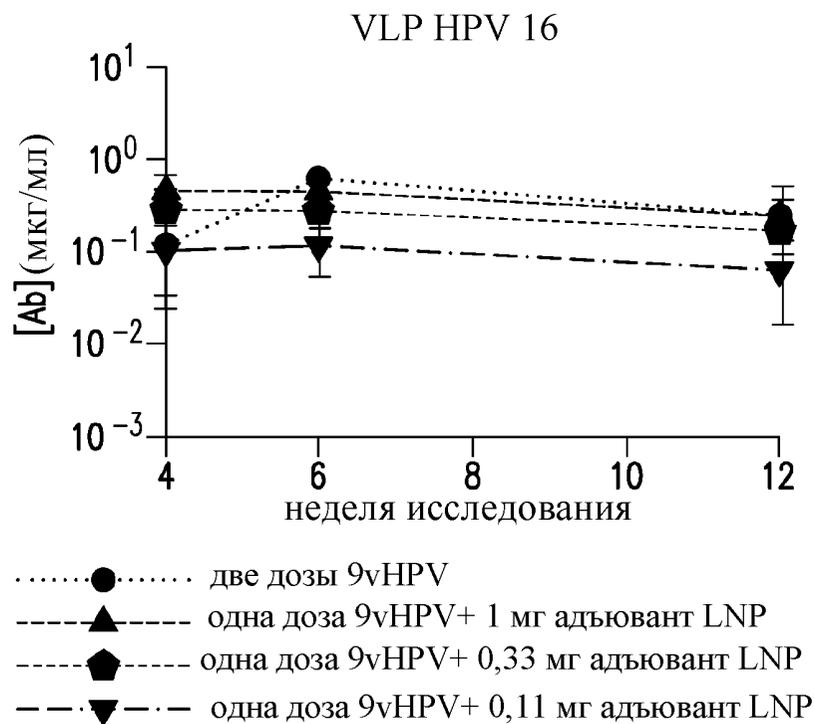


- одна доза 9vHPV
- .....●..... две дозы 9vHPV
- ▲----- одна доза 9vHPV+ 1 мг адьювант LNP
- .-.-.-◆-.-.-.- одна доза 9vHPV+ 3 мг адьювант LNP
- ▼----- одна доза 9vHPV+ 6 мг адьювант LNP

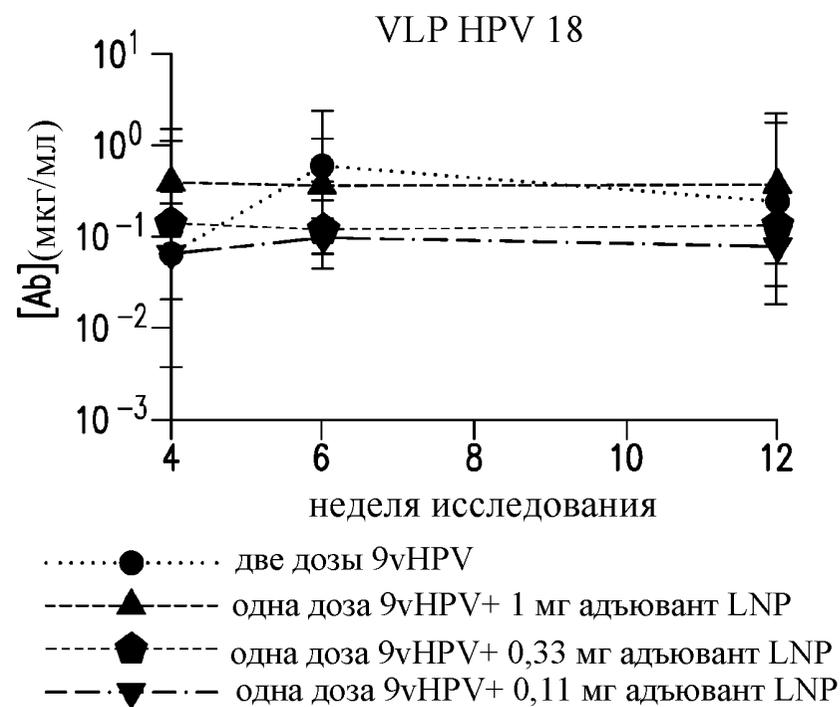
Фиг.3В



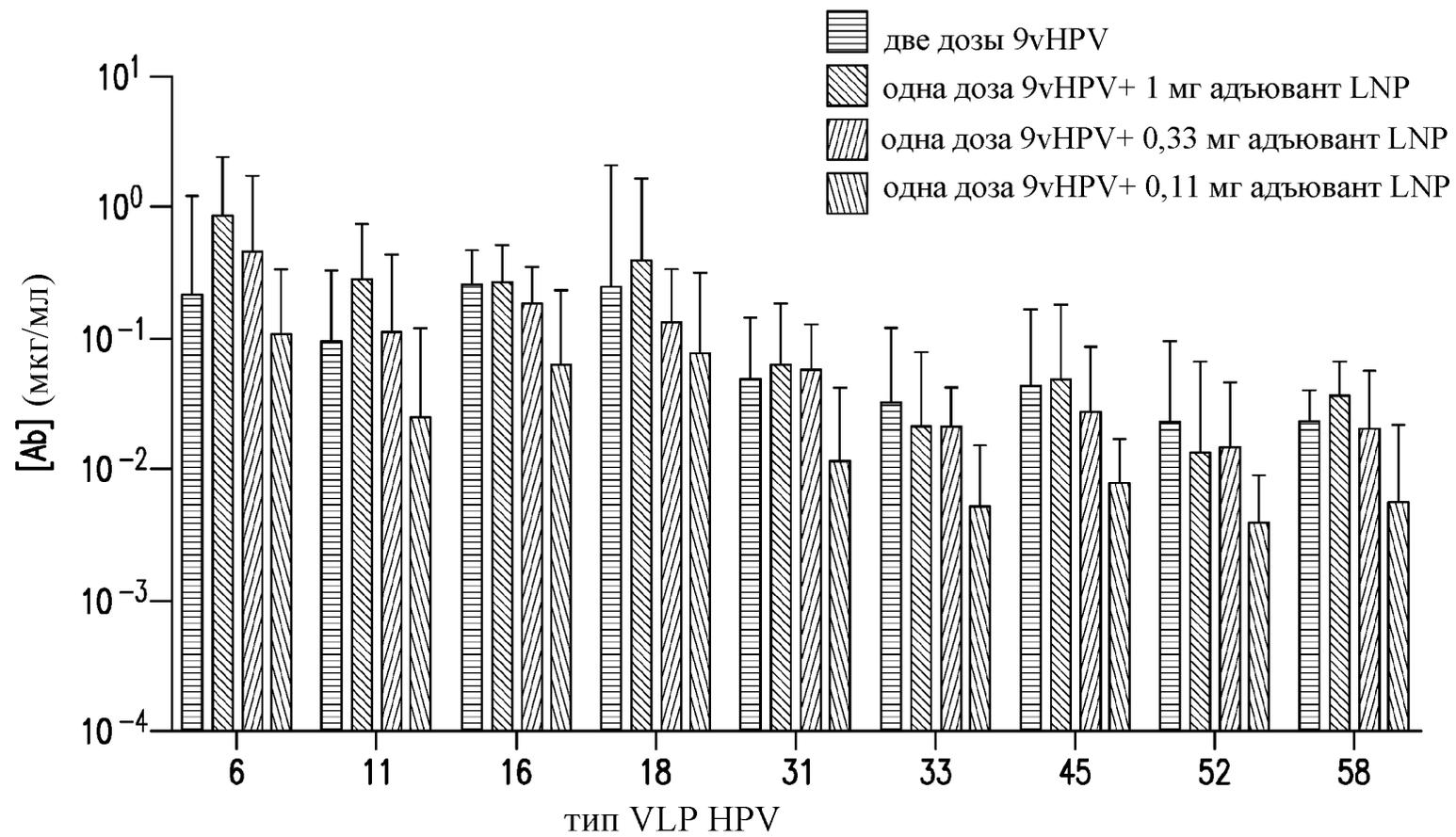
Фиг.4



Фиг.5А



Фиг.5В



Фиг.6