

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202490432** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.06.17

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

(22) Дата подачи заявки
2022.08.12

(54) **ЛИПОСОМЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ФОСФОРИЛИРОВАННЫЕ ТАУ-ПЕПТИДЫ, ДЛЯ ИНДУКЦИИ СТОЙКИХ ИММУННЫХ ОТВЕТОВ**

(31) 63/260,227; 63/263,541; 63/267,975

(72) Изобретатель:

(32) 2021.08.12; 2021.11.04; 2022.02.14

Пфайфер Андреа (CH), Мус Андреас (умер), Галперн Уэнди (US)

(33) US

(86) PCT/US2022/074902

(74) Представитель:

(87) WO 2023/019241 2023.02.16

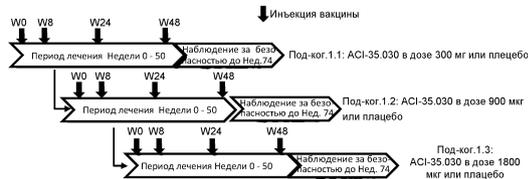
Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)

(88) 2023.03.23

(71) Заявитель:

ЯНССЕН ФАРМАСЬЮТИКЛЗ, ИНК. (US); АЦ ИММУНЕ СА (CH)

(57) Описаны способы индукции стойкого иммунного ответа против фосфорилированного Тау у человека. Указанные способы включают введение субъекту эффективного количества липосом, включающих агонист толл-подобного рецептора 4, хелперный Т-клеточный эпитоп, липидированный олигонуклеотид CpG и тау-фосфопептид, презентированный на поверхности липосомы, чтобы таким образом получить стойкий иммунный ответ.



202490432

A1

A1

202490432

ЛИПОСОМЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ФОСФОРИЛИРОВАННЫЕ ТАУ-ПЕПТИДЫ,
ДЛЯ ИНДУКЦИИ СТОЙКИХ ИММУННЫХ ОТВЕТОВ

5

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка является международной заявкой, претендующей на приоритет к каждой из предварительной заявки на патент США № 63/260.227, поданной 12 августа 2021 г., предварительной заявки на патент США № 63/263.541, поданной 4 ноября 2021 г., и заявки на патент США № 63/267.975, поданной 14 февраля 2022 г., раскрытие каждой из которых полностью включено в данный документ путем ссылки.

ССЫЛКА НА ЭЛЕКТРОННЫЙ СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ
[0002] Содержимое электронного списка последовательностей (SequenceListing_7WO1.xml; Размер: 42600 байтов; и дата создания: 8 июля 2022 г.) полностью включено в данный документ путем ссылки.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Настоящее изобретение относится к области медицины. Изобретение, в частности, относится к липосоме, содержащей фосфорилированный тау-пептид для индукции стойкого иммунного ответа (образования антител) против фосфорилированного тау-белка (фТау) у субъекта, нуждающегося в профилактике или лечении тауопатии, такой как болезнь Альцгеймера.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Болезнь Альцгеймера (AD) является прогрессирующей изнурительной нейродегенеративной болезнью, поражающей примерно 44 миллиона человек во всем мире (Alzheimers.net). Терапия AD, которая сейчас коммерциализирована, направлена на влияние на клинические симптомы, но не направлена на патогенные процессы, лежащие в основе заболевания (эффект модификации заболевания). К сожалению, текущие способы лечения только минимально эффективны, поэтому существует настоятельная потребность в разработке и испытании дополнительных профилактических и терапевтических мероприятий.

[0005] Характерными патологиями болезни Альцгеймера являются накопление внеклеточных бляшек, содержащих, в частности, агрегированный бета-амилоидный белок и внутриклеточные «клубки» или агрегации гиперфосфорилированного тау-белка. Молекулярные явления, приводящие к скоплению этих белков, плохо охарактеризованы. Для амилоида существует гипотеза, что аномальное расщепление белка-предшественника амилоида приводит к накоплению фрагмента, подверженного агрегации, содержащей аминокислоты 1 - 42. Для Тау существует гипотеза, что нарушение регуляции киназ, фосфатаз или обоих приводит к аномальному фосфорилированию Тау. Как только Тау становится гиперфосфорилированным, он теряет способность эффективно связывать и стабилизировать микротрубочки, а вместо этого скапливается в цитоплазме пораженного нейрона. Несвязанный и гиперфосфорилированный Тау, очевидно, образует сначала олигомеры, а затем агрегаты высшего порядка, присутствие которых, вероятно, негативно влияет на функцию нейрона, в котором они образуются, возможно, из-за прерывания нормального аксонального транспорта.

[0006] В развитых странах лица с диагнозом болезнь Альцгеймера или другие тауопатии, вызывающие деменцию, обычно лечатся ингибиторами холинэстеразы (например, Aricept®) или мемантином (например, Namenda™). Хотя эти препараты достаточно хорошо переносятся, они обладают очень умеренной эффективностью. Например, Aricept® задерживает ухудшение симптомов на 6 - 12 месяцев примерно у 50% лиц, получавших лечение. Остальное лечение немедикаментозно и сосредоточено на том, чтобы сделать пациентов более способными справляться с повседневными задачами, поскольку их когнитивные способности снижаются.

[0007] Результаты ADAMANT, 24-месячного двойного слепого, параллельного, рандомизированного многоцентрового плацебо-контролируемого исследования фазы 2 AADvac1 активной пептидной вакцины, предназначенной для нацеливания на патологический Тау при болезни Альцгеймера (EudraCT 2015-000630-30) были недавно опубликованы (Novak *et al.*, *Nature Aging* том 1: 521–534, 2021). AADvac1 содержит синтетический пептид, полученный из аминокислот 294–305 тау-последовательности, соединенный с гемоцианином лимфы улитки (KLH) через N-концевой цистеин. Одиннадцать доз AADvac1 было введено пациентам с легкой деменцией AD в дозе 40 мкг на дозу в течение

курса испытания. Несмотря на то, что вакцина вызывала высокие уровни антител IgG, не было обнаружено значимых эффектов в когнитивных и функциональных тестах на всей изучаемой выборке (*в том же источнике*).

[0008] Было показано, что ACI-35, вакцина с использованием синтетического пептида на основе человеческого ф-Тау396/404, улучшила двигательные способности и увеличила выживаемость мышей с мутацией P301L (Theunis *et al.*, *PLOS ONE*. 2013. 8(8): e72301). В исследовании фазы 1b ACI-35 хорошо переносилась и вызывала реакцию антител с ограниченной способностью к усилению.

[0009] Существует необходимость в безопасном и эффективном лечении нейронального дегенеративного заболевания, такого как болезнь Альцгеймера.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0010] Изобретение основано на результатах клинических исследований улучшенной липосомальной вакцины, содержащей фосфорилированный тау-пептид, присутствующий на поверхности липосомы. Вакцина вызывала мощный и стойкий (длительный) иммунный ответ, такой как длительные иммунные ответы против фТау, и эти иммунные ответы могли быть усилены с помощью ревакцинаций (введение бустерной вакцины).

[0011] Соответственно, в одном общем аспекте изобретение предлагает способ индукции реакции антитела против фосфорилированного тау-белка (фТау) у нуждающегося субъекта-человека, включающий введение субъекту эффективного количества липосомы, содержащего такие как:

(1) тау-фосфопептид, состоящий из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:27 - SEQ ID NO:29 и SEQ ID NO:31 - SEQ ID NO:38 в количестве 25-750 нмоль, например, от 300 мкг до 1800 мкг на дозу;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4, содержащий монофосфориллипид А;

(3) хелперный Т-клеточный эпитоп, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:13 - SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:23 - SEQ ID NO:26 и SEQ ID NO:39 - SEQ ID NO:44; и

(4) олигонуклеотид CpG, имеющий нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:18 - SEQ ID NO:22,

при этом:

Тау-фосфопептид презентирован на поверхности липосомы, и иммунный ответ длится по меньшей мере 6 недель, например, по меньшей мере 6, 7, 8, 9, 10 недель после первичного введения эффективного количества липосомы человеку.

5 **[0012]** В некоторых вариантах осуществления эффективное количество липосомы содержит:

(1) тау-фосфопептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28 в количестве от 300 мкг до 1800 мкг на дозу;

10 (2) агонист толл-подобного рецептора 4 в количестве от 100 мкг до 585 мкг на дозу;

(3) хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 75 мкг до 550 мкг на дозу; и

(4) олигонуклеотид CpG в количестве от 100 мкг до 1000 мкг на дозу.

15 **[0013]** В некотором варианте осуществления олигонуклеотид CpG имеет одну или несколько фосфоротиоатных межнуклеотидных связей, и олигонуклеотид CpG является ковалентно связанным по меньшей мере с одной липофильной группой, необязательно через ПЭГ-линкер.

20 **[0014]** В некоторых вариантах осуществления тау-фосфопептид вводят в количестве от приблизительно 25 нмоль до приблизительно 750 нмоль на дозу, например, от приблизительно 29,7 нмоль до приблизительно 742,5 нмоль на дозу, предпочтительно от приблизительно 90 нмоль до приблизительно 715 нмоль, например, от приблизительно 89,1 нмоль до приблизительно 712,8 нмоль на дозу или от приблизительно 90 нмоль до приблизительно 535 нмоль на дозу, например, от приблизительно 89,1 нмоль до приблизительно 534,6 нмоль на дозу

25 или от приблизительно 90 нмоль до приблизительно 275 нмоль на дозу, например, от приблизительно 89,1 нмоль до приблизительно 267,3 нмоль на дозу.

В определенных вариантах осуществления тау-фосфопептид состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:27 - SEQ ID NO:29 и SEQ ID NO:31 - SEQ ID NO:38, предпочтительно

30 состоящей из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28. В одном варианте осуществления тетрапальмитоилированный тау-фосфопептид вводят в количестве от 100 мкг до 2500 мкг на дозу, что отвечает от 29,7 нмоль до 742,5 нмоль на дозу, предпочтительно от 300 мкг до 2400 мкг на дозу, что отвечает от 89,1 нмоль до 712,8 нмоль на дозу, например, 300 мкг, 900 мкг, 1800 мкг или

2400 мкг на дозу, что отвечает 89,1 нмоль, 267,3 нмоль, 534,6 нмоль или 712,8 нмоль на дозу.

[0015] В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом содержит агонист толл-подобного рецептора 4 в количестве от 30 мкг до 900 мкг, предпочтительно от 100 мкг до 585 мкг, на дозу. В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом содержит агонист толл-подобных рецепторов монофосфорил гекса-ацил Липид А, 3-деацил в количестве от 30 мкг до 900 мкг, предпочтительно от 100 мкг до 585 мкг, на дозу.

[0016] В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом содержит хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 25 мкг до 625 мкг, предпочтительно от 75 мкг до 550 мкг, например, от 75 мкг до 450 мкг, на дозу. В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом содержит Т50 хелперный Т-клеточный эпитоп, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, в количестве от 25 мкг до 625 мкг, предпочтительно от 75 мкг до 450 мкг, на дозу. В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом содержит хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от приблизительно 2 нмоль до приблизительно 110 нмоль на дозу, например, от приблизительно 4,02 нмоль до приблизительно 100,44 нмоль на дозу, или от приблизительно 4 нмоль до приблизительно 75 нмоль на дозу, например, от приблизительно 4,02 нмоль до приблизительно 72,32 нмоль на дозу, или от приблизительно 10 нмоль до приблизительно 105 нмоль на дозу, например, от приблизительно 12,06 нмоль до приблизительно 100,44 нмоль на дозу, или от приблизительно 70 до приблизительно 105 нмоль на дозу, например, от приблизительно 72,32 нмоль до приблизительно 100,44 нмоль на дозу. В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом содержит Т50 хелперный Т-клеточный эпитоп, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, в количестве от приблизительно 3 нмоль до приблизительно 105 нмоль на дозу, предпочтительно от приблизительно 10 нмоль до приблизительно 105 нмоль на дозу, например, от приблизительно 12,06 нмоль до приблизительно 100,44 нмоль на дозу. В одном варианте осуществления эффективное количество липосом содержит хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 2 до 5 нмоль на дозу, например, 2, 3, 4 или 5 нмоль на дозу или любое количество между ними, например, приблизительно 3,82, 3,92, 4,02 или 4,12 нмоль на дозу.

В другом варианте осуществления эффективное количество липосом содержит хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 10 до 15 нмоль на дозу, например, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нмоль на дозу, или любое количество между ними, например, 11,86, 11,96, 12,06, 12,16 нмоль на дозу. В другом варианте осуществления эффективное количество липосом содержит хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 70 до 75 нмоль на дозу, например, 70, 71, 72, 73, 74 или 75 нмоль на дозу, или любое количество между ними, например, 72,02, 72,12, 72,22, 72,32, 72,42 нмоль на дозу. В ещё одном другом варианте осуществления эффективное количество липосом содержит хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 98 до 103 нмоль на дозу, например, 98, 99, 100, 101, 102 или 103 нмоль на дозу, или любое количество между ними, например, 100,24, 100,34, 100,44, 100,54 или 100,64 нмоль на дозу.

[0017] В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом содержит липидированный олигонуклеотид CpG в количестве от 50 мкг до 1250 мкг, предпочтительно от 100 мкг до 1000 мкг, например, от 150 мкг до 800 мкг, на дозу. В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом содержит олигонуклеотид CpG, состоящий из нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 18, в количестве от 50 мкг до 1250 мкг, предпочтительно от 150 мкг до 800 мкг, на дозу.

[0018] В определенных вариантах осуществления липосомы вводят подкожно.

[0019] В определенных вариантах осуществления липосомы вводят внутримышечно.

[0020] В определенных вариантах осуществления липосома дополнительно содержит один или больше липидов, выбранных из группы, состоящей из 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DMPC), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфорил-3'-рац-глицерина (DMPG) и холестерина.

[0021] В определенных вариантах осуществления липосома содержит:

(1) тау-фосфопептид, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4, содержащий монофосфорил гекса-ацил Липид А, 3-деацил;

(3) хелперный Т-клеточный эпитоп, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39;

(4) липидированный олигонуклеотид CpG, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:18; и

(5) по меньшей мере один липид, выбранный из группы, состоящей из 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DMPC), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфорил-3'-рац-глицерина (DMPG) и холестерина.

[0022] В соответствии с вариантом осуществления заявки иммунный ответ включает образование специфических антител IgG, направленных против фТау. Важно, что образование специфических антител IgG имеет титр анти-фТау IgG по меньшей мере в 50, 60, 70, 80, 90, 100 или больше раз более высокий, чем после введения контрольного плацебо.

[0023] В другом варианте осуществления данной заявки иммунный ответ включает образование специфических антител IgM, направленных против фТау, и переключение класса с образования специфического антитела IgM на образование специфического антитела IgG, направленного против фТау.

[0024] В ещё одном другом варианте осуществления данной заявки иммунный ответ включает образование антител IgG, которые предпочтительно распознают фТау, чем нефосфорилированный белок Тау. Предпочтительно, соотношение титра анти-фТау IgG к титру анти-Тау IgG составляет по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или 70 или больше.

[0025] В другом варианте осуществления данной заявки иммунный ответ включает образование антител IgG против обогащенной парной спиральной филаменты (ePHF). Предпочтительно, образование антител IgG имеет титр IgG против ePHF по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше раз выше, чем после введения контрольного плацебо. Более предпочтительно, IgG против ePHF имеет повышенную avidность связывания с патологичным ePHF тау в течение по меньшей мере 6 недель после первичного введения эффективного количества липосомы или после бустерного введения (ревакцинации), как измерено по меньшей мере через 2 недели после ревакцинации, предпочтительно IgG против ePHF имеет индекс avidности по меньшей мере 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 или 0,7.

[0026] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки иммунный ответ (образование антител) можно усилить с помощью бустерного введения вакцины (ревакцинации).

[0027] В одном варианте осуществления способ данной заявки дополнительно включает введение субъекту второй дозы эффективного количества липосомы через 4 - 12 недель, например, через 8 недель, после первичного введения эффективного количества липосомы. Иммуный ответ повышается, как измерено, по меньшей мере через 2 недели после введения второй дозы эффективного количества липосом. Предпочтительно, иммуный ответ повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше, как измерено по меньшей мере через 2 недели после введения второй дозы эффективного количества липосомы.

[0028] В другом варианте осуществления способ данной заявки дополнительно включает введение субъекту третьей дозы эффективного количества липосом через 20 - 28 недель, например, через 24 недели, после первичного введения эффективного количества липосом. Иммуный ответ повышается, как измерено, по меньшей мере через 2 недели после введения третьей дозы эффективного количества липосом, предпочтительно иммуный ответ повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше, измеряемый по меньшей мере через 2 недели после введения третьей дозы эффективного количества липосом.

[0029] В ещё одном другом варианте осуществления способ данной заявки дополнительно включает введение субъекту четвертой дозы эффективного количества липосом через 44 - 52 недель, например, через 48 недель, после первичного введения эффективного количества липосом. Иммуный ответ повышается по меньшей мере через 2 недели после введения четвертой дозы эффективного количества липосом, предпочтительно иммуный ответ повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше с помощью введения четвертой дозы эффективного количества липосом.

[0030] В определенных вариантах осуществления человеку необходимо очищение от агрегатов Тау. В определенных вариантах осуществления субъекту необходима профилактика или лечение болезни Альцгеймера, такой как доклиническая болезнь Альцгеймера, ранняя болезнь Альцгеймера, легкое когнитивное нарушение (МСИ) из-за болезни Альцгеймера, болезнь Альцгеймера легкой степени или болезнь Альцгеймера от легкой до умеренной степени. В

других вариантах субъект является позитивным на амилоид в мозге, но еще не показывает значительных когнитивных нарушений.

[0031] Изобретение также относится к комбинации вакцины для применения для индукции иммунного ответа, такого как образование антител против фосфо-тау белка (фТау), у субъекта-человека, который в этом нуждается, где комбинация вакцины содержит праймер-вакцину и бустерную вакцину в соответствии с вариантами осуществления изобретения и иммунный ответ длится по меньшей мере 10 недель, например, по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 недель или более после введения человеку первичной вакцины.

[0032] Дальнейшие аспекты, особенности и преимущества настоящего изобретения будут лучше ясны после прочтения следующего подробного описания изобретения и Формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ

[0033] Предварительное краткое описание, а также последующее подробное описание настоящего изобретения будут лучше понятны, если их читать вместе с добавленными рисунками. Следует понимать, что изобретение не ограничивается точными вариантами осуществления, показанными на рисунках.

[0034] На ФИГ. 1 представлен обзор плана исследования для когорты 1 (АСИ-35.030 или плацебо) в исследовании фазы 1b/2a (NCT04445831).

[0035] На ФИГ. 2 показано среднее геометрическое значение титров IgG против фТау у пациентов с ранней стадией болезни Альцгеймера, которые получали плацебо или АСИ-35.030 в дозах 300 мкг или 900 мкг на неделях 0, 8 и 24.

[0036] На ФИГ. 3 показано среднее геометрическое значение титров (нефосфорилированного) IgG против фТау у пациентов с ранней стадией болезни Альцгеймера, которые получали плацебо или АСИ-35.030 в дозах 300 мкг или 900 мкг на неделях 0, 8 и 24.

[0037] На ФИГ. 4 показано среднее геометрическое значение титров IgG против еРНФ у пациентов с ранней стадией болезни Альцгеймера, которые получали плацебо или АСИ-35.030 в дозах 300 мкг или 900 мкг на неделях 0, 8 и 24.

[0038] На ФИГ. 5 показано среднее геометрическое значение титров (нефосфорилированного) IgG против Тау у пациентов с ранней стадией болезни

Альцгеймера, которые получали плацебо или АСИ-35.030 в дозах 300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг.

5 [0039] На ФИГ. 6 показано среднее геометрическое значение титров IgG против фТау у пациентов с ранней стадией болезни Альцгеймера, которые получали плацебо или АСИ-35.030 в дозах 300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг.

[0040] На ФИГ. 7 показано среднее геометрическое значение титров IgG против ePHF у пациентов с ранней стадией болезни Альцгеймера, которые получали плацебо или АСИ-35.030 в дозах 300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг.

10 [0041] На ФИГ. 8А и 8В показаны профили распознавания эпитопов антител, индуцированных у пациентов с ранней стадией болезни Альцгеймера, которые получали плацебо или АСИ-35.030 в дозе 900 мкг на неделях 0, 8 и 24.

ДЕТАЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

15 [0042] Различные публикации, статьи и патенты цитируются или описываются в Уровне техники и в описании; каждая из этих ссылок полностью включена в данный документ путем ссылки. Обсуждение документов, актов, материалов, устройств, статей или подобного, которое включено в настоящее описание, имеет целью предоставление контекста для изобретения. Такое обсуждение не является признанием того, что любые или все эти вопросы являются частью уровня техники в отношении каких-либо раскрытых или

20 заявленных изобретений.

[0043] Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Во втором случае определенные термины, используемые в

25 настоящем документе, принимают значения, изложенные в описании.

[0044] Следует отметить, что, как используется в настоящем описании и в приложенной Формуле изобретения, формы единственного числа включают ссылку на множественное число, если контекст четко не указывает на другое.

30 [0045] Если не указано иное, какие-либо числовые значения, такие как концентрация или диапазон концентраций, описанные в настоящем документе, следует понимать как модифицированные во всех случаях термином «приблизительно». Таким образом, числовое значение обычно включает $\pm 10\%$ от указанного значения. Например, концентрация 1 мг/мл включает от 0,9 до 1,1 мг/мл. Подобным образом, диапазон концентрации от 1% до 10% (масс./об.)

включает от 0,9% (масс./об.) до 11% (масс./об.). Как используется в настоящем документе, использование числового диапазона явно включает все возможные поддиапазоны, все отдельные числовые значения в пределах этого диапазона, включая целые числа в пределах таких диапазонов и части значений, если контекст четко не указывает на другое.

[0046] Если не указано иное, термин "по меньшей мере" перед серией элементов следует понимать как обозначение каждого элемента серии. Специалисты в этой области распознают или смогут убедиться, используя не более чем обычные эксперименты, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе. Такие эквиваленты должны быть охвачены изобретением.

[0047] Термины «состоит из», «состоящий из», «включает», «включающий», «имеет», «имеющий», «содержит» или «содержащий» или любые другие их варианты будут пониматься в этом документе как означающие включение определенного целого числа или группы целых чисел, но не исключение какого-либо другого целого числа или группы целых чисел, и имеющие целью быть неисключительными или открытыми. Например, композиция, смесь, процесс, способ, изделие или устройство, содержащие перечень элементов, не обязательно ограничиваются только этими элементами, но могут включать другие элементы, прямо не перечисленные или не свойственные такой композиции, смеси, процессу, способу, изделию или устройству. Кроме того, если прямо не указано противоположное, союз «или» относится к «или» включительно и к «или» не включительно. Например, условие А или В удовлетворяется любым из следующих условий: А является истинным (или имеющимся), а В является ошибочным (или отсутствует), А является ошибочным (или отсутствует), а В является истинным (или имеющимся), и как А, так и В являются истинными (или имеющимися).

[0048] Следует также понимать, что термины «приблизительно», «около», «в общем», «по существу» и подобные термины, используемые в настоящем описании при ссылке на размер или характеристику компонента предпочтительного изобретения, указывают на то, что описанный размер/характеристика не является строгим ограничением или параметром и не исключает незначительных вариаций, функционально одинаковых или подобных, как это поймет специалист в этой области техники. Как минимум такие ссылки,

содержащие числовой параметр, будут включать вариации, которые, используя математические и промышленные принципы, принятые в данной области техники (например, округление, измерение или другие систематические погрешности, производственные допуски и т.п.), не изменят наименее значимую цифру.

[0049] Изобретение предлагает способ индукции антител против фосфорилированного тау-белка без индукции серьезного неблагоприятного события, которое считается возможным или вероятно связано с исследуемой вакциной, такой как энцефалит, у человека, нуждающегося в этом. В конкретных вариантах осуществления способ включает введение субъекту эффективного количества липосом, содержащих тау-фосфопептид, присутствующий на поверхности липосомы, и агонист толл-подобного рецептора 4.

[0050] Используемый в настоящем документе термин «антитело против фосфорилированного тау-белка» относится к антителу, которое связывается с тау-белком, который фосфорилируется на аминокислотном остатке на одном или нескольких сайтах аминокислотной последовательности тау-белка.

Фосфорилированные аминокислотные остатки могут быть, например, серином (Ser), треонином (Thr) или тирозином (Tyr). Сайт на фосфорилированном тау-белке, с которым связывается антитело против фосфорилированного тау, предпочтительно является сайтом, специально фосфорилируемым при нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера. Примеры сайтов фосфорилированного Тау, с которыми связывается антитело против фосфорилированного Тау, включают, например, Tyr18, Ser199, Ser202, Thr205, Thr212, Ser214, Ser396, Ser404, Ser409, Ser422, Thr427. Как используется в настоящей заявке, положение аминокислот приведено со ссылкой на последовательность белка тау-изоформы 2, ассоциированной с микротрубочками человека, имеющего последовательность аминокислот, представленную в GenBank Accession No. NP_005901.2.

[0051] Способность индуцировать антитела против фосфорилированного тау-белка после введения можно определить путем тестирования биологического образца (например, крови, плазмы, сыворотки, мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), мочи, слюны, фекалий, спинномозговой жидкости (CSF) или лимфатической жидкости) от субъекта на наличие антител, например, антител IgG или IgM, направленных на иммуногенный(ые)

таупептид(ы), вводимый(ые) в фармацевтической композиции (див., например, Harlow, 1989, Antibodies, Cold Spring Harbor Press). Например, титры антител, образующиеся в ответ на введение композиции, обеспечивающей иммуноген, можно измерить с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), других анализов на основе ELISA (например, MSD-Meso Scale Discovery), дот-блот анализов, SDS-PAGE гелей, ELISPOT или анализа на антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP).

[0052] Используемый в настоящем документе термин «нежелательное явление» (НЯ) относится к любому нежелательному медицинскому явлению у пациента, которому вводят фармацевтический продукт и не обязательно имеет причинно-следственную связь с лечением. В соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения НЯ оценивают по 3-балльной шкале степени тяжести с использованием следующих определений: легкое (степень 1), относящееся к НЯ, легко переносимому субъектом, вызывающее минимальный дискомфорт и не мешающее повседневной деятельности; умеренное (степень 2), относящееся к НЯ, вызывающему достаточный дискомфорт, чтобы мешать обычной повседневной деятельности, и может потребоваться вмешательство; тяжелое (степень 3), относящееся к НЯ, препятствующему нормальной повседневной деятельности, и обычно требуется лечение или другое вмешательство. Серьезным НЯ (СНЯ) может быть любое НЯ, возникающее при любой дозе, приводящей к любому из следующих последствий: смерть, где смерть является следствием, а не событием; угроза жизни, относящаяся к происшествию, в ходе которого пациент находится под угрозой смерти; оно не относится к событию, которое гипотетически могло бы повлечь смерть, если бы оно было более серьезным; госпитализация пациента, то есть незапланированная госпитализация с оставлением на ночь или продолжение существующей госпитализации; стойкая или значительная недееспособность или значительное нарушение способности выполнять нормальные жизненные функции; врожденная аномалия/врожденный дефект; важное медицинское явление (по мнению исследователя), которое может поставить под угрозу пациентов или может потребовать медицинского или хирургического вмешательства для предотвращения одного из других последствий, перечисленных выше (например, интенсивное лечение в отделении неотложной помощи или дома по поводу аллергического бронхоспазма или дискразии крови или судорог, не приводящих

к госпитализации). Госпитализация – официальное поступление в больницу. Госпитализация или продление срока госпитализации является критерием серьезности НЯ; однако сам по себе он не считается СНЯ. При отсутствии НЯ участвующий исследователь не должен сообщать о госпитализации или
5 продолжении госпитализации как СНЯ. Это может иметь место в следующих ситуациях: госпитализация или продление госпитализации необходимо для проведения процедуры, требующейся протоколом; или госпитализация или продление госпитализации является частью обычной процедуры, выполняемой центром (например, удаление стента после операции). Это должно быть
10 записано в исследовательском файле. Госпитализация для планового лечения предыдущего состояния, которое не ухудшилось во время исследования, не считается НЯ.

[0053] Осложнения, возникающие при госпитализации, являются нежелательными явлениями (НЯ). Если осложнение продлевает госпитализацию
15 или соответствует любому из других критериев СНЯ, тогда явление представляет собой СНЯ.

[0054] Используемый в настоящем документе термин «энцефалит» относится к воспалению головного мозга, которое может являться следствием инфекционных и неинфекционных причин. Используемый в настоящем
20 документе термин «менингоэнцефалит» относится к состоянию, характеризующемуся инфекцией или воспалением мозговых оболочек и головного мозга. Диагноз энцефалита или менингоэнцефалита можно определить с помощью методов, известных специалистам в данной области техники с учетом настоящего изобретения, например, путем клинического,
25 неврологического и психиатрического обследования, взятия биологических образцов, включая образцы крови и спинномозговой жидкости, сканирования МРТ и электроэнцефалографии (ЭЭГ).

[0055] Используемый в настоящем документе термин «липосома» в целом относится к липидной везикуле, состоящей из материалов с высоким
30 содержанием липидов, например, фосфолипидов, холестерина. Липиды этих везикул обычно организованы в форме липидных двойных слоев. Липидные двойные слои обычно инкапсулируют объем, который либо вкраплен между несколькими луковичеобразными оболочками липидных двойных слоев, образуя многослойные липидные везикулы (MLV), либо содержится в аморфной

центральной полости. Липидные везикулы, имеющие аморфную центральную полость, являются однослойными липидными везикулами, то есть с одним периферическим двойным слоем, окружающим полость. Большие однослойные везикулы (LUV) обычно имеют диаметр от 100 нм до нескольких микрометров, например, 100-200 нм или более, тогда как небольшие однослойные липидные везикулы (SUV) обычно имеют диаметр менее 100 нм, например, 20-100 нм, обычно 15-30 нм.

[0056] Используемый в настоящем документе термин "тау" или "тау-белок", также известный как ассоциированный с микротрубочками белок Тау, МАРТ, белок нейрофибрилярного клубка, парная спиральная филамента-тау, РНФ-Тау, МАРТЛ, МТВТ1, относится к большому количеству белка центральной и периферической нервной системы, имеющей несколько изоформ. В центральной нервной системе (ЦНС) человека существует шесть основных изоформ тау размером от 352 до 441 аминокислоты в длину вследствие альтернативного сплайсинга (Hanger et al., *Trends Mol Med.* 15:112-9, 2009). Примеры тау включают, но не ограничиваются ими, изоформы тау в ЦНС, такие как самая длинная изоформа тау из 441 аминокислоты (4R2N), которая также называется тау-изоформой 2 ассоциированного с микротрубочками белка, которая имеет четыре повтора и две вставки, например, как тау-изоформа 2 человека, имеющая аминокислотную последовательность, представленную в GenBank под номером доступа NP_005901.2. Другие примеры тау включают кратчайшую (фетальную) изоформу длиной 352 аминокислот (3R0N), которую также называют тау-изоформой 4 ассоциированного с микротрубочками белка, которая имеет три повтора и не имеет вставок, например, изоформа 4 тау-белка человека с аминокислотной последовательностью, представленной в GenBank Accession No. NP_058525.1. Примеры тау-белка также включают изоформу «большого тау-белка», экспрессируемую в периферических нервах и содержащую 300 дополнительных остатков (экзон 4a). Friedhoff et al., *Biochimica et Biophysica Acta* 1502 (2000) 122-132. Примеры Тау включают большой Тау человека, который является белком длиной 758 аминокислот, кодируемым транскриптом мРНК длиной 6762 нуклеотида (NM_016835.4), или его изоформами. Аминокислотная последовательность примера большого тау-белка человека представлена у GenBank под номером доступа NP_058519.3. Используемый в этом документе термин «тау» включает гомологи тау от видов, отличных от

человека, таких как *Macaca Fascicularis* (циномолгус), макаки-резус или *Pan troglodytes* (шимпанзе). Используемый в настоящем описании термин «тау» включает белки, содержащие мутации, например, точечные мутации, фрагменты, вставки, делеции и сплайс-варианты полноразмерного и дикого типа. Термин «тау» также включает посттрансляционные модификации аминокислотной последовательности тау. Посттрансляционные модификации включают в себя, но не ограничиваются этим, фосфорилирование.

[0057] Используемый в настоящем описании термин «пептид» или «полипептид» относится к полимеру, состоящему из аминокислотных остатков, родственных природным структурным вариантам, и их синтетических неприродных аналогов, связанных пептидными связями. Термин относится к пептиду любого размера, структуры или функции. Как правило, пептид состоит по меньшей мере из трех аминокислот. Пептид может быть природным, рекомбинантным, синтетическим или любой их комбинацией. Синтетические пептиды можно синтезировать, например, с помощью автоматизированного синтезатора полипептидов. Примеры тау-пептидов включают в себя любой пептид тау-белка длиной приблизительно от 5 до приблизительно 30 аминокислот, предпочтительно приблизительно от 10 до приблизительно 25 аминокислот, более предпочтительно приблизительно от 16 до приблизительно 21 аминокислоты. В настоящем описании пептиды перечислены от N до C конца с использованием стандартной аббревиатуры аминокислот из трех или одной буквы, где фосфорные остатки обозначаются буквой "p". Примеры тау-пептидов, полезных в изобретении, включают, но не ограничиваются этим, тау-пептиды, содержащие аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-12, или тау-пептиды, имеющие аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентична аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-12.

[0058] Используемый в настоящем описании термин "фосфопептид" или "фосфоэпитоп" относится к пептиду, который фосфорилирован в одном или нескольких аминокислотных остатках. Примеры тау-фосфопептидов включают в себя любой тау-пептид, содержащий один или более фосфорилированных аминокислотных остатков.

[0059] Тау-пептиды настоящего изобретения могут быть синтезированы с помощью твердофазного пептидного синтеза или с помощью рекомбинантных

систем экспрессии. Автоматические синтезаторы пептидов коммерчески доступны от многих поставщиков, таких как Applied Biosystems (Foster City, Calif.). Рекомбинантные системы экспрессии могут включать бактерии, такие как *E. coli*, дрожжи, клетки насекомых или клетки млекопитающих. Процедуры рекомбинантной экспрессии описаны Sambrook *и соавт.* в *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (C.S.H.P. Press, NY 2d ed., 1989).

[0060] Согласно конкретным вариантам осуществления липосома содержит один или более тау-пептидов. В соответствии с конкретными вариантами осуществления тау-пептиды в липосоме могут быть одинаковыми или разными. Любой подходящий тау-пептид, известный специалистам в данной области техники, может быть использован в изобретении с учетом этого раскрытия. В соответствии с конкретными вариантами осуществления один или более тау-пептидов содержат аминокислотную последовательность одной из SEQ ID NO: 1-12. В других вариантах осуществления один или более тау-пептидов содержат аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентична аминокислотной последовательности одной из SEQ ID NO: 1-12, где ни один из аминокислотных остатков не является фосфорилированным, или один или несколько аминокислотных остатков являются фосфорилированными.

[0061] Согласно конкретным вариантам осуществления один или более тау-пептидов являются тау-фосфопептидами. В соответствии с конкретными вариантами осуществления один или более тау-фосфопептидов содержат аминокислотную последовательность одной из SEQ ID NO: 1-3 или 5-12 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентична аминокислотной последовательности одной из SEQ ID NO: 1-3 или 5-12, где один или более из указанных аминокислотных остатков являются фосфорилированными. Предпочтительно тау-фосфопептид содержит аминокислотную последовательность одной из SEQ ID NO: 1-3. Таупептид может иметь амидированный С-конец.

[0062] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки на поверхности липосомы присутствует тау-пептид. Тау-пептид, предпочтительно тау-фосфопептид, может быть презентован на поверхности липосомы с помощью методов, известных в данной области техники с учетом этого раскрытия. См., например, соответствующее раскрытие в патентах США № 8,647,631 и 9,687,447,

а также в международной заявке на патент PCT/US18/57286, содержание которой включено в данный документ путем ссылки. В соответствии с конкретными вариантами осуществления один или более тау-пептидов, включая фосфопептиды, дополнительно содержат одну или более модификаций, таких как пальмитоилирование или модификация додецила, чтобы позволить таупептидам быть презентрованными на поверхности липосомы. Согласно конкретным вариантам осуществления один или более тау-пептидов, включая фосфопептиды, дополнительно содержат одну или более модификаций, таких как пальмитоилирование или модификация додецила, чтобы позволить тау-пептидам быть презентированными на поверхности липосомы. Для облегчения модификации тау-пептида можно добавить дополнительные аминокислотные остатки, такие как Lys, Cys или иногда Ser или Thr. Сообщалось, что положение липидных якорей индуцирует различные конформации пептидной последовательности (Hickman et al., J. Biol. Chem. vol. 286, No. 16, pp. 13966–13976, April 22, 2011). Не желая быть связанными с теорией, считается, что добавление гидрофобных фрагментов на обоих концах может увеличить патологическую конформацию бета-листа тау-пептида. Таким образом, один или более таупептидов дополнительно содержат гидрофобные фрагменты на обоих концах. Модифицированный тау-пептид может иметь амидированный С-конец. Предпочтительно, тау-пептид, презентированный на поверхности липосомы, состоит из аминокислотной последовательности одной из SEQ ID NO:27 - SEQ ID NO:29 и SEQ ID NO:31 - SEQ ID NO:38.

[0063] Примеры тау-липосом, полезных для настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются, тау-липосомы, описанные в патентах США № 8,647,631 и 9,687,447, а также в международной заявке на патент № PCT/US18/57286, раскрытие каждой из включено в настоящее описание путем ссылки в полном объеме.

[0064] Используемый в настоящем документе термин «эффективное количество» относится к количеству активного ингредиента или компонента, вызывающего желаемый биологический или медицинский ответ у субъекта. Выбор конкретной эффективной дозы может быть определен (например, путем клинических испытаний) специалистами в данной области на основе рассмотрения нескольких факторов, включая заболевание, которое нужно лечить или предупредить, возникающие симптомы, массу тела пациента, иммунный

статус пациента и другие факторы, известные специалисту в данной области. Точная доза, которую следует использовать в композиции, также будет зависеть от способа введения, пути введения, целевого места, физиологического состояния пациента, других вводимых лекарств и тяжести заболевания, и ее следует решать в соответствии с суждением практикующего врача и обстоятельствами каждого пациента. Например, эффективное количество тау-фосфопептида также зависит от того, вводится ли также адъювант, причем при отсутствии адъюванта требуются более высокие дозы. Эффективные дозы можно экстраполировать с помощью кривых доза-ответ, полученных с помощью *in vitro* или животных тестовых систем.

[0065] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки эффективное количество липосом содержит количество тау-фосфопептида, достаточное для повышения уровня антител против фосфорилированного тау-белка, без индукции серьёзного нежелательного явления, такого как энцефалит. У конкретных вариантов осуществления эффективное количество липосом содержит тау-фосфопептид в количестве от приблизительно 25 нмоль до приблизительно 750 нмоль на дозу, например, от приблизительно 29,7 нмоль до приблизительно 742,5 нмоль на дозу, предпочтительно от приблизительно 90 нмоль до приблизительно 715 нмоль на дозу, например, от приблизительно 89,1 нмоль до приблизительно 712,8 нмоль на дозу, или от приблизительно 90 нмоль до приблизительно 535 нмоль на дозу, например, от приблизительно 89,1 нмоль до приблизительно 534,6 нмоль на дозу, или от приблизительно 90 нмоль до приблизительно 275 нмоль на дозу, например, от приблизительно 89,1 нмоль до приблизительно 267,3 нмоль на дозу. Количество введенного тау-фосфопептида также может быть выражено по массе. Например, 29,7 нмоль на дозу отвечает 100 мкг на дозу тетрапальмитоилированного тау-фосфопептида, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28, 742,5 нмоль на дозу отвечает 2500 мкг на дозу тетрапальмитоилированного тау-фосфопептида, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28, 89,1 нмоль на дозу отвечает 300 мкг на дозу тетрапальмитоилированного тау-фосфопептида, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28, 712,8 нмоль на дозу отвечает 2400 мкг на дозу тетрапальмитоилированного тау-фосфопептида, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28, и 534,6 нмоль на дозу отвечает 1800 мкг на дозу тетрапальмитоилированного

тау-фосфопептида, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28. Тетрапальмитоилированный тау-фосфопептид имеет четыре липидные цепи, которые позволяют презентировать тау-фосфопептид на поверхности липосом. Дозы 300, 900, 1800 мкг тетрапальмитоилированного тау-

5 фосфопептида, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28, соответствуют 169, 508, 1016 мкг, соответственно, соответствующего «голового» пептида без какой-либо из липидных цепей.

[0066] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки эффективное количество липосом содержит тау-фосфопептид в количестве от
10 приблизительно 25 нмоль до приблизительно 750 нмоль на дозу, например, приблизительно 25 нмоль, приблизительно 30 нмоль, приблизительно 35 нмоль, приблизительно 40 нмоль, приблизительно 45 нмоль, приблизительно 50 нмоль, приблизительно 55 нмоль, приблизительно 60 нмоль, приблизительно 65 нмоль, приблизительно 70 нмоль, приблизительно 75 нмоль, приблизительно 80 нмоль,
15 приблизительно 85 нмоль, приблизительно 90 нмоль, приблизительно 95 нмоль, приблизительно 100 нмоль, приблизительно 125 нмоль, приблизительно 150 нмоль, приблизительно 175 нмоль, приблизительно 200 нмоль, приблизительно 225 нмоль, приблизительно 250 нмоль, приблизительно 275 нмоль, приблизительно 300 нмоль, приблизительно 325 нмоль, приблизительно 350
20 нмоль, приблизительно 375 нмоль, приблизительно 400 нмоль, приблизительно 425 нмоль, приблизительно 450 нмоль, приблизительно 475 нмоль, приблизительно 500 нмоль, приблизительно 525 нмоль, приблизительно 550 нмоль, приблизительно 575 нмоль, приблизительно 600 нмоль, приблизительно 625 нмоль, приблизительно 650 нмоль, приблизительно 675 нмоль,
25 приблизительно 700 нмоль, приблизительно 725 нмоль, приблизительно 750 нмоль на дозу тау-фосфопептида, содержащего аминокислотную последовательность одной из SEQ ID NO: 1-3 или 5-12. Предпочтительно, тау-фосфопептид состоит из аминокислотной последовательности одной из SEQ ID NO:27 - SEQ ID NO:29 и SEQ ID NO:31 - SEQ ID NO:38. Более предпочтительно,
30 тау-фосфопептид состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28.

[0067] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки эффективное количество липосом содержит тетрапальмитоилированный тау-фосфопептид в количестве от 100 мкг до 2500 мкг, от 300 мкг до 2400 мкг, от 300 мкг до 1800 мкг или от 300 мкг до 900 мкг на дозу, например, 100 мкг, 150

мкг, 200 мкг, 250 мкг, 300 мкг, 400 мкг, 500 мкг, 600 мкг, 700 мкг, 800 мкг, 900 мкг, 1000 мкг, 1100 мкг, 1200 мкг, 1300 мкг, 1400 мкг, 1500 мкг, 1600 мкг, 1700 мкг, 1800 мкг, 1900 мкг, 2000 мкг, 2100 мкг, 2200 мкг, 2300 мкг, 2400 мкг или 2500 мкг на дозу.

5 **[0068]** В соответствии с вариантами осуществления данной заявки Тау-фосфопептид презентирован на поверхности липосом. В соответствии с вариантами осуществления данной заявки тау-фосфопептид содержит аминокислотную последовательность одной из SEQ ID NO: 1-3 или 5-12. Предпочтительно, тау-фосфопептид состоит из аминокислотной
10 последовательности одной из SEQ ID NO:27 - SEQ ID NO:29 и SEQ ID NO:31 - SEQ ID NO:38. Более предпочтительно, тау-фосфопептид состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28.

[0069] В соответствии с другими вариантами осуществления данной заявки эффективное количество липосом дополнительно включает агонист толл-подобного рецептора 4 в количестве от 30 мкг до 900 мкг, предпочтительно от
15 100 мкг до 585 мкг, на дозу. Например, эффективное количество липосом может содержать агонист толл-подобного рецептора 4 в количестве 30 мкг, 50 мкг, 100 мкг, 150 мкг, 200 мкг, 250 мкг, 300 мкг, 330 мкг, 360 мкг, 390 мкг, 420 мкг, 450 мкг, 480 мкг, 500 мкг, 520 мкг, 540 мкг, 560 мкг, 580 мкг, 600 мкг, 700 мкг, 800
20 мкг или 900 мкг на дозу.

[0070] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки толл-подобный рецептор 4 содержит 3D-(6-ацил) PHAD[®].

[0071] В соответствии с другими вариантами осуществления данной заявки эффективное количество липосом дополнительно включает хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 25 мкг до 625 мкг, предпочтительно от 75 мкг до 550 мкг, например, от 75 мкг до 450 мкг, от 80 мкг до 540 мкг, от 82,5 мкг до 535 мкг, от 85 мкг до 530 мкг, от 87,5 мкг до 525 мкг, или от 90 мкг до 520 мкг, на дозу. Например, эффективное количество липосом может содержать хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве 25 мкг, 50 мкг, 70 мкг, 72,5 мкг, 75
25 мкг, 77,5 мкг, 80 мкг, 82,5 мкг, 85 мкг, 87,5 мкг, 90 мкг, 100 мкг, 125 мкг, 150 мкг, 175 мкг, 200 мкг, 225 мкг, 250 мкг, 275 мкг, 300 мкг, 325 мкг, 350 мкг, 375 мкг, 400 мкг, 425 мкг, 450 мкг, 475 мкг, 500 мкг, 525 мкг, 550 мкг, 575 мкг, 600
30 мкг или 625 мкг на дозу.

[0072] В соответствии с другими вариантами осуществления данной заявки эффективное количество липосом дополнительно включает хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от приблизительно 3 нмоль до приблизительно 105 нмоль на дозу, например, приблизительно 4 нмоль, приблизительно 5 нмоль, 5 приблизительно 6 нмоль, приблизительно 7 нмоль, приблизительно 8 нмоль, приблизительно 9 нмоль, приблизительно 10 нмоль, приблизительно 15 нмоль, приблизительно 20 нмоль, приблизительно 25 нмоль, приблизительно 30 нмоль, приблизительно 35 нмоль, приблизительно 40 нмоль, приблизительно 45 нмоль, приблизительно 50 нмоль, приблизительно 55 нмоль, приблизительно 60 нмоль, 10 приблизительно 65 нмоль, приблизительно 70 нмоль, приблизительно 75 нмоль, приблизительно 80 нмоль, приблизительно 85 нмоль, приблизительно 90 нмоль, приблизительно 95 нмоль, приблизительно 100 нмоль или приблизительно 105 нмоль на дозу.

[0073] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки 15 хелперный Т-клеточный эпитоп представляет собой Т50 хелперный Т-клеточный эпитоп, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, Т46 хелперный Т-клеточный эпитоп, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14, Т48 хелперный Т-клеточный эпитоп, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15, Т51 20 хелперный Т-клеточный эпитоп, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16, или Т52 хелперный Т-клеточный эпитоп, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17, предпочтительно хелперный Т-клеточный эпитоп представляет собой Т50 хелперный Т-клеточный эпитоп, состоящий из аминокислотной 25 последовательности SEQ ID NO: 13.

[0074] В определенных вариантах осуществления эффективное количество липосом дополнительно включает липидированный олигонуклеотид CpG в количестве от 50 мкг до 1250 мкг, предпочтительно от 100 мкг до 1000 мкг, например, от 150 мкг до 800 мкг, от 150 мкг до 900 мкг, от 125 мкг до 950 мкг 30 или от 150 мкг до 850 мкг на дозу. Например, эффективное количество липосом может содержать липидированный олигонуклеотид CpG в количестве 50 мкг, 100 мкг, 150 мкг, 200 мкг, 250 мкг, 300 мкг, 350 мкг, 400 мкг, 450 мкг, 500 мкг, 550 мкг, 600 мкг, 650 мкг, 700 мкг, 750 мкг, 800 мкг, 850 мкг, 900 мкг, 950 мкг, 1000 мкг, 1050 мкг, 1100 мкг, 1200 мкг или 1250 мкг на дозу.

[0075] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки липидированный олигонуклеотид CpG представляет собой олигонуклеотид CpG, содержащий нуклеотидную последовательность одной из SEQ ID NO: 18-22, предпочтительно липидированный олигонуклеотид CpG представляет собой олигонуклеотид CpG, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 18. В соответствии с вариантами осуществления данной заявки липидированный олигонуклеотид CpG представляет собой олигонуклеотид CpG, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 18, которая имеет одну или несколько фосфоротиоатных межнуклеотидных связей и является ковалентно связанной с холестерином через линкер, содержащий полиэтиленгликоль (ПЭГ).

[0076] В соответствии с вариантами осуществления эффективное количество липосом содержит 50 мкг, 100 мкг, 150 мкг, 200 мкг, 250 мкг, 300 мкг, 350 мкг, 400 мкг, 450 мкг, 500 мкг, 550 мкг, 600 мкг, 650 мкг, 700 мкг, 750 мкг, 800 мкг, 850 мкг, 900 мкг, 950 мкг, 1000 мкг, 1050 мкг, 1100 мкг, 1200 мкг или 1250 мкг на дозу олигонуклеотида CpG, ковалентно связанного с холестерином через ПЭГ линкер.

[0077] Используемый в настоящем описании термин «длительный иммунный ответ» или «стойкий иммунный ответ» относится к иммунному ответу, который длится по меньшей мере шесть недель после первичного введения эффективного количества липосомы. В соответствии с вариантами осуществления данной заявки «стойкий иммунный ответ» представляет собой стойкий иммунный ответ, который длится по меньшей мере шесть недель, по меньшей мере 12 недель, по меньшей мере 24 недели, по меньшей мере 36 недель, по меньшей мере 48 недель, по меньшей мере 60 недель, по меньшей мере 72 недели или дольше, и иммунный ответ может характеризоваться присутствием IgG против фосфорилированного Тау-белка, IgM против фосфорилированного Тау-белка или анти-ePHF. IgG против фосфорилированного тау-белка, IgM против фосфорилированного Тау-белка и анти-ePHF можно выявить и измерить любым способом, известным специалисту в данной области техники, включая описанные в данном документе.

[0078] Как используется в настоящем документе, термин «продолжающийся иммунный ответ» относится к иммунному ответу, который поддерживается на уровне, равном или превышающем определенный пороговый уровень в течение

определенного периода времени после первичного введения эффективного количества липосомы, и определенный пороговый уровень выше базового уровня, измеренного перед начальным введением эффективного количества липосомы. В некоторых вариантах осуществления исходный уровень

5 определяется на основе среднего измеренного уровня титров антител перед начальным введением, предпочтительно производят два измерения. В одном варианте осуществления иммунный ответ включает образование специфических антител IgG, направленных против фТау, и определенный пороговый уровень по меньшей мере в 1,5 или более раз превышает исходный уровень, например,

10 превышает исходный уровень по меньшей мере в 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0 или более раз. В другом варианте осуществления иммунный ответ включает образование антител IgG против ePHF, и определенный пороговый уровень превышает исходный уровень по меньшей мере в 2,0 или более раз, например, превышает исходный уровень по меньшей мере в 2,0, 2,1, 2, 2, 2,3, 2,4, 2,5 или

15 больше раз.

[0079] Согласно конкретным вариантам осуществления субъект-человек требует лечения нейродегенеративного заболевания, расстройства или состояния.

[0080] Используемый в настоящем описании термин «нейродегенеративное заболевание, расстройство или состояние» включает любое нейродегенеративное

20 заболевание, расстройство или состояние, известное специалистам в данной области техники с учетом этого раскрытия. Примеры нейродегенеративных заболеваний, расстройств или состояний включают в себя нейродегенеративные заболевания или расстройства, вызванные или связанные с образованием нейрофибриллярных поражений, такие как заболевания, расстройства или

25 состояния, связанные с тау-белком, которые называются тауопатиями. Согласно конкретным вариантам осуществления нейродегенеративное заболевание, расстройство или состояние включает любое из заболеваний или расстройств, выявляющих сосуществование патологий тау и амилоида, включая, но не ограничиваясь приведенными, такие как: болезнь Альцгеймера, болезнь

30 Паркинсона, болезнь Крейтцфельда-Якоба, хроническая травматическая энцефалопатия (энцефалопатия боксеров), синдром Дауна, болезнь Герстмана-Штросслера-Шейнкера, миозит с тельцами включений, церебральная амилоидная ангиопатия прионного протеина, черепно-мозговая травма, боковой амиотрофический склероз, комплекс паркинсонизма-деменции Гуама,

негуамановская болезнь моторных нейронов с нейрофибриллярными клубками, аргиофильная зернистая деменция, кортикобазальная дегенерация, деменция Леви, амиотрофический боковой склероз, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, лобно-височная деменция, предпочтительно лобно-височная деменция с паркинсонизмом, связанная с хромосомой 17 (FTDP-17), лобно-височная лобарная деменция, болезнь Халлервордена-Шпатца, множественная системная атрофия, болезнь Ниманна-Пика типа С, болезнь Пика, прогрессирующий подкорковый глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич, подострый склерозирующий панэнцефалит, деменция, характеризующаяся только клубками, постэнцефалитический паркинсонизм, миотоническая дистрофия, хроническая травматическая энцефалопатия (СТЕ), первичная возрастная тауопатия (PART), церебральная ангиопатия или деменция с тельцами Леви (LBD). Согласно конкретным вариантам осуществления нейродегенеративное заболевание, расстройство или состояние является болезнью Альцгеймера или другой тауопатией. Согласно предпочтительным вариантам осуществления нейродегенеративное заболевание, расстройство или состояние является болезнью Альцгеймера.

[0081] Клиническое течение болезни Альцгеймера можно разделить на стадии с прогрессирующими моделями когнитивных и функциональных нарушений. Стадии можно определить с помощью шкал оценки, известных в данной области техники, включая, например, общую основу научных исследований NIA-AA Research Framework. См., например, Dubois et al., *Alzheimer's & Dementia* 12 (2016) 292-323, Dubois et al., *Lancet Neurol* 2014; 13: 614–29, Jack et al., *Alzheimer's & Dementia* 14 (2018) 535-562, содержание каждого из которых включено в данный документ с помощью ссылок в полном объеме.

[0082] Согласно желаемым вариантам осуществления нейродегенеративное заболевание, расстройство или состояние являются ранней болезнью Альцгеймера, легким когнитивным нарушением (MCI) вследствие болезни Альцгеймера, легкой болезнью Альцгеймера или болезнью Альцгеймера в степени тяжести от легкой до умеренной.

[0083] В некоторых вариантах осуществления субъект, нуждающийся в лечении, является положительным на амилоид в мозге, но еще не демонстрирует значительных когнитивных нарушений. Отложения амилоида в мозге можно

обнаружить с помощью методов, известных в данной области техники, таких как исследование методом позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ-сканирование), иммунопреципитационная масс-спектрометрия или другие методы.

5 **[0084]** Используемый в этом документе термин «толл-подобный рецептор» или «TLR» относится к классу белков рецепторов распознавания паттернов (PRR), которые играют ключевую роль во врожденном иммунном ответе. TLR распознают ассоциированные с патогенами молекулярные структуры (PAMP) от
10 микробных патогенов, таких как бактерии, грибы, паразиты и вирусы, которые можно отличить от молекул хозяина. TLR - это трансмембранные белки, которые обычно функционируют как димеры и экспрессируются клетками, вовлеченными во врожденный иммунный ответ, включая антиген-презентирующие дендритные клетки и фагоцитарные макрофаги. Существует по меньшей мере десять членов семейства TLR человека, TLR1 - TLR10, и по меньшей мере двенадцать членов
15 семейства TLR мыши, TLR1 - TLR9 и TLR11 - TLR13, и они отличаются типами антигенов, которые они распознают. Например, TLR4 распознает липополисахариды (ЛПС), компонент, присутствующий во многих грамотрицательных бактериях, а также вирусные белки, полисахариды и эндогенные белки, такие как липопроотеины низкой плотности, бета-дефензины и
20 белок теплового шока; и TLR9 является нуклеотид-чувствительным TLR, который активируется неметилованными одноцепочечными или двухцепочечными динуклеотидами цитозин-фосфат-гуанин (CpG), которые имеются в избытке в геномах прокариотов, но редко встречаются в геномах позвоночных. Активация TLR приводит к серии сигнальных событий,
25 приводящих к выработке интерферонов I типа (IFN), воспалительных цитокинов и хемокинов, а также индукции иммунных ответов. Впоследствии это воспаление также активирует адаптивную иммунную систему, которая затем приводит к очищению проникающих патогенов и инфицированных клеток.

[0085] Используемый в этом документе термин «агонист» относится к
30 молекуле, которая связывается с одним или несколькими TLR и индуцирует опосредованный рецептором ответ. Например, агонист может индуцировать, стимулировать, повышать, активировать, способствовать, усиливать или регулировать активность рецептора. Такая деятельность называется "агонистической деятельностью". К примеру, агонист TLR4 либо TLR9 может

активировать либо усилить клеточную передачу сигналов через связанный рецептор. Агонисты включают, но не ограничиваются ими, нуклеиновые кислоты, небольшие молекулы, белки, углеводы, липиды или другие молекулы, которые связываются или взаимодействуют с рецепторами. Агонисты могут имитировать активность лиганда природного рецептора. Агонисты могут быть гомологичны этим природным лигандам рецепторов относительно последовательности, конформации, заряда или других характеристик, чтобы они могли быть распознаны рецепторами. Это распознавание может привести к физиологическим и/или биохимическим изменениям в клетке, так что клетка реагирует на присутствие агониста так же, как если бы присутствовал лиганд природного рецептора. В соответствии с конкретными вариантами осуществления агонист толл-подобного рецептора является по меньшей мере одним из агониста толл-подобного рецептора 4 и агониста толл-подобного рецептора 9.

[0086] Термины «индуцировать» и «стимулировать», как они используются в настоящем документе, и их вариации касаются любого измеримого повышения клеточной активности. Индукция иммунного ответа может включать, например, активацию, пролиферацию или созревание популяции иммунных клеток, увеличение продукции цитокина и/или другой показатель повышенной иммунной функции. В определенных вариантах осуществления индукция иммунного ответа может включать увеличение пролиферации В-клеток, выработку антиген-специфических антител, увеличение пролиферации антиген-специфических Т-клеток, улучшение презентации антигена дендритными клетками и/или повышение экспрессии определенных цитокинов, хемокинов и костимулирующих маркеров.

[0087] Используемый в настоящем описании термин «агонист толл-подобного рецептора 4» относится к любому соединению, действующему как агонист TLR4. В изобретении можно использовать любой подходящий агонист толл-подобного рецептора 4, известный специалистам в данной области техники, учитывая это раскрытие. Примеры лиганда толл-подобного рецептора 4, полезного для изобретения, включают агонист TLR4, включая, но не ограничиваясь им, монофосфориллипид А (MPLA). Используемый в настоящем описании термин «монофосфориллипид А» или «MPLA» относится к модифицированной форме липида А, являющейся биологически активной

частью эндотоксина грамотрицательного бактериального липотолисахарид (ЛПС). MPLA является менее токсичным, чем ЛПС, сохраняя иммуностимулирующую активность. Как адъювант вакцины MPLA стимулирует как клеточный, так и гуморальный ответ на антиген вакцины. Примеры MPLA включают, но не ограничиваются приведенными, 3-О-десацил-4'-монофосфорил липид А, Монофосфорил гекса-ацил липид А, 3-деацил (синтетический) (который также называется 3D-(6-ацил) PHAD®), монофосфорил 3-деацил липид А и его структурно родственные варианты. MPLA, полезный для изобретения, можно получить с помощью способов, известных в данной области техники, или из коммерческого источника, такого как 3D-(6-ацил) PHAD®, PHAD®, PHAD®-504, 3D-PHAD® от Avanti Polar Lipids (Alabaster, Alabama, USA) или MPL™ из разных коммерческих источников. В соответствии с определенными вариантами осуществления агонист толл-подобного рецептора 4 представляет собой MPLA.

[0088] В соответствии с определенными вариантами осуществления липосома, содержащая тау фосфопептид и агонист толл-подобного рецептора 4, также содержит хелперный Т-клеточный эпитоп, который способен связывать большинство или все молекулы HLA DR (лейкоцитарный антиген человека – родственный антиген D). Тогда хелперный Т-клеточный эпитоп способен активировать CD4⁺ Т-клетки и дает важные сигналы созревания и выживания тау-специфическим В-клеткам. Тау-липосомы можно использовать для генерирования высококачественных антител против антигена фТау в гомологичных или гетерологичных схемах иммунизации, при этом липосома используется в первичной и/или в бустерной вакцине.

[0089] Используемый в этом документе термин "хелперный Т-клеточный эпитоп" относится к полипептиду, содержащему эпитоп, способный распознаваться хелперной Т-клеткой. Примеры хелперных Т-клеточных эпитопов включают, но не ограничиваются приведенными, такие как: столбнячный анатоксин (например, эпитопы P2 и P30, которые также называются соответственно T2 и T30), поверхностный антиген гепатита В, холерный токсин В, дифтерийный анатоксин, F-белок вируса кори, основной белок наружной мембраны хламидии трахоматис (*Chlamydia trachomatis*), *Plasmodium falciparum circumsporozite T*, CS антиген *P. falciparum*, триозофосфат-изомеразы *Schistosoma mansoni*, палочка коклюша *Bordetella*

pertussis, столбнячная палочка *Clostridium tetani*, *Pertusaria trachythallina*, *Escherichia coli TraT* и гемагглютинин вируса гриппа (HA).

[0090] Любой подходящий хелперный Т-клеточный эпитоп, известный специалистам в данной области техники, может быть использован в изобретении с учетом этого раскрытия. В соответствии с определенными вариантами осуществления хелперный Т-клеточный эпитоп содержит по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:23 - SEQ ID NO:26. Предпочтительно, хелперный Т-клеточный эпитоп содержит две или более аминокислотных последовательностей SEQ ID NO:23 - SEQ ID NO:26, слитых вместе через линкер, такой как пептидный линкер, содержащий одну или больше аминокислот, например, Val (V), Ala (A), Arg (R), Gly (G), Ser (S), Lys (K). Длина линкера может варьироваться, предпочтительно 1-5 аминокислот. Предпочтительно, хелперный Т-клеточный эпитоп содержит три или больше аминокислотных последовательностей SEQ ID NO:23 - SEQ ID NO:26, слитых вместе через один или больше линкеров, выбранных из группы, состоящей из VVR, GS, RR, RK. Хелперный Т-клеточный эпитоп может иметь амидированный С-конец.

[0091] В соответствии с вариантами осуществления данной заявки, хелперные Т-клеточные эпитопы могут быть встроены в поверхность липосом, например, закреплены ковалентно связанным гидрофобным фрагментом, где указанный гидрофобный фрагмент является алкильной группой, жирной кислотой, триглицеридом, диглицеридом, стероидом, сфинголипидом, гликолипидом или фосфолипидом, в частности алкильной группой или жирной кислотой, в частности с углеродным скелетом, состоящим из по меньшей мере 3 атомов углерода, в частности из по меньшей мере 4 атомов углерода, в частности из по меньшей мере 6 атомов углерода, в частности из по меньшей мере 8 атомов углерода, в частности из по меньшей мере 12 атомов углерода, в частности из по меньшей мере 16 атомов углерода. В одном варианте осуществления изобретения гидрофобный фрагмент представляет собой пальмитиновую кислоту. Альтернативно, хелперный Т-клеточный эпитоп можно инкапсулировать в липосомы. В соответствии с определенными вариантами осуществления хелперный Т-клеточный эпитоп является инкапсулированным в липосому.

[0092] Хелперный Т-клеточный эпитоп можно модифицировать для его желательного расположения в липосомах с помощью способов, известных в данной области техники учитывая это раскрытие. В соответствии с определенными вариантами осуществления хелперный Т-клеточный эпитоп, полезный для настоящего изобретения, содержит аминокислотную последовательность одной из SEQ ID NO:39 - SEQ ID NO:44. Предпочтительно, хелперный Т-клеточный эпитоп состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:13 - SEQ ID NO:17.

[0093] В соответствии с определенными вариантами осуществления липосома, содержащая тау-фосфопептид и агонист толл-подобного рецептора 4, также содержит агонист толл-подобного рецептора 9. Используемый в данном описании термин «агонист толл-подобного рецептора 9» относится к любому соединению, действующему как агонист TLR9. В изобретении можно использовать любой подходящий агонист толл-подобного рецептора 9, известный специалистам в данной области техники с учетом настоящего описания. Примеры лиганда толл-подобного рецептора 9, полезного для настоящего изобретения, включают агонист TLR9, включая, но не ограничиваясь ими, олигонуклеотиды CpG.

[0094] Используемый в данном описании термин «CpG-олигонуклеотид», «CpG-олигодезоксинуклеотид» или «CpG ODN» относится к олигонуклеотиду, содержащему по меньшей мере один мотив CpG. Как используется в настоящем документе, «олигонуклеотид», «олигодезоксинуклеотид» или «ODN» относится к полинуклеотиду, образованному из множества связанных нуклеотидных единиц. Такие олигонуклеотиды могут быть получены из существующих источников нуклеиновых кислот или могут быть получены синтетическими методами. Используемый в данном описании термин «мотив CpG» относится к нуклеотидной последовательности, которая содержит неметирированные цитозин-фосфат-гуанин (CpG) динуклеотиды (т.е. цитозин (C), за которым следует гуанин (G)), соединенные фосфатной связью или фосфодиэфирным каркасом или другими межнуклеотидными связями.

[0095] В соответствии с определенными вариантами осуществления олигонуклеотид CpG является липидированным, например, конъюгированным (ковалентно связанным) с липидным фрагментом.

[0096] Используемый в данном описании термин «липидный фрагмент» относится к фрагменту, содержащему липофильную структуру. Липидные фрагменты, такие как алкильная группа, жирная кислота, триглицерид, диглицерид, стероид, сфинголипид, гликолипид или фосфолипид, в частности стерол, такой как холестерин, или жирные кислоты, когда они присоединены к высокогидрофильным молекулам, таким как нуклеиновые кислоты, могут значительно увеличить связывание с белками плазмы и, следовательно, период полувыведения гидрофильных молекул из кровотока. Кроме того, было показано, что связывание с определенными белками плазмы, такими как липопроотеины, увеличивает поглощение в специфических тканях, экспрессирующих соответствующие липопроотеиновые рецепторы (например, ЛПНП-рецептор, ЛПВП-рецептор или фагоцитарный рецептор SR-B1). В частности, липидный фрагмент, конъюгированный с фосфопептидами и/или олигонуклеотидом CpG, позволяет закрепить указанные пептиды и/или олигонуклеотиды в мембране липосомы через гидрофобный фрагмент.

[0097] В соответствии с определенными вариантами осуществления, учитывая это раскрытие, олигонуклеотид CpG может содержать любые соответствующие межнуклеотидные связи.

[0098] Используемый в данном описании термин «межнуклеотидная связь» относится к химической связи для соединения двух нуклеотидов через их сахара, состоящие из атома фосфора и заряженной или нейтральной группы между смежными нуклеозидами. Примеры межнуклеотидной связи включают фосфодиэфир (po), фосфоротиаат (ps), фосфородитиаат (ps2), метилфосфонат (mp) и метилфосфоротиаат (gp). Фосфоротиаат, фосфородитиаат, метилфосфонат и метилфосфоротиаат стабилизируют межнуклеотидные связи, тогда как фосфодиэфир является природной межнуклеотидной связью. Олигонуклеотидные фосфоротиааты обычно синтезируются как случайная рацемическая смесь Rp и Sp фосфоротиаатных связей.

[0099] Любой подходящий олигонуклеотид CpG, известный специалистам в данной области, может быть использован в настоящем изобретении с учетом настоящего раскрытия. Примеры таких олигонуклеотидов CpG включают, но не ограничиваются приведенными, CpG2006 (также известный как CpG 7909) (SEQ ID NO: 18), CpG 1018 (SEQ ID NO: 19), CpG2395 (SEQ ID NO: 20), CpG2216 (SEQ ID NO: 21) или CpG2336 (SEQ ID NO: 22).

[00100] Олигонуклеотид CpG может быть липидирован с помощью методов, известных в данной области техники с учетом этого раскрытия. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид CpG ковалентно связан непосредственно с молекулой холестерина. В некоторых вариантах осуществления 3'-конец олигонуклеотида CpG ковалентно связывается с молекулой холестерина через фосфатную связь, необязательно через ПЭГ-линкер. В некоторых вариантах осуществления 5'-конец олигонуклеотида CpG ковалентно связывается с молекулой холестерина через фосфатную связь, необязательно через ПЭГ-линкер. Другие липофильные фрагменты также могут быть ковалентно связаны с 5' или 3'-концом олигонуклеотида CpG. Например, олигонуклеотид CpG может быть ковалентно связан с липидным якорем такой же длины, как и фосфолипиды из липосомы: одна цепь пальмитиновой кислоты (с использованием Pal-OH или подобной, активированной для связывания) или две пальмитиновые кислоты (например, с использованием 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-(сукцинила) или подобного, активированного для связывания), необязательно через линкер ПЭГ. См., например, соответствующее раскрытие в патенте США 7741297, содержание которого включено в данный документ путем ссылки. Длина ПЭГ может изменяться, например, от 1 до 5 единиц ПЭГ.

[00101] Другие линкеры также можно использовать для ковалентного соединения олигонуклеотида CpG с липофильным фрагментом (таким как молекула холестерина), примеры которого включают, но не ограничиваются им, алкильный спейсер, содержащий от 3 до 12 атомов углерода. Как аминодиол необходим короткий линкер, совместимый с химией олигонуклеотидов. В некотором варианте осуществления для ковалентной связи не используется линкер. См., например, *Ries и соавт.*, "Convenient synthesis and application of versatile nucleic acid lipid membrane anchors in the assembly and fusion of liposomes," *Org. Biomol. Chem.*, 2015, 13, 9673, соответствующее раскрытие которого включено в данный документ путем ссылки.

[00102] В соответствии с определенными вариантами осуществления липидированный олигонуклеотид CpG, полезный для данного изобретения, содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:18 - SEQ ID NO:22, где нуклеотидная последовательность содержит одну или больше фосфоротиоатных межунклеотидных связей, и

нуклеотидная последовательность ковалентно связана с по меньшей мере одним холестерином через линкер. В соответствии с предпочтительными вариантами осуществления липидированный олигонуклеотид CpG содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 18, имеющую одну или несколько фосфоротиоатных межнуклеотидных связей и является ковалентно связанным с холестерином. Для ковалентного связывания олигонуклеотида CpG с холестериневой молекулой можно использовать любые подходящие линкеры. Предпочтительно указанный линкер содержит полиэтиленгликоль (ПЭГ).

5
10 **[00103]** В соответствии с определенными вариантами осуществления липосома дополнительно содержит один или больше липидов, выбранных из группы, состоящей из 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DMPC), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфорил-3'-рац-глицерина (DMPG) и холестерина.

15 **[00104]** В соответствии с определенными вариантами осуществления липосома дополнительно включает буфер. В данном изобретении можно использовать любой подходящий буфер, известный специалистам в данной области техники с учетом этого раскрытия. В одном варианте осуществления липосома содержит фосфатно-солевой буфер. В соответствии с определенными вариантами осуществления буфер содержит гистидин и сахарозу.

20 **[00105]** Типичная липосома, используемая в настоящем изобретении, содержит тетрапальмитоилированный фосфопептид тау (фТау пептид ТЗ, SEQ ID NO: 28), который презентирован на поверхности липосомы с помощью двух пальмитиновых кислот на каждом конце тау пептида; лиганд TLR-9, содержащий липидированный CpG (адъювант CpG7909 (CpG2006); SEQ ID NO: 18), включенный в мембрану липосомы через молекулу холестерина, которая ковалентно связана с CpG через ПЭГ-линкер; лиганд TLR-4 (монофосфорил липид А (например, 3D-(6-ацил) PHAD[®])), встроенный у мембрану; инкапсулированный хелперный Т-клеточный эпитоп (PAN-DR связывающая молекула Т50; SEQ ID NO: 13); и 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфо-холин (DMPC), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-[фосфо-рац-(1-глицерин)] натриевая соль (DMPG) и холестерин как липидные компоненты липосом.
25
30

[00106] Липосомы согласно изобретению могут быть изготовлены с помощью способов, известных в данной области техники, с учетом этого раскрытия. Оптимальные соотношение каждого компонента липосом можно

определить по способам, известным специалистам в данной области техники с учетом этого раскрытия.

[00107] Липосомы можно вводить подходящими средствами для профилактического и/или терапевтического лечения. Согласно предпочтительным вариантам осуществления липосомы вводят путем подкожной или внутримышечной инъекции. Внутримышечную инъекцию чаще всего делают в мышцы руки или ноги.

[00108] В одном общем аспекте изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим терапевтически эффективное количество липосом вместе с фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом и/или носителем. Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества и/или носители хорошо известны в данной области (см. Remington's Pharmaceutical Science (15 изд.), Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1980). Предпочтительный состав фармацевтической композиции зависит от предполагаемого способа введения и терапевтического применения. Композиции могут включать фармацевтически приемлемые нетоксичные носители или разбавители, которые определяются как наполнители, обычно используемые для составления фармацевтических композиций для введения животным или людям. Разбавители подбирают таким образом, чтобы не влиять на биологическую активность комбинации. Примерами таких разбавителей являются дистиллированная вода, фосфатно-солевой буфер, растворы Рингера, раствор декстрозы и раствор Хэнка. Кроме того, фармацевтическая композиция или состав может также включать другие носители, адъюванты или нетоксичные, нетерапевтические, неиммуногенные стабилизаторы и т.п. Следует понимать, что характеристики носителя, эксципиента или разбавителя будут зависеть от пути введения конкретного применения.

[00109] Целевой антиген для вакцины расположен в мозгу, и мозг отделен от кровообращения специализированной клеточной структурой, называемой гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ). ГЭБ ограничивает поступление веществ из кровообращения в мозг. Это предотвращает попадание в центральную нервную систему токсинов, микробов и т.д. ГЭБ также имеет потенциально менее желаемый эффект предотвращения эффективного поступления иммунных медиаторов (таких как антитела) в интерстициальную и спинномозговую жидкость, окружающую мозг.

[00110] Приблизительно 0,1% антител, присутствующих в системном кровотоке, пересекают ГЭБ и проникают в мозг. Это свидетельствует о том, что системные титры, индуцированные вакциной, нацеленной на антиген ЦНС, должны быть по меньшей мере в 1000 раз больше минимального эффективного титра, чтобы быть эффективными в мозге. Минимальные титры антител в сыворотке, необходимые для инициирования эффективности, не очевидны. Кроме того, для безопасной и эффективной иммунотерапии, нацеленной на расстройства ЦНС, такие как нейродегенеративное заболевание, расстройство или состояние, необходимо учитывать не только количество, но и качество иммунного ответа (например, avidность).

[00111] Avidность антитела можно измерить с помощью индекса avidности с помощью способов, известных в данной области техники с учетом этого раскрытия. Титры антител против конкретного антигена измеряются при двух разных концентрациях покрытого антигена: одна является насыщенной концентрацией, когда все антитела могут связываться с антигеном, а другая – при низкой концентрации, где только антитела с высокой способностью связывания могут связываться с антигеном. Как используется в настоящем документе, «индекс avidности» относится к соотношению уровней титров антител, измеренных при покрытии антигена низкой и высокой плотности. Например, avidность антител против антигена, такого как ePHF или фТау, можно измерить в разные моменты времени после иммунизации или после различных иммунизаций, чтобы оценить, увеличивается ли avidность (как измеряется индексом avidности) со временем. Как используется в настоящем документе, антитела с «повышенной avidностью» или «повышенной avidностью связывания» к антигену относятся к антителам с увеличенным индексом avidности к антигену со временем во время курса лечения или иммунизации. Повышенная avidность свидетельствует о потенциальном созревании аффинности антител.

[00112] В соответствии с определенными вариантами осуществления поэтому фармацевтические композиции по данному изобретению дополнительно содержат одно или больше соответствующих вспомогательных веществ для достижения желаемого иммунного ответа у субъекта. Подходящие вспомогательные вещества можно вводить до, после или одновременно с введением липосомы. Предпочтительные вспомогательные вещества усиливают

внутренний ответ на иммуноген, не вызывая конформационных изменений в иммуногене, влияющих на качественную форму ответа. Примерами вспомогательных веществ являются соли алюминия (квасцы), такие как гидроксид алюминия, фосфат алюминия и сульфат алюминия. Такие

5 вспомогательные вещества можно использовать с другими специфическими иммуностимулирующими агентами или без них, такими как класс MPLA (3 де-О-ацилированный монофосфорил липид А (MPL™), монофосфорил гекса-ацил липид А 3-деацил синтетический (3D-(6-ацил) PHAD®, PHAD™, PHAD®-504, 3D-PHAD®) липид А), полимерные или мономерные аминокислоты, такие как

10 полиглутаминовая кислота или полилизин. Такие вспомогательные вещества можно использовать с другими специфическими иммуностимулирующими агентами или без них, такими как мурамиловые пептиды (например, N-ацетилмурамил-L-треонил-D-изоглутамин (thr-MDP), N-ацетил-нормурамил-L-аланил-D-изоглутамин (nog-MDP), N-ацетилмурамил-L-аланил-D-

15 изоглутаминил-L-аланин-2-(1'-2' дипальмитоил-sn-глицеро-3-гидроксифосфорилокси)-етиламин (MTP-PE), N-ацетилглюксаминил-N-ацетилмурамил-L-Al-D-изоглу-L-Ala-дипальмитоксипропиламид (DTP-DPP) Theramide™) или другие компоненты бактериальной клеточной стенки.

Эмульсии масло-в-воде включают MF59 (см. WO 90/14837), содержащий 5%

20 сквалена, 0,5% Tween 80 и 0,5% Span 85 (необязательно содержит разные количества MTP-PE), сформулированные в субмикронные частицы с помощью микрофлюидизатора; SAF, содержащий 10% сквалена, 0,4% твина 80, 5% плюроник-блокированного полимера L121 и thr-MDP, микрофлюидизированный в субмикронную эмульсию или смешанный на вортексе для получения эмульсии

25 большого размера; и система вспомогательных веществ Ribi™ (RAS) (Ribi ImmunoChem, Hamilton, Mont.) 0,2% Tween 80, и один или больше компонентов стенок бактериальных клеток, выбранных из группы, состоящей из монофосфорил липида А (MPL™), трегалозы димиколята (TDM) и скелета клеточной стенки (CWS), предпочтительно MPL™+CWS (Detox™). Другие

30 вспомогательные вещества включают полный адъювант Фрейнда (CFA) и цитокины, такие как интерлейкины (IL-1, IL-2 и IL-12), колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF) и фактор некроза опухолей (TNF).

[00113] Используемый в данном описании термин «в комбинации» в контексте введения субъекту двух или более терапевтических средств относится

к применению более чем одного терапевтического средства. Использование термина «в комбинации» не ограничивает порядок, при котором терапевтическое средство проводится субъекту. Например, первое терапевтическое средство (например, описанную в настоящем описании композицию) можно вводить до (например, за 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 16 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недели, 6 недели, 8 недели или 12 недель до), одновременно с или после (например, через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 16 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель после) введения второго терапевтического средства субъекту. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическую композицию согласно изобретению можно использовать в комбинации с биологически активным веществом, таким как, например, известные соединения, используемые в лечении таупатий и/или амилоидоза, группы заболеваний и расстройств, связанных с амилоидом или амилоидоподобным белком, таким как белок амилоид β , участвующий в болезни Альцгеймера. Другое биологически активное соединение может включать усилители передачи нейтронов, психотерапевтические препараты, ингибиторы ацетилхолинэстеразы, блокаторы кальциевых каналов, биогенные амины, бензодиазепиновые транквилизаторы, усилители синтеза, накопления или высвобождения ацетилхолина, агонисты постсинаптических рецепторов ацетилхолина, ингибиторы моноаминоксидазы-A или -B, антагонисты N-метил-D-аспартат глутаматных рецепторов, нестероидные противовоспалительные средства, антиоксиданты и антагонисты серотонинэргических рецепторов. В частности, другое биологически активное соединение может быть выбрано из группы, состоящей из таких как: соединения против окислительного стресса, антиапоптозные соединения, хелаторы металлов, ингибиторы репарации ДНК, такие как пирензепин и метаболиты, 3-амино-1-пропансульфоновая кислота (3APS), 1,3-пропандисульфонат (1,3PDS), активаторы секретазы и ингибиторы v-секретазы, тау-белки, нейромедиаторы, разрушители β -пластов, противовоспалительные молекулы или ингибиторы холинэстеразы (ChEs), такие как такрин, ривастигмин, донепезил и/или галантамин и другие лекарственные средства и пищевые добавки вместе с терапевтической вакциной согласно изобретению и, необязательно,

фармацевтически приемлемым носителем, и/или растворителем, и/или наполнителем. В следующем варианте осуществления другое биологически активное соединение может включать ниацин или мемантин вместе с липосомой согласно настоящему изобретению и, необязательно, фармацевтически приемлемым носителем и/или растворителем и/или наполнителем. В другом варианте осуществления настоящего изобретения другие соединения вместе с липосомой настоящего изобретения содержат «атипичные нейролептики», такие как, например, клозапин, zipразидон, рисперидон, арипипразол или оланзапин для лечения положительных и отрицательных психотических симптомов, включая галлюцинации, бред, расстройства мышления (проявляющиеся заметной несогласованностью, временной потерей процесса мышления, тангенциальностью мышления) и причудливое или дезорганизованное поведение, а также ангедонию, аффективную тупость, апатию и социальную замкнутость. Другие соединения, которые можно использовать в комбинации с фармацевтической композицией согласно настоящему изобретению, описаны, например, в WO 2004/058258 (см., в частности стр. 16 и 17), включая терапевтические лекарственные средства (стр. 36-39), алкансульфоновые кислоты и алканолсульфатную кислоту (стр. 39-51), ингибиторы холинэстеразы (стр. 51-56), антагонисты рецепторов NMDA (стр. 56-58), эстрогены (стр. 58-59), нестероидные противовоспалительные средства (стр. 60-61), антиоксиданты (стр. 61-62), агонисты рецепторов, активирующиеся пролифератором пероксисом (стр. 63-67), средства, снижающие холестерин (стр. 68-75); ингибиторы амилоида (стр. 75-77), ингибиторы образования амилоида (стр. 77-78), хелаторы металлов (стр. 78-79), антипсихотические агенты и антидепрессанты (стр. 80-82), пищевые добавки (стр. 83-89) и соединения, повышающие доступность биологически активных веществ в мозге (см. стр. 89-93) и пролекарства (стр. 93 и 94), включенные в этот документ путем ссылки, но особенно соединения, упомянутые на страницах, указанных выше.

[00114] Время введения может значительно изменяться от одного раза в день до одного раза в год или один раз в десятилетие. Типичная схема состоит из иммунизации с последующими бустерными инъекциями через интервалы времени, например, с интервалами от 1 до 24 недель. Другая схема состоит из иммунизации с последующими бустерными инъекциями через 1, 2, 4, 6, 8, 10 и 12 месяцев. Другая схема предполагает инъекции каждые два месяца в течение

всей жизни. Альтернативно, бустерные инъекции могут проводиться нерегулярно, как указывает мониторинг иммунного ответа.

[00115] Специалисты в данной области техники легко понимают, что режим первичного и бустерного введения можно скорректировать на основе измеренных иммунных ответов после введения. Например, бустерные композиции обычно вводят через недели или месяцы после введения первичной композиции, например, приблизительно через 1 неделю или 2 недели или 3 недели или 4 недели или 8 недель или 16 недель или 20 недель или 24 недели или 28 недель или 32 недели или 36 недель или 40 недель или 44 недели или 48 недель или 52 недели или 56 недель или 60 недель или 64 недели или 68 недель или 72 недели или 76 недель или через один-два года после введения первичной композиции.

[00116] В соответствии с конкретными аспектами можно вводить одну или более бустерных иммунизаций. Антигены в соответствующих первичных и бустерных композициях, несмотря на то, что используется много бустерных композиций, не обязательно должны быть идентичными, но должны иметь общие антигенные детерминанты или существенно походить друг на друга.

[00117] Как известно специалистам в данной области техники, иммуногенность, стимуляция и стойкость являются важными факторами для эффективности вакцины. В настоящем изобретении обнаружено, что введение эффективного количества липосомы, описанной в настоящем документе, способно индуцировать мощную реакцию антител против фТау у пациента, нуждающегося в этом, например, у пациента, нуждающегося в лечении болезни Альцгеймера (например, легкой или умеренной болезни Альцгеймера или ранней болезни Альцгеймера) или легкого когнитивного нарушения (МСИ) из-за болезни Альцгеймера. Иммунный ответ является стойким, например, длится по меньшей мере 6 недель после первичного введения липосомы. Иммунный ответ также усиливается одним или несколькими последующими бустерными введениями. Как используется в настоящем документе, «бустерный» в контексте иммунного ответа относится к иммунному ответу, который сохраняется или усиливается после последующего введения, как измеряют по меньшей мере через две недели после проведения последующего введения. Например, иммунный ответ «усиливается» следующим введениям, если наблюдается

повышение титра антител при измерении через 2 недели после последующего введения по сравнению с титром антител до последующего введения.

5 **[00118]** Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть сформулированы в соответствии со способами, известными в данной области техники с учетом этого раскрытия. Оптимальные соотношения каждого компонента в композициях можно определить по способам, известным специалистам в данной области техники с учетом этого раскрытия.

10 **[00119]** В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения введение тау-пептида путем введения фармацевтической композиции согласно варианту осуществления настоящего изобретения индуцирует активный иммунный ответ у субъекта, такой как образование антител против тау-пептида и против патологической формы Тау, тем самым способствуя выведению связанных агрегатов Тау, замедляя прогрессирование поведения, связанного с патологией Тау, и/или лечая основную тауопатию.

15 **[00120]** Тау является белком человека. Это означает, что, в принципе, все лимфоциты, несущие рецептор, специфичный для тау, должны были быть удалены при развитии (центральная толерантность) или перестали реагировать с помощью механизма периферической толерантности. Эта проблема оказалась серьезной преградой для разработки вакцин против собственных или
20 «измененных собственных» белков (например, опухолевых антигенов). Создание высококачественных антител против антигена (собственного или инфекционного) требует действия не только В-лимфоцитов, производящих антитела, но и CD4⁺ Т «хелперных» лимфоцитов. CD4⁺ Т-клетки передают В-лимфоцитам критические сигналы о выживании и созревании, а животные с дефицитом CD4⁺ Т-клеток
25 имеют глубокую иммуносупрессию. CD4⁺ Т-клетки также подвержены механизмам толерантности, и дополнительным препятствием для генерации сильных ответов против собственных (например, антитау) антител является то, что тау-реактивные CD4⁺ Т-клетки также, вероятно, редки или отсутствуют в иммунном репертуаре человека/животного.

30 **[00121]** В соответствии с этим аспектом данного изобретения иммунный ответ включает развитие благоприятного гуморального (опосредованного антителом) ответа, направленного против тау-пептида, и клеточного (опосредованного антигенспецифическими Т-клетками или продуктами их

секреции) ответа, направленного против Т-клеточного эпитопа или иммуногенного носителя.

[00122] Как используется в настоящем документе, поведенческий фенотип, связанный с тау-патологией, включает, без ограничения, когнитивные нарушения, ранние изменения личности и расторможение, апатию, абулию, мутизм, апраксию, персеверацию, стереотипные движения/поведение, гиперорализм, дезорганизацию, неспособность планировать или организовать последовательные задачи, эгоизм/черствость, антисоциальные черты, отсутствие эмпатии, заикание,agrammaticкую речь с частыми парафазическими ошибками, но относительно сохраненным пониманием, нарушение понимания и дефицит поиска слов, медленно прогрессирующую нестабильность походки, ретропульсии (заторможенная походка), замирание, частые падения, не реагирующую на леводопу аксиальную ригидность, надъядерный паралич взгляда, прямоугольные рывки, медленные вертикальные саккадические движения глаз, псевдобульбарный паралич, апраксию конечностей, дистонию, кортикальную потерю чувствительности и тремор.

[00123] При осуществлении способов по настоящему изобретению, согласно конкретным вариантам осуществления изобретения, предпочтительно выбирать субъекта, имеющего болезнь Альцгеймера или иную тауопатию или имеющего риск развития болезни Альцгеймера или другой тауопатии, субъекта, имеющего агрегаты тау-белка в мозге, или субъекта, демонстрирующего поведенческий фенотип, связанный с клубками, перед введением иммуногенных пептидов или антител по настоящему изобретению. Субъекты, подвергающиеся лечению, включают лиц, имеющих риск заболевания, но не проявляющих симптомов, а также пациентов, уже выявляющих симптомы. В случае болезни Альцгеймера практически каждый человек рискует заболеть ею. Поэтому методы по настоящему изобретению могут применяться с профилактической целью среди населения без необходимости какой-либо оценки риска для пациента. Данные способы особенно полезны для лиц, имеющих известный генетический риск болезни Альцгеймера, для профилактики или лечения болезни. К таким лицам относятся те, кто имеет родственников, перенесших болезнь, и те, чей риск определяется анализом генетических или биохимических маркеров. В предпочтительных вариантах осуществления субъект нуждается в лечении болезни Альцгеймера, предпочтительно ранней болезни Альцгеймера,

легкого когнитивного нарушения (МСИ) вследствие болезни Альцгеймера, легкой степени болезни Альцгеймера или легкой или умеренной степени болезни Альцгеймера. В других предпочтительных вариантах осуществления субъект нуждается в профилактике болезни Альцгеймера, предпочтительно доклинической болезни Альцгеймера, ранней болезни Альцгеймера, легкого когнитивного возбуждения (МСИ) из-за болезни Альцгеймера, легкой болезни Альцгеймера или легкой или умеренной степени болезни Альцгеймера. Доклиническая болезнь Альцгеймера является стадией перед ранней болезнью Альцгеймера.

10 **[00124]** У бессимптомных пациентов лечение можно начинать в любом возрасте (например, 10, 20, 30 лет). Обычно, однако, нет необходимости начинать лечение, пока пациент не достигнет 40, 50, 60 или 70 лет. Лечение, как правило, включает несколько доз в течение определенного периода времени. Лечение можно контролировать путем анализа антител или ответов активированных Т-клеток или В-клеток на терапевтический агент в течение 15 определенного времени. Если ответ уменьшается, показана бустерная доза.

[00125] В профилактических целях фармацевтические композиции, содержащие тау-пептиды, вводят пациенту, склонному к болезни Альцгеймера или другой тауопатии или иным образом риску развития болезни, в количестве, 20 достаточном для устранения или уменьшения риска, уменьшения тяжести или отсрочки начала заболевания, включая биохимические, гистологические и/или поведенческие симптомы заболевания, его осложнения и промежуточные патологические фенотипы, представленные при развитии заболевания. В терапевтическом применении фармацевтические композиции, содержащие тау- 25 пептид, вводят пациенту, имеющему подозрение или уже страдающему такой болезнью, в количестве, достаточном для лечения или по меньшей мере частичного прекращения симптомов болезни (биохимических, гистологических и/или поведенческих), включая её осложнения и промежуточные патологические фенотипы в развитии болезни.

30 **[00126]** По желанию композиция может быть представлена в наборе, упаковке или дозаторе, который может содержать одну или более дозированных единичных форм, содержащих активный ингредиент. Набор, например, может содержать металлическую или пластиковую фольгу, например, блистерную

упаковку. Набор, упаковка или дозатор могут сопровождаться инструкцией по применению.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[00127] Данное изобретение также обеспечивает следующие
5 неограничивающие варианты осуществления.

[00128] Вариант осуществления 1. Способ индукции иммунного ответа, такого как образование антител против фосфорилированного тау-белка (фТау), у человека, которому это необходимо, включает введение субъекту эффективного количества липосомы, содержащей:

10 (1) тау-фосфопептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27 - SEQ ID NO:29 и SEQ ID NO:31 - SEQ ID NO:38, в количестве от 300 мкг до 1800 мкг на дозу;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4, содержащий монофосфорил липид А;

15 (3) хелперный Т-клеточный эпитоп, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:13 - SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:23 - SEQ ID NO:26 и SEQ ID NO:39 - SEQ ID NO:44; и

(4) олигонуклеотид CpG, имеющий нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:18 - SEQ ID NO:22,

20 где:

Тау-фосфопептид презентирован на поверхности липосомы, и иммунный ответ длится по меньшей мере 6 недель после первичного введения человеку эффективного количества липосомы.

[00129] Вариант осуществления 2: Способ по Варианту осуществления 1, в
25 котором эффективное количество липосомы содержит:

(1) тау-фосфопептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28, в количестве 300 мкг до 1800 мкг на дозу;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4 в количестве от 100 мкг до 585 мкг на дозу;

30 (3) хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 75 мкг до 450 мкг на дозу; и

(4) олигонуклеотид CpG в количестве от 150 мкг до 800 мкг на дозу.

[00130] Вариант осуществления 3. Способ по Варианту осуществления 1 или 2, в котором эффективное количество липосомы содержит 300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг на дозу тау-фосфопептида.

5 **[00131]** Вариант осуществления 3а. Способ по Варианту осуществления 1 или 2, в котором эффективное количество липосомы содержит 300 мкг на дозу тау-фосфопептида.

[00132] Вариант осуществления 3б. Способ по Варианту осуществления 1 или 2, в котором эффективное количество липосомы содержит 900 мкг на дозу тау-фосфопептида.

10 **[00133]** Вариант осуществления 3с. Способ по Варианту осуществления 1 или 2, в котором эффективное количество липосомы содержит 1800 мкг на дозу тау-фосфопептида.

[00134] Вариант осуществления 4. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-3с, в котором эффективное количество липосомы вводят
15 подкожно.

[00135] Вариант осуществления 5. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-3с, в котором эффективное количество липосомы вводят внутримышечно.

[00136] Вариант осуществления 6. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-5, в котором олигонуклеотид CpG имеет одну или несколько фосфоротиоатных межнуклеотидных связей, и олигонуклеотид CpG является ковалентно связанным по меньшей мере с одной липофильной группой, необязательно через ПЭГ-линкер.

20 **[00137]** Вариант осуществления 7. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-6, в котором тау-фосфопептид состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28, агонист толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорил гекса-ацил Липид А, 3-деацил, хелперный Т-клеточный эпитоп содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39, олигонуклеотид CpG содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:
25 18, и липосома дополнительно включает по меньшей мере один липид, выбранный из группы, состоящей из 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DMPC), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфорил-3'-рац-глицерина (DMPG) и холестерина.

[00138] Вариант осуществления 8. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-7, в котором иммунный ответ имеет конформационную специфичность против патологического тау-белка, которая со временем увеличивается после первичного введения человеку эффективного количества липосомы, предпочтительно в котором иммунный ответ включает образование специфических IgG антител непосредственно против фТау, предпочтительно образование специфических IgG антител имеет титр анти-фТау IgG по меньшей мере в 50, 60, 70, 80, 90, 100 или больше раз более высокий, чем этот титр после введения контрольного плацебо.

5 **[00139]** Вариант осуществления 9. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-8, в котором иммунный ответ индуцирует переключение класса с образования специфических антител IgM на образование специфических антител IgG, направленных против фТау, с указанием на формирование памяти.

10 **[00140]** Вариант осуществления 10. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-9, в котором иммунный ответ включает иммунный ответ IgG, который предпочтительно распознает фТау чем нефосфорилированный тау-белок, предпочтительно соотношение титра анти-фТау IgG к титру анти-Tau IgG составляет по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или 70.

15 **[00141]** Вариант осуществления 10a. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-10, в котором иммунный ответ IgG против фТау сохраняется со временем.

20 **[00142]** Вариант осуществления 10b. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-10a, в котором иммунный ответ IgG против нефосфорилированного тау-белка со временем становится более низким.

25 **[00143]** Вариант осуществления 11. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-10b, в котором иммунный ответ включает иммунный ответ IgG против обогащенной парной спиральной филаменты (ePHF).

30 **[00144]** Вариант осуществления 12. Способ по Варианту осуществления 11, в котором иммунный ответ IgG имеет титр анти-ePHF IgG по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше раз более высокий, чем титр после введения контрольного плацебо.

[00145] Вариант осуществления 12a. Способ по Вариантам осуществления 11 или 12, в котором иммунный ответ IgG созревает до более сильного

предпочтения для связывания с ePHF, одновременно снижая титры антител к нефосфорилированному тау-белку.

5 [00146] Вариант осуществления 12b. Способ по Вариантам осуществления 11 или 12, в котором иммунный ответ IgG имеет титр IgG по отношению к ePHF более высокий, чем титр IgG по отношению к нефосфорилированного тау-белку.

10 [00147] Вариант осуществления 13. Способ по Вариантам осуществления 11, 12, 12a или 12b, в котором анти-ePHF IgG имеет повышенную avidность связывания с патологическим ePHF тау в течение по меньшей мере 6 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель, 14 недель, 16 недель, 18 недель, 20 недель, 22 недель, 24 недель или дольше после первичного введения эффективного количества липосомы, предпочтительно анти-ePHF IgG имеет индекс avidности по меньшей мере 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 или 0,7.

15 [00148] Вариант осуществления 14. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-13, который дополнительно включает введение субъекту второй дозы эффективного количества липосом через 4 - 12 недель, например, через 8 недель, после первичного введения эффективного количества липосом.

20 [00149] Вариант осуществления 14a. Способ по Варианту осуществления 14, в котором эффективное количество липосомы содержит 300 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй дозы, и вторую дозу вводят субъекту через 8 недель после первичного введения.

25 [00150] Вариант осуществления 14b. Способ по Варианту осуществления 14, в котором эффективное количество липосомы содержит 900 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй дозы, и вторую дозу вводят субъекту через 8 недель после первичного введения.

[00151] Вариант осуществления 14c. Способ по Варианту осуществления 14, в котором эффективное количество липосомы содержит 1800 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй дозы, и вторую дозу вводят субъекту через 8 недель после первичного введения.

30 [00152] Вариант осуществления 15. Способ по любому из Вариантов осуществления 14-14c, в котором иммунный ответ, включающий иммунный ответ IgG против фТау, усиливается после введения второй дозы эффективного количества липосом, предпочтительно образование антител повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или

больше, что измеряют по меньшей мере через 2 недели после введения второй дозы эффективного количества липосом.

[00153] Вариант осуществления 15а. Способ по Варианту осуществления 15, в котором анти-ePHF IgG ответ повышается после введения второй дозы эффективного количества липосом, как измерено, по меньшей мере через 2 недели после введения второй дозы эффективного количества липосом.

[00154] Вариант осуществления 16. Способ по любому из Вариантов осуществления 14-15а, который дополнительно включает введение субъекту третьей дозы эффективного количества липосом через 20 - 28 недель, например, через 24 недели, после первичного введения эффективного количества липосом.

[00155] Вариант осуществления 16а. Способ по Варианту осуществления 16, в котором эффективное количество липосомы содержит 300 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй дозы и третьей дозы, и вторую дозу и третью дозу соответственно вводят субъекту через 8 недель и 24 недели после первичного введения.

[00156] Вариант осуществления 16b. Способ по Варианту осуществления 16, в котором эффективное количество липосомы содержит 900 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй дозы и третьей дозы, и вторую дозу и третью дозу соответственно вводят субъекту через 8 недель и 24 недели после первичного введения.

[00157] Вариант осуществления 16с. Способ по Варианту осуществления 16, в котором эффективное количество липосомы содержит 1800 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй дозы и третьей дозы, и вторую дозу и третью дозу соответственно вводят субъекту через 8 недель и 24 недели после первичного введения.

[00158] Вариант осуществления 17. Способ по любому из Вариантов осуществления 16-16с, в котором иммунный ответ, включающий иммунный ответ IgG против фТау, повышается после введения третьей дозы эффективного количества липосомы, предпочтительно ответ антител повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше, измеряемый по меньшей мере через 2 недели после введения третьей дозы эффективного количества липосом.

[00159] Вариант осуществления 17а. Способ по Варианту осуществления 17, в котором анти-ePHF IgG ответ повышается после введения третьей дозы

эффективного количества липосом, как измерено, по меньшей мере через 2 недели после введения второй дозы эффективного количества липосом.

[00160] Вариант осуществления 18. Способ по любому из Вариантов осуществления 16- 17а, который дополнительно включает введение субъекту четвертой дозы эффективного количества липосом через 44 - 52 недели, например, через 48 недель, после первичного введения эффективного количества липосом.

[00161] Вариант осуществления 18а. Способ по Варианту осуществления 18, в котором эффективное количество липосомы содержит 300 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй, третьей и четвертой дозы, и вторую, третью и четвертую дозы соответственно вводят субъекту через 8 недель, 24 недели и 48 недель после первичного введения.

[00162] Вариант осуществления 18b. Способ по Варианту осуществления 18, в котором эффективное количество липосомы содержит 900 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй, третьей и четвертой дозы, и вторую, третью и четвертую дозы соответственно вводят субъекту через 8 недель, 24 недели и 48 недель после первичного введения.

[00163] Вариант осуществления 18с. Способ по Варианту осуществления 18, в котором эффективное количество липосомы содержит 1800 мкг на дозу тау-фосфопептида как для первичного введения, так и для второй, третьей и четвертой дозы, и вторую, третью и четвертую дозы соответственно вводят субъекту через 8 недель, 24 недели и 48 недель после первичного введения.

[00164] Вариант осуществления 19. Способ по Варианту осуществления 18, в котором иммунный ответ, который включает иммунный ответ IgG против фТау, повышается после введения четвертой дозы эффективного количества липосом, предпочтительно иммунный ответ повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше, что измеряют по меньшей мере через 2 недели, с помощью введения четвертой дозы эффективного количества липосом.

[00165] Вариант осуществления 19а. Способ по Варианту осуществления 19, в котором анти-ePHF IgG ответ повышается после введения четвертой дозы эффективного количества липосом, как измерено, по меньшей мере через 2 недели после введения второй дозы эффективного количества липосом.

[00166] Вариант осуществления 20. Способ индукции стойкого иммунного ответа против фосфорилированного тау-белка (фТау) у субъекта-человека, которому это необходимо, включающий:

- i. внутримышечное введение субъекту первичной вакцины, содержащей эффективное количество липосомы; и
- ii. внутримышечное введение субъекту первой бустерной вакцины, содержащей эффективное количество этой липосомы через 6 - 10 недель после введения первичной вакцины,

в котором:

стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 20 недель после введения первичной вакцины;

липосома содержит:

(1) тау-фосфопептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28, и тау-фосфопептид презентирован на поверхности липосомы;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4, содержащий монофосфорил липид А;

(3) хелперный Т-клеточный эпитоп, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 24, 25 и 26; и

(4) олигонуклеотид CpG, имеющий нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:18 - SEQ ID NO:22; и эффективное количество липосомы содержит:

(1) тау-фосфопептид в количестве от 300 мкг до 1800 мкг на дозу;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4 в количестве от 100 мкг до 585 мкг на дозу;

(3) хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 75 мкг до 550 мкг на дозу, например, от 75 мкг до 450 мкг, от 80 мкг до 540 мкг, от 82,5 мкг до 535 мкг, от 85 мкг до 530 мкг, от 87,5 мкг до 525 мкг или от 90 мкг до 520 мкг на дозу; и

(4) олигонуклеотид CpG в количестве от 100 мкг до 1000 мкг, например, от 150 до 800 мкг, от 125 мкг до 950 мкг, от 150 мкг до 900 мкг, или от 150 мкг до 850 мкг на дозу.

[00167] Вариант осуществления 20а. Способ по Варианту осуществления 20, в котором хелперный Т-клеточный эпитоп имеет аминокислотную

последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 39, 40, 41, 42 и 43.

[00168] Вариант осуществления 20b. Способ по Варианту осуществления 20, в котором хелперный Т-клеточный эпитоп имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17 и 44.

[00169] Вариант осуществления 20с. Способ по любому из Вариантов осуществления 20 – 20b, в котором липидированный олигонуклеотид CpG имеет нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:18 и олигонуклеотид CpG ковалентно связанный по меньшей мере с одним холестерином через линкер.

[00170] Вариант осуществления 20d. Способ по любому из Вариантов осуществления 20 – 20с, в котором первую бустерную вакцину вводят через 8 недель после введения первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 24 недели после введения первичной вакцины.

[00171] Вариант осуществления 20е. Способ по любому из Вариантов осуществления 20 – 20d, который дополнительно включает внутримышечное введение субъекту второй бустерной вакцины, содержащей эффективное количество этой липосомы, через 22 - 26 недель после введения первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 36 недель после введения первичной вакцины.

[00172] Вариант осуществления 20f. Способ по Варианту осуществления 20е, в котором вторую бустерную вакцину вводят через 24 недели после введения первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 48 недель после введения первичной вакцины.

[00173] Вариант осуществления 20g. Способ по Вариантам осуществления 20е или 20f, дополнительно включающий внутримышечное введение субъекту третьей бустерной вакцины, содержащий эффективное количество этой липосомы, через 45 - 50 недель после введения первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 60 недель после введения первичной вакцины.

[00174] Вариант осуществления 20h. Способ по Варианту осуществления 20g, в котором третью бустерную вакцину вводят через 48 недель после введения первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 72 недели после введения первичной вакцины.

[00175] Вариант осуществления 20i. Способ по любому из Вариантов осуществления 20 – 20h, в котором эффективное количество липосомы содержит 300 мкг на дозу тау-фосфопептида.

5 **[00176]** Вариант осуществления 20j. Способ по любому из Вариантов осуществления 20 – 20h, в котором эффективное количество липосомы содержит 900 мкг на дозу тау-фосфопептида.

[00177] Вариант осуществления 20k. Способ по любому из Вариантов осуществления 20 – 20h, в котором эффективное количество липосомы содержит 1800 мкг на дозу тау-фосфопептида.

10 **[00178]** Вариант осуществления 20k1. Способ по любому из Вариантов осуществления 20i – 20k, в котором эффективное количество липосомы содержит от 80 мкг до 540 мкг на дозу хелперного Т-клеточного эпитопа, и от 125 мкг до 950 мкг на дозу олигонуклеотида CpG.

15 **[00179]** Вариант осуществления 20k2. Способ по любому из Вариантов осуществления 20i – 20k, в котором эффективное количество липосомы содержит от 82,5 мкг до 535 мкг на дозу хелперного Т-клеточного эпитопа, и от 125 мкг до 950 мкг на дозу олигонуклеотида CpG.

20 **[00180]** Вариант осуществления 20k3. Способ по любому из Вариантов осуществления 20i – 20k, в котором эффективное количество липосомы содержит от 87,5 мкг до 525 мкг на дозу хелперного Т-клеточного эпитопа, и от 150 мкг до 900 мкг на дозу олигонуклеотида CpG.

25 **[00181]** Вариант осуществления 20k4. Способ по любому из Вариантов осуществления 20i – 20k, в котором эффективное количество липосомы содержит от 85 мкг до 530 мкг на дозу хелперного Т-клеточного эпитопа, и от 150 мкг до 900 мкг на дозу олигонуклеотида CpG.

30 **[00182]** Вариант осуществления 20l. Способ по любому из Вариантов осуществления 20 – 20k4, в котором стойкий иммунный ответ включает иммунный ответ IgG, который предпочтительно распознает фТау, чем нефосфорилированный тау-белок, предпочтительно соотношение титра анти-фТау IgG к титру анти-Тау IgG составляет по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или 70.

[00183] Вариант осуществления 20m. Способ по любому из Вариантов осуществления 20 – 20l, в котором стойкий иммунный ответ включает иммунный ответ IgG против обогащенной парной спиральной филаменты (ePHF), имеющий

титр анти-ePHF IgG по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше раз более высокий, чем титр после введения контрольного плацебо.

[00184] Вариант осуществления 21. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-20m, в котором субъекту необходимо очищение от агрегатов тау.

[00185] Вариант осуществления 22. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-21, в котором субъекту необходимо лечение болезни Альцгеймера, такой как доклиническая болезнь Альцгеймера, болезнь Альцгеймера легкой и умеренной степени или ранняя болезнь Альцгеймера, легкие когнитивные нарушения (MCI) из-за болезни Альцгеймера.

[00186] Вариант осуществления 23. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-21, в котором субъекту необходима профилактики болезни Альцгеймера, такой как доклиническая болезнь Альцгеймера, болезнь Альцгеймера легкой и умеренной степени или ранняя болезнь Альцгеймера, легкие когнитивные нарушения (MCI) из-за болезни Альцгеймера.

[00187] Вариант осуществления 24. Способ по любому из Вариантов осуществления 1-23, в котором иммунный ответ включает антитело против фосфорилированного тау-белка, которое специфически связывает эпитоп, который содержит фосфорилированный Ser396.

[00188] Вариант осуществления 25. Способ по Варианту осуществления 24, в котором указанный эпитоп дополнительно содержит фосфорилированный Ser404.

ПРИМЕРЫ

[00189] Следующие примеры изобретения предназначены для дополнительной иллюстрации природы изобретения. Следует понимать, что следующие примеры не ограничивают изобретение и объем изобретения определяется добавленной Формулой изобретения.

[00190] Экспериментальные способы, использованные в следующих примерах, если не указано иное, являются обычными способами. Все реагенты, используемые в следующих вариантах осуществления, если не указано иное, приобретаются у обычных поставщиков реагентов.

[00191] Во всех последующих примерах АСІ-35.030 представляет собой липосомную композицию в соответствии с вариантами осуществления

изобретения, содержащую фосфорилированный тау-пептид, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, MPLA (3D-(6-ацил) PHAD®), DMPC, DMPG, холестерин, хелперный Т-клеточный эпитоп SEQ ID NO: 13, CpG2006 олигонуклеотид, ковалентно связанный с холестериновой группой через ПЭГ линкер, и буфер, и ACI-35 представляет собой липосомную композицию в соответствии с вариантами осуществления данного изобретения, которая содержит фосфорилированный тау-пептид, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, MPLA, DMPC, DMPG, холестерин и буфер.

Пример 1. Клиническое исследование безопасности и эффективности ACI-35.030 на людях

[00192] Безопасность, переносимость и иммуногенность вакцины ACI-35.030 (ACI-35.030) оценивают в многоцентровом, двойном слепом, рандомизированном, плацебо-контролируемом исследовании клинической фазы 1b/2a, проведенном у пациентов с ранней стадией болезни Альцгеймера (AD) (легкое когнитивное нарушение (MCI) из-за AD или легкая AD) в Европе (исследование ACI-35-1802). См. также номер исследования NCT04445831 на сайте Clinicaltrials.gov. Резюме плана исследования показано на ФИГ. 1.

[00193] Цель: оценить ACI-35.030 в 3 дозах у пациентов с ранней AD (например, легкое когнитивное нарушение (MCI) из-за AD или легкая AD), касательно безопасности и переносимости у пациентов с ранней AD, а также касательно индукции иммунного ответа против аномальной формы тау-белка, включая индукцию анти-фосфо-тау-антител (например, связывающихся с анти-фТау и ePHF тау) в сыворотке крови в течение промежутка времени 74 недели.

[00194] Вторичные цели: Для дальнейшей оценки иммуногенности исследуемых вакцин путем оценки, например, индукции титров IgG против тау и IgM титров против фТау и тау в сыворотке крови; и оценить avidность антител, вызванных иммунизацией, в течение промежутка времени 74 недели.

[00195] Поисковые цели: Исследовать влияние исследуемых вакцин на предполагаемые биомаркеры прогрессирования AD, например, концентрации общего белка тау и фТау в крови и/или спинномозговой жидкости; исследовать влияние испытуемых вакцин на активацию Т-клеток крови; исследовать влияние испытуемых вакцин на воспалительные цитокины крови (например, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ и TNF- α); исследовать влияние испытуемых вакцин на

поведение, когнитивные и функциональные показатели каждого на протяжении 74 недель.

[00196] Способы: Каждая из 3 подкогорт состоит из пациентов, получающих плацебо или различные дозы АСИ-35.030, обозначенных количеством фТау-пептида Т3 в композиции (300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг тетрапальмитоилированного фосфопептида фТау-пептида Т3, SEQ ID NO: 28), в течение 48 недель (введение дозы на неделях 0, 8, 24 и 48), после чего следует 24-недельный период наблюдения.

[00197] Сорок один пациент был рандомизирован в 3 подкогорты для получения АСИ-35.030 или плацебо в каждой группе (соотношение активного вещества/плацебо 3:1). Дозы вводили внутримышечно.

[00198] Оценка безопасности проводилась/проводится немедленно после каждой дозы и через 48 - 72 часа после этого по телефонному звонку для всех исследуемых пациентов. В каждой подкогorte первое введение дозы первым 4 пациентам проводилось/проводится через 48 – 72 часа после проведения оценки безопасности предыдущего пациента, чтобы подтвердить отсутствие клинически значимой проблемы безопасности, связанной с исследуемой вакциной, главным руководителем клинического исследования на месте.

[00199] Все пролеченные пациенты имеют период наблюдения продолжительностью 24 недели после окончания периода лечения. В течение этого периода пациентов просят прийти на первое контрольное посещение через 19 недель после последнего введения и последнее посещение в конце периода наблюдения (через 26 недель после последнего введения). Безопасность пациентов контролируется на протяжении всего исследования с регулярным пересмотром данных по безопасности независимым Советом по мониторингу данных и безопасности (DSMB).

[00200] Промежуточные анализы проводили/ проводят следующим путём:

[00201] Первые промежуточные анализы проводили во всех подкогортах, проведенных в когорте 1, после того, как все субъекты в соответствующих подкогортах завершили визит 4 (10 неделя), то есть через 2 недели после второй инъекции. Целью было пересмотреть данные о безопасности, переносимости и иммуногенности АСИ-35.030 к этому моменту.

[00202] Вторые промежуточные анализы проводили/проводят в подкогортах 1.1, 1.2 и 1.3 после того, как все субъекты в соответствующих

подкогортах завершили посещение 6 (26 неделя), то есть через 2 недели после третьей инъекции. Цель состоит в том, чтобы решить потенциально расширить когорту 1, чтобы собрать дополнительные данные о безопасности/переносимости в дозе, представляющей наиболее благоприятный профиль с точки зрения иммуногенности, безопасности и переносимости.

[00203] Третий промежуточный анализ проводили в конце периода лечения (т.е. через 2 недели после 4-й инъекции). Цель состоит в том, чтобы пересмотреть данные о безопасности/переносимости и иммуногенности к настоящему моменту, включая данные от пациентов с расширением подкогорты, если это возможно. Результаты биомаркеров можно включить в качестве вспомогательных исследовательских данных. Эти результаты сравнивают с результатами, полученными впоследствии для других когорт, чтобы выбрать из всех когорт исследования наилучшую стратегию для дальнейшей клинической разработки.

[00204] Четвертый промежуточный анализ проводили/проводят в конце периода наблюдения, то есть после того, как все пациенты когорты 1 завершили визит 11 (Неделя 74). Цель такая же, как и в четвертом промежуточном анализе, а результаты впоследствии сравнивают во всех когортах.

[00205] Исследуемая популяция в возрасте 50-75 лет (мужчины и женщины) с диагнозом AD легкой степени или MCI вследствие AD по критериям NIA-AA.

[00206] Критерии включения следующие:

1. Мужчины и женщины от 50 до 75 лет включительно.

2. Легкое когнитивное нарушение (MCI) из-за AD или легкая AD в соответствии с критериями NIA-AA и глобальной шкалы оценки клинической деменции (CDR) 0,5 или 1.

3. Оценка минимального обследования психического состояния (MMSE) 22 или выше.

4. Уровни бета-42 амилоида спинномозговой жидкости (A β 42) и фосфорилированного тау во время скрининга соответствуют критериям NIA-AA 2018 для патологии AD. В граничных случаях для уровней A β 42 в спинномозговой жидкости могут быть рассмотрены другие результаты, которые помогут определить положительный амилоид, например, соотношение A β 42/A β 40 и, в каждом конкретном случае, анамнез положительного ПЭТ-сканирования амилоида или положительного уровня A β 42 в спинномозговой

жидкости. Результаты взятия образцов спинномозговой жидкости, проведенного в течение 3 месяцев до скрининга, приемлемы в каждом конкретном случае при условии, что они соответствуют наличию амилоидной патологии и что соответствующий образец спинномозговой жидкости можно использовать в исследовании для тестирования.

5 Пациенты либо не принимают какие-либо препараты для лечения АД, либо получают стабильную дозу ингибитора ацетилхолинэстеразы и/или мемантина в течение не менее 3 месяцев до определения исходного уровня.

10 6. Пациенты находятся под надзором надежного информатора или опекуна для обеспечения соответствия, помощи по клиническим оценкам и сообщения о проблемах безопасности.

15 7. Женщины должны находиться в постменопаузе не менее одного года и/или быть хирургически стерилизованными. Женщины детородного возраста или не в постменопаузе должны иметь отрицательный тест на беременность во время скрининга и готовы использовать высокоэффективные методы контрацепции в период от скринингового визита до конца их участия в исследовании. Повторный анализ мочи на беременность будет проводиться в течение всего периода лечения, чтобы определить, может ли субъект продолжать получать исследуемую вакцину. Пациенты мужского пола с партнерами 20 детородного возраста должны быть готовы использовать средства контрацепции во время периода исследования.

8. Пациент, который, по мнению исследователя, способен понять и дать письменное информированное согласие.

25 9. Пациенты и информаторы или опекуны должны свободно владеть одним из языков исследования и уметь выполнять все процедуры исследования, включая люмбальные пункции.

[00207] Критерии исключения следующие:

30 1. Участие в предварительных клинических испытаниях АД и/или неврологических расстройств с применением активной иммунизации, если нет задокументированных доказательств того, что пациента лечили только плацебо, и не ожидается, что препарат плацебо повлечет за собой какой-либо специфический иммунный ответ.

2. Участие в предварительных клинических испытаниях АД и/или неврологических расстройств с использованием любой пассивной иммунизации

в течение последних 6 месяцев (или 5 периодов полураспада исследуемого антитела, в зависимости от того, что дольше) до скрининга, если нет задокументированных доказательств того, что субъект лечился только плацебо, но не ожидается, что плацебо повлечет за собой любой специфический иммунный ответ.

3. Участие в предварительных клинических испытаниях АД и/или неврологических расстройств с применением каких-либо низкомолекулярных препаратов, включая ингибиторы ВАСЕ-1, за последние 3 месяца перед скринингом.

4. Одновременное участие в любом другом клиническом испытании с использованием экспериментальных или одобренных лекарств или терапии.

5. Наличие положительных титров антинуклеарных антител (ANA) в разведении не менее 1/160 у пациентов без клинических симптомов аутоиммунного заболевания.

6. Аутоиммунное заболевание или клинические симптомы на момент испытаний или в анамнезе, соответствующие наличию аутоиммунного заболевания.

7. Подавление иммунитета, включая, но не ограничиваясь приведенными, использование иммунодепрессантов или системных стероидов, если они не были временно назначены более чем за 3 месяца до скрининга.

8. Тяжелая аллергическая реакция (например, анафилаксия), включая, но не ограничиваясь, серьезную аллергическую реакцию на предыдущие вакцины и/или лекарства в анамнезе.

9. Клинически значимые эпизоды гипогликемии в анамнезе.

10. Злоупотребление наркотиками либо алкоголем либо зависимость, которая сейчас либо в течение последних пяти лет соответствует критериям Диагностического и статистического пособия по психическим расстройствам-V (DSM-V).

11. Любое клинически значимое медицинское состояние, которое может препятствовать оценке безопасности и переносимости исследуемого лечения и/или соблюдению полного исследовательского графика визитов.

12. Любое клинически значимое медицинское состояние, которое может повлиять на иммунную систему и/или потенциально ухудшить эффективность

иммунизации исследуемой вакцины у пациентов (например, любое приобретенное или врожденное иммунодепрессивное расстройство в анамнезе).

13. Применение гидролазина, прокаинамида, хинидина, изониазида, ингибиторов TNF, миноциклина в течение последних 12 месяцев перед скринингом.

14. Применение дилтиазема за исключением стабильной дозы не менее чем за 3 месяца до скрининга.

15. Значителен риск самоубийства, определенный с помощью Колумбийской шкалы тяжести суицида, как субъект, ответивший «да» на вопрос 4 или 5 о суицидальных мыслях или ответивший «да» на суицидальное поведение в течение последних 12 месяцев.

16. Сопутствующие психиатрические или неврологические расстройства, кроме тех, которые считаются связанными с АД (например, травма головы с потерей сознания, симптоматический инсульт, болезнь Паркинсона, тяжелая окклюзионная болезнь, ТИА).

17. Неконтролируемые судороги в период испытания или в анамнезе. Если в анамнезе были судороги, то их необходимо хорошо контролировать, чтобы судороги не возникали в течение 2 лет до определения исходного уровня. Разрешается применение противосудорожных препаратов в стабильной дозе в течение по меньшей мере 3 месяцев до скрининга.

18. Менингоэнцефалит в анамнезе в течение последних 10 лет до скрининга.

19. Пациенты с геморрагическим и/или негеморрагическим инсультом в анамнезе.

20. Периферическая нейропатия в период испытания или в анамнезе.

21. Воспалительные неврологические нарушения с возможным поражением ЦНС в анамнезе.

22. Скрининговое МРТ-сканирование, демонстрирующее структурные доказательства альтернативной патологии, не отвечающей АД, что может привести к симптомам пациента. Доказательства объемных новообразований, кроме доброкачественной менингиомы, диаметром менее 1 см, более двух лакунарных инфарктов или одного отдельного инфаркта размером более 1 см в диаметре или любой отдельный участок поверхностного сидероза или признаки предварительного макрокровотечения ≥ 10 мм. Микрокровоотечения на МРТ T2* допускаются максимум до 10, независимо от локализации.

23. МРТ-исследование нельзя проводить по какой-либо причине, включая, но не ограничиваясь, металлические имплантаты, противопоказанные для МРТ-исследований, и/или тяжелую клаустрофобию.

24. Значительные нарушения слуха или зрения или другие проблемы, которые, по мнению исследователя, препятствуют соблюдению протокола и оценке результатов.

25. Клинически значимые инфекции или обширные хирургические операции в течение 3 месяцев до скрининга. Планируемое хирургическое вмешательство, ожидаемое при участии в исследовании, должно быть рассмотрено и одобрено медицинским монитором во время скрининга.

26. Любая вакцина, полученная за последние 2 недели перед определением исходного уровня, включая вакцину против гриппа.

27. Клинически значимые аритмии или другие клинически значимые нарушения ЭКГ во время скрининга.

28. Инфаркт миокарда в течение одного года до определения начального уровня, нестабильная стенокардия или значительное заболевание коронарной артерии.

29. Пациенты с раковым заболеванием в анамнезе в течение последних 5 лет, кроме пролеченной плоскоклеточной карциномы, базальноклеточной карциномы и меланомы *in situ* или рака предстательной железы *in situ* или рака молочной железы *in situ*, которые были полностью удалены и считаются вылеченными.

30. По мнению исследователя, клинически значимые отклонения от нормальных значений гематологических параметров, тестов функции печени и других биохимических показателей, которые считаются клинически значимыми.

31. Беременные пациентки, подтвержденные анализом сыворотки во время скрининга, или планируют беременность или кормление грудью.

32. Пациенты, получающие любые антикоагулянты или антиагреганты, кроме аспирина в дозах менее 100 мг/сутки (во избежание риска кровотечения во время плановой или внеплановой люмбальной пункции).

33. Пациенты, получающие антипсихотические препараты, кроме тех, кто принимает стабильные низкие дозы для лечения бессонницы.

34. Пациенты, которые сдавали кровь или продукты крови в качестве донора в течение 30 дней до скрининга или планируют сдать кровь в качестве доноров в период участия в исследовании.

35. Положительный результат в VDRL (лаборатория исследования венерических заболеваний), отвечающий активному сифилису во время скрининга.

36. Пациенты с позитивным результатом на ВИЧ во время скрининга.

37. Пациенты с активным гепатитом В и/или С по результатам тестирования во время скрининга.

38. Пациенты с уровнем креатинина, превышающим верхний предел нормы в 1,5 раза, аномальными показателями функции щитовидной железы или клинически значимым снижением уровней В12 или фолиевой кислоты в сыворотке крови (примечание: все пероральные дозы гормонозамещающих препаратов щитовидной железы, В12 или фолиевой кислоты должны быть стабильными в течение по меньшей мере 3 месяцев до скрининга).

[00208] Демографические данные пациентов:

[00209] Исследование продолжается. Демографические данные пациентов для подкогорт 1.1 и 1.2 (на конечную дату – конец сентября 2021 г.) суммированы в Таблице 1.

[00210] Таблица 1

	Подкогорта 1.1	Подкогорта 1.2
Возраст (годы) {интервал}	65,3 {61-75}	65 {51-71}
Пол (Ж/М)	5/3	4/4
MMSE (Средн.) {Интервал}	26,3 {22/29}	26,4 {24/29}
Этничность	Все пациенты белой расы, не испанцы	

[00211] Результаты/заключение:

[00212] Оценивают/оценивают следующие первичные конечные точки:

[00213] Безопасность и переносимость – побочные явления, немедленная и отсроченная реактогенность (например, анафилаксия, местная и системная реактогенность, включая боль, покраснение, заболевание иммунного комплекса, отек, лихорадку); глобальная оценка переносимости; суицидальные мысли (C-SSRS); поведение (NPI); когнитивные и функциональные оценки (RBANS, CDR-SB) для оценки безопасности; жизненно важные показатели; МРТ исследования; электрокардиограмма; плановое гематологическое и биохимическое

исследование крови и мочи; оценка аутоиммунных антител, включая анти-ДНК антитела в крови; маркеры воспаления в крови и спинномозговой жидкости.

5 [00214] Иммунный ответ – титры анти-фТау IgG в сыворотке крови (среднее геометрическое, изменение от исходного уровня, частота позитивных ответов на лечение, пик и площадь под кривой).

[00215] Оценивали/оценивают следующие вторичные (вспомогательные) конечные точки:

10 [00216] Иммунный ответ – титры анти-тау IgG, анти-фТау IgM, анти-ePHF IgG и анти-тау IgM в сыворотке (среднее геометрическое, изменение от исходного уровня, частота позитивных ответов на лечение, пик и площадь под кривой), определение профиля ответа IgG путем тестирования на авидность.

[00217] Оценивали/оценивают следующие исследовательские конечные точки:

15 [00218] Изменение титров биомаркеров в крови и/или спинномозговой жидкости (например, общий белок Тау и фТау), изменение уровня активации Т-клеток в крови по сравнению с исходным уровнем, изменение титров воспалительного цитокина (например, IL-1B, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ и TNF- α) в крови, изменения показателей суицидальных мыслей (C-SSRS), поведения (NPI), когнитивных и функциональных показателей (RBANS, CDR-SB)
20 по сравнению с исходным уровнем.

[00219] Исследование продолжается. Три (3) подкогорты получили ACI-35.030 в дозе 300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг тетрапальмитоидного фосфопептида фТау-пептида Т3 (SEQ ID NO: 28) и плацебо, как в Таблице 2.

[00220] Таблица 2: План клинического исследования.

Когорта	Подкогорта	Исследуемое лечение	Доза (Т3 пептид мкг)	Количество субъектов с ранней ДА	Путь введения
1	1.1	ACI-35.030	300 мкг	6	Внутримышечный (в.м.)
		Плацебо (физиол. солев. раствор)	0 мкг	2	
	1.2	ACI-35.030	900 мкг	18 или 19	
		Плацебо (физиол. солев. раствор)	0 мкг	6 или 7	
	1.3	ACI-35.030	1800 мкг	6	
		Плацебо (физиол. солев. раствор)	0 мкг	2	

25 1. Доза вводится 4 раза со следующими интервалами: Неделя 0, 8, 24 и 48 для каждой подкогорты

2. Образцы крови для определения антител отобраны в следующие моменты времени: Скрининг, Недели 0 (перед дозировкой), 2, 8, 10, 15*, 20*, 24, 26, 31*, 36, 42*, 48, 50, 67 и 74. (*): добавлены дополнительные временные точки для отдельных пациентов; (#) Включает МСI из-за АД, а также пациентов с легкой формой АД

3. Примечание: в подкогорте 1.2 имеется 25 человек, получавших лечение АСИ-35.030 или плацебо. Исследование является все еще слепым.

[00221] Промежуточные Результаты безопасности и переносимости по состоянию на предельную дату 20 июня 2022 г. показали, что для АСИ-35.030 не выявлено никаких проблем с безопасностью или переносимостью. Среди подкогорты 1.1, 1.2 и 1.3 в когорте 1 не было изъятий из-за нежелательных явлений. Кроме того, пациенты, обследованные на сегодняшний день, не обнаружили воспаления ЦНС или других значительных изменений, выявляющихся на МРТ.

[00222] Повышенный титр анти-фТау-специфического IgG на 2 недели после введения АСИ-35.030 относительно исходного уровня наблюдался в сыворотке 100% пациентов после первого введения 300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг тетрапальмитоилированного фосфопептида фТау-пептида Т3 (SEQ ID NO: 28). Этот ответ анти-фТау IgG показал предпочтение фТау по сравнению с нефТау-пептидом у всех пациентов, активно лечившихся на ранних стадиях АД, и ответ антител был усилен дополнительными введениями АСИ-35.030, как показано увеличением анти-фТау-специфических IgG титров и/или повышенными титрами анти-ePHF IgG, измеренными через 2 недели после дополнительных введений АСИ-35.030. Никакой реакции антител у субъектов, получавших плацебо, не наблюдалось, за исключением одного ограниченного повышения титров IgM и IgG анти-фТау после периода исследуемого лечения на 67-ой неделе у одного пациента в подкогорте 1.2, получавшего плацебо, для которого ответы были близки к порогу, установленному для определения пациента, у которого достигнут лечебный эффект.

[00223] *Анти-фТау IgG ответ АСИ-35.030 у людей*

[00224] Специфические реакции антител IgG, направленные против фосфорилированного Тау-пептида (фТау), индуцированного вакциной АСИ-35.030, в трех подкогортах Таблицы 2 измеряли с помощью MSD.

[00225] В Таблице 3 показаны титры анти-фТау IgG и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью или АСИ-35.030 в дозе 300 мкг тетрапальмитоилированного фосфопептида фТау-пептида Т3 (АСИ-35.030 300 мкг) или плацебо в подгруппе 1.1.

5 [00226] Таблица 3

Группы лечения (количество субъектов)	Подгруппа 1.1			
	АСИ-35.030 300 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [†]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [†]
Исходный уровень П Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2048 (2,05) 939; 7980 1155; 3632	-	744 (1,56) 544; 1018 402; 1376	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	80292 (2,59) 27300; 336000 37517; 171835	6/6	732 (1,29) 613; 875 517; 1038	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	49361 (3,27) 9880; 119000 19121; 127425	6/6	744 (1,35) 602; 920 491; 1128	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	110984 (4,8) 12900; 864000 31649; 389197	6/6	633 (1,50) 475; 843 361; 1110	0/2
Неделя 24 * Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	- - -	-	- - -	-
Неделя 26 * Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	- - -	-	- - -	-
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	8207 (3,07) 1540; 30000 3347; 20124	4/6	209 (2,84) 100; 437 49; 887	0/2
Неделя 48 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2397 (4,13) # 246; 10400 771; 7448	-	#	-
Неделя 50 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	13514 (21,84) 216; 490000 1146; 159367	-	#	-

Неделя 67 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	5030 (5,66) # - 1256; 20142	NA	#	NA
Неделя 74 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	4017 (4,76) # - 1152; 14008	NA	#	NA

* Из-за пандемии Covid-19 7/8 пациентов не получили иммунизацию АСИ-35.030 (доза 300 мкг) или плацебо на 24-й неделе, поэтому данные n=1 не были предоставлены, чтобы избежать потенциального раскрытия. Кроме того, на 26-й неделе забор крови не проводился.

Для подкогорты 1.1 данные недель 48, 50, 67 и 74 объединяют между активным ингредиентом и плацебо, чтобы избежать потенциального раскрытия после изъятия 2 субъектов из исследования.

NA = Данные пока еще не доступны

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как субъект с иммунным ответом, превышающим порог позитивности. Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-фТау IgG $\geq 1,81 \times$ исходный уровень.

▮ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции.

[00227] В Таблице 4 суммированы титры анти-фТау IgG и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью или АСИ-35.030 в дозе 900 мкг тетрапальмитоилированного фосфопептида фТау-пептида Т3 (АСИ-35.030 900 мкг) или плацебо в подкогорте 1.2.

[00228] Таблица 4

Группы лечения (количество субъектов)	Подкогорта 1.2			
	АСІ-35.030 900 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]
Исходный уровень П Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1079 (1,93) 542; 3155 637; 1828	-	778 (1,00) 776; 780 774; 781	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	321012 (6,81) 55600; 9990000 69198; 1489177	6/6	850 (1,10) 797; 907 749; 965	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	141063 (4,52) 26600; 1730000 42200; 471528	6/6	920 (1,00) 918; 922 916; 924	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	272400 (2,97) 81800; 1510000 114118; 650220	6/6	673 (1,38) 535; 847 429; 1056	0/2
Неделя 24 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	44635 (2,85) 12400; 221000 19335; 103040	6/6	934 (1,34) 759; 1150 622; 1404	0/2
Неделя 26 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	113771 (1,96) 33500; 234000 66338; 195121	6/6	1064 (1,08) 1010; 1120 961; 1177	0/2
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	46785 (2,31) 12000; 137000 23966; 91329	6/6	911 (1,08) 864; 961 821; 1011	0/2
Неделя 48 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	29963 (2,21) 8270; 80300 15908; 56435	6/6	812 (1,13) 743; 887 682; 966	0/2
Неделя 50 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	59710 (1,84) 31000; 153000 36666; 97237	6/6	697 (1,32) 574; 847 476; 1021	0/2
Неделя 67 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	24727 (2,00) 11200; 56600 14175; 43134	6/6	1102 (1,47) 838; 1450 644; 1887	1/2
Неделя 74 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	21991 (2,08) 8720; 52900 12264; 39434	6/6	1187 (1,10) 1110; 1270 1041; 1355	0/2

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как субъект с иммунным ответом, превышающим порог позитивности. Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-фТау IgG $\geq 1,81 \times$ исходный уровень.

□ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до даты и времени первой инъекции.

[00229] В Таблице 5 суммированы титры анти-фТау IgG и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью или АСИ-35.030 в дозе 1800 мкг тетрапальмитоилированного фосфопептида фТау-пептида Т3 (АСИ-35.030 1800 мкг) или плацебо в подкогорта 1.3.

15 [00230] Таблица 5

Группы лечения (количество субъектов)	Подкогорта 1.3			
	АСИ-35.030 1800 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]
Исходный уровень □ Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	676 (1,55) 421; 1130 476; 961	-	866 (1,04) 841; 892 817; 917	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	187981 (2,22) 71600; 438000 99157; 356371	6/6	772 (1,09) 726; 820 685; 869	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	66036 (2,03) 17000; 116000 37536; 116175	6/6	719 (1,24) 619; 835 536; 964	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	135520 (2,21) 32700; 337000 71680; 256219	6/6	748 (1,07) 715; 782 685; 816	0/2
Неделя 24 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	19853 (2,32) 4890; 41100 38983; 10111	6/6	946 (1,19) 837; 1070 744; 1204	0/2

Неделя 26 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	60105 (2,82) 21100; 211000 26254; 137604	6/6	1070 (1,3) 887; 1290 741; 1544	0/2
Неделя 31 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	30328 #	100% #	NA	NA
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	19811 (2,57) 5450; 42000 9322; 42099	6/6	530 (1,20) 466; 602 412; 681	0/2
Неделя 42 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	15349 (2,44) 4440; 30200 7521; 31327	6/6	712 (1,71) 487; 1040 338; 1497	0/2
Неделя 48 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	10848 #	100% #	NA	NA
Неделя 50 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	63736 #	100% #	NA	NA
Неделя 67 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	NA	NA	NA	NA
Неделя 74 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	NA	NA	NA	NA

NA = Данные пока еще не доступны

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как количество субъектов с иммунным ответом, превышающим порог позитивности.

5 Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-фТау IgG $\geq 1,81 \times$ исходный уровень.

10 □ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до даты и времени первой инъекции.

Для подкогорты 1.3, данные в недели 31, 48 и 50 от субъектов, которые находятся на активном лечении, объединяются, чтобы избежать потенциального раскрытия.

[00231] Как показано результатами в Таблицах 3, 4 и 5, а также на ФИГУРАХ 2 и 6, иммунизация с помощью АСИ-35.030 при каждом из уровней дозы 300 мкг, 900 мкг и 1800 мкг индуцировала ответ анти-фТау IgG, направленный против пептида Т3.5, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28. Все пациенты, которые получали АСИ-35.030 в дозе 300 мкг, имели позитивный ответ на лечения между недель 2 и 10, и 66,7% из них имели позитивный ответ на лечение на неделе 36, тогда как предыдущая инъекция на неделе 24 не была проведена у 7/8 субъектов в подкогорте из-за пандемии Covid-19. Чтобы избежать потенциального раскрытия исследования, процент пациентов, которые имели позитивный ответ на лечение после 36 недели в подкогорте 1, на данный момент не сообщается. Все пациенты, которые получали АСИ-35.030 в дозе 900 мкг, имели позитивный ответ на лечение во все временные точки между недель 2 и недель 74, тогда как 1 пациент, который получал плацебо, имел ограниченный ответ анти-фТау IgG на 67-ой неделе (после периода лечения) (1,9 x исходный уровень) только немного выше порогового значения (1,81 x исходный уровень), установленного для определения пациентов, которые имеют позитивный ответ на лечение. Все субъекты, которые получали лечение АСИ-35.030 в дозе 1800 мкг, имели позитивный ответ на лечение во все моменты времени между недель 2 и недель 50, тогда как ни один пациент, получавший плацебо, не показав ответ на лечение анти-фТау IgG до 42 недели.

[00232] Высокая частота позитивных ответов на лечение наблюдалась уже через 2 недели после вакцинации у пациентов, которые получали 300 мкг или 900 мкг АСИ-35.030. В общем, высокая частота позитивных ответов на лечение наблюдалась после первой вакцинации и после всех вакцинаций. При дозе 900 мкг АСИ-35.030 была 100% частота позитивных ответов на лечение фосфорилированным тау при анализе в любой момент времени исследования от 2 до 74 недели. Частота позитивных ответов на лечение патологической ePHF в дозе 900 мкг АСИ-35.030 колеблется от 66,7% до 100% в любой момент времени в течение периода лечения между 2-ой и 48-ой неделями и от 50% до 100% в любой момент времени после периода лечения с 50-ой по 74-ой недели. Кроме

того, наблюдалось быстрое переключение класса от IgM до IgG у пациентов, которые получали 300 мкг или 900 мкг АСИ-35.030. Результат общих показателей ответа для подкогорт 1.1, 1.2 и 1.3, обработанных с помощью 300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг АСИ-35.030 соответственно, представлен в Таблице 6.

5 [00233] Таблица 6

	Подкогорта 1.1 (300 мкг (в.м.))				
	Неделя 2	Неделя 10	Неделя 26	Неделя 50	Неделя 74
Анти-гау IgG	83,3%	33,3%	NA	NA	NA
анти-фТау IgG	100%	100%	NA	NA	NA
анти-ePHF IgG	66,7%	83,3%	NA	NA	NA
	Подкогорта 1.2 (900 мкг (в.м.))				
	Неделя 2	Неделя 10	Неделя 26	Неделя 50	Неделя 74
Анти-гау IgG	83,3%	100%	50%	16,7%	16,7%
Анти-фТау IgG	100%	100%	100%	100%	100%
Анти-ePHF IgG	100%	100%	100%	100%	50%
	Подкогорта 1.3 (1800 мкг (в.м.))				
	Неделя 2	Неделя 10	Неделя 26	Неделя 50	Неделя 74
Анти-гау IgG	83,3%	66,7%	50%	80%	NA
Анти-фТау IgG	100%	100%	100%	100%	NA
Анти-ePHF IgG	66,7%	83,3%	66,7%	80%	NA

Пациенты, имеющие позитивный ответ на лечение, определялись как субъекты с иммунным ответом, выше порога положительности, то есть значение перед лечением (исходный титр антител), умноженное на пороговый коэффициент ($> \sim 2x$). Любой постисходный результат, больший или равный этому значению, определяет положительный ответ антител. Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции. В частности, пациент, имеющий позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-Тау IgG $\geq 3,38$ x исходный уровень, титры анти-фТау IgG $\geq 1,81$ x исходный уровень и/или титры анти-ePHF IgG $\geq 2,21$ x исходный уровень. NA = Данные пока еще не доступны.

[00234] В общем, каждая дополнительная иммунизация на 8, 24 или 48-й неделях при уровнях дозы 300 и 900 мкг приводила к усилению ответа анти-фТау IgG, как показано повышением титров анти-фТау-специфического IgG, измеренных через 2 недели после проведения дополнительной иммунизации на неделе 10, 26 и 50 соответственно (ФИГ. 2 и 6). Дополнительная иммунизация на неделе 8, 24 и 48 с уровнем дозы 1800 мкг также привела к усилению ответа анти-фТау IgG, о чем свидетельствует повышение титров анти-фТау-

специфического IgG, измеренных через 2 недели после введения дополнительной иммунизации в неделю 10, 26 и 50 (ФИГУРЫ 4 и 7).

Анти-фТау IgM ответ АСІ-35.030 у людей

5 [00235] Специфические реакции антител IgM, направленные против фосфорилированного Тау-пептида, индуцированные вакциной АСІ-35.030, в трёх подкогортах Таблицы 2 измеряли с помощью MSD. Титры анти-фТау IgM и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью АСІ-35.030 в дозе 300 мкг или плацебо в подкогорте 1.1 представлены в Таблице 7.

10 [00236] Таблица 7

Группы лечения (количество субъектов)	Подкогорта 1.1			
	АСІ-35.030 300 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение *	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение *
Исходный уровень II Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	355 (2,66) 111; 1720 162, 777	-	442 (1,16) 397; 492 358, 545	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	25952 (2,66) 8690; 92200 11859, 56794	6/6	459 (1,31) 380; 555 317, 666	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	3667 (2,44) 1140; 14500 1795, 7489	6/6	400 (1,23) 346; 462 301, 531	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	4437 (1,84) 2070; 11300 2723, 7229	6/6	421 (1,25) 361; 492 311, 571	0/2
Неделя 24 * Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	- - -	-	- - -	-
Неделя 26 * Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	- - -	-	- - -	-
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	806 (2,44) 187; 2560 394, 1648	3/6	365 (1,27) 309; 431 263, 506	0/2

Неделя 48 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	625 (2,04) # 308; 2150 353, 1106	-	#	-
Неделя 50 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2138 (4,16) # 293; 10600 684, 6681	-	#	-
Неделя 67 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1049 (3,03) # - 432; 2547	NA	#	NA
Неделя 74 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1077 (2,91) # - 458; 2534	NA	#	NA

* Из-за пандемии Covid-19 7/8 пациентов не получили иммунизацию ACI-35.030 (доза 300 мкг) или плацебо на 24-й неделе, поэтому данные n=1 не были предоставлены, чтобы избежать потенциального раскрытия. Кроме того, на 26-й неделе забор крови не проводился.

Для подгруппы 1.1 данные недель 48, 50, 67 и 74 объединяют между активным ингредиентом и плацебо, чтобы избежать потенциального раскрытия после изъятия 2 субъектов из исследования.

NA = Данные пока еще не доступны

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как субъект с иммунным ответом, превышающим порог позитивности. Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-фТау IgG $\geq 2,11 \times$ исходный уровень.

▮ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции.

[00237] В Таблице 8 показаны титры анти-фТау IgM и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью ACI-35.030 в дозе 900 мкг или плацебо в подгруппе 1.2.

[00238] Таблица 8

Группы лечения (количество субъектов)	Подкогорта 1.2			
	АСI-35.030 900 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение *	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение *
Исходный уровень П Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	200 (2,23) 50; 448 105, 379	-	82 (2,01) 50; 134 31, 215	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	29736 (2,14) 14000; 117000 16155, 54736	6/6	80 (1,94) 50; 128 32, 201	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	6157 (1,94) 2730; 18300 3629, 10446	6/6	84 (2,08) 50; 141 30, 232	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	8546 (1,78) 3430; 17100 5394, 13540	6/6	84 (2,09) 50; 142 30, 234	0/2
Неделя 24 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2375 (1,68) 1690; 6390 1565, 3605	6/6	96 (2,53) 50; 186 27, 349	0/2
Неделя 26 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	5317 (2,09) 2020; 10200 2952, 9576	6/6	90 (2,31) 50; 163 28, 287	0/2
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	3111 (2,48) 816; 7770 1502; 6445	6/6	78 (1,88) 50; 122 33; 187	0/2
Неделя 48 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1728 (2,32) 510; 4310 882; 3386	6/6	77 (1,85) 50; 119 33; 180	0/2
Неделя 50 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	4228 (2,95) 1420; 23900 1779; 10048	6/6	71 (1,64) 50; 101 36, 142	0/2
Неделя 67 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1746 (3,07) 414; 6220 712; 4282	6/6	164 (5,34) 50; 535 16; 1669	1/2
Неделя 74 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1471 (2,65) 461; 4540 674; 3209	6/6	106 (2,88) 50,0; 223,0 24; 457	0/2

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как субъект с иммунным ответом, превышающим порог позитивности. Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-фТау IgG $\geq 2.11 \times$ исходный уровень.

□ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции.

[00239] В Таблице 9 показаны титры анти-фТау IgM и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью ASI-35.030 в дозе 1800 мкг или плацебо в подкогорте 1.3.

[00240] Таблица 9

Группы лечения (количество субъектов)	Подкогорте 1.3			
	АСI-35.030 1800 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]
Исходный уровень □ Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	369 (1,64) 224; 842 248; 548	-	504 (1,96) 313; 812 198; 1283	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	20464 (4,21) 5240; 180000 6475; 64676	6/6	491 (1,96) 306; 788 194; 1241	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	4937 (4,01) 1410; 48600 1625; 14995	6/6	422 (1,90) 268; 665 173; 1029	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	7673 (2,73) 2080; 31200 3434; 17145	6/6	473 (1,94) 296; 757 189; 1188	0/2
Неделя 24 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2758 (2,38) 1290; 13700 1380; 5513	6/6	710 (3,05) 323; 1560 152; 3322	0/2
Неделя 26 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	7950 (2,47) 2920; 30900 3858; 16384	6/6	800 (2,73) 393; 1630 199; 3226	0/2

Неделя 31 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	4061 #	100% #	NA	NA
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2906 (2,25) 1360; 13100 1517; 5569	6/6	327 (3,32) 140; 765 62; 1729	0/2
Неделя 42 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2298 (2,29) 1020; 10800 1183; 4462	6/6	397 (2,43) 212; 745 116; 1362	0/2
Неделя 48 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2363 #	100%	NA	NA
Неделя 50 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	8509 #	100%	NA	NA
Неделя 67 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	NA	NA	NA	NA
Неделя 74 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	NA	NA	NA	NA

NA = Данные пока еще не доступны

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как количество субъектов с иммунным ответом, превышающим порог позитивности.

5 Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-фТау IgG $\geq 2,11 \times$ исходный уровень.

10 □ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции.

Для подкогорты 1.3, данные в недели 31, 48 и 50 от субъектов, которые находятся на активном лечении, объединяются, чтобы избежать потенциального раскрытия.

15

[00241] Как показано по результатам Таблиц 7-9, иммунизация пациентов с ранним АД с помощью АСИ-35.030 в каждой из доз 300 мкг, 900 мкг и 1800 мкг индуцировала ответ анти-фТау IgM к 10 неделе, направленный против Т3.5 пептида, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28. Все пациенты, получавшие АСИ-35.030, имели ответ на лечение, тогда как ни один пациент, получавший плацебо, не генерировал ответа анти-фТау IgM, за исключением 1 субъекта на 67-й неделе (после периода лечения), у которого был только ограниченный ответ анти-фТау IgM несколько выше порогового значения, установленного для определения пациента, имевшего ответ на лечение. Вместе с снижением ответа анти-фТау IgM до 8-й недели и ответа антител анти-фТау IgG, измеренного со 2-й недели, свидетельствует о том, что АСИ-35.030 индуцировал переключение класса с IgM на IgG.

[00242] *Специфичность против фТау по сравнению с Тау (не-фТау)*

[00243] См. ФИГ. 3 и 5 для титров IgG против нефосфорилированного Тау (титры анти-Тау IgG), индуцированных разными дозами АСИ-35.030 или плацебо в течение длительного времени. Специфичность ответа антител IgG, индуцированного иммунизацией АСИ-35.030, в трёх подгруппах Таблицы 2 касательно связывания с фТау по сравнению с Тау (где ответ на Тау представляет собой ответ на не-фТау) измеряли как соотношение ответов анти-фТау IgG / анти-Тау IgG в течение определенного периода времени. В Таблице 10 приведены титры анти-тау IgG и частота позитивных ответов на лечение (ИТТ популяция) после иммунизации с помощью АСИ-35.030 в дозе 300 мкг или плацебо в подгруппе 1.1.

[00244] Таблица 10

Группы лечения (количество субъектов)	Подгруппа 1.1			
	АСИ-35.030 300 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]
Исходный уровень П Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	375 (1,39) 295; 705 287, 489	-	154 (1,50) 116; 206 88, 271	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2609 (2,95) 723; 15400 1099, 6197	5/6	147 (1,20) 129; 167 114, 189	0/2

Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1065 (2,5) 385; 5200 512, 2214	2/6	152 (1,54) 112; 206 84, 276	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1509 (2,87) 524; 9340 649, 3505	2/6	192 (1,16) 173; 213 157, 235	0/2
Неделя 24 * Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	- - -	-	- - -	-
Неделя 26 * Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	- - -	-	- - -	-
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	523 (1,61) 288; 1130 358, 764	1/6	158 (1,76) 106; 235 72, 344	0/2
Неделя 48 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	303 (2) # 123; 572 186, 493	-	#	-
Неделя 50 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	532 (3) # 102; 2310 217, 1305	-	#	-
Неделя 67 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	297 (1,99) # - 171; 514	NA	#	NA
Неделя 74 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	265 (2,46) # - 129; 544	NA	#	NA

* Из-за пандемии Covid-19, 7/8 пациентов не получили иммунизацию ACI-35.030 (доза 300 мкг) или плацебо на 24-й неделе, поэтому данные n=1 не были предоставлены, чтобы избежать потенциального раскрытия. Кроме того, на 26-й неделе забор крови не проводился.

Для подкогорты 1.1 данные недель 48, 50, 67 и 74 объединяют между активным ингредиентом и плацебо чтобы избежать потенциального раскрытия после изъятия 2 субъектов из исследования.

NA = Данные пока еще не доступны

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как субъект с иммунным ответом, превышающим порог позитивности. Постисходное

значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-тау IgG $\geq 3,38 \times$ исходный уровень.

□ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции.

[00245] В Таблице 11 показаны титры анти-тау IgG и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью ASI-35.030 в дозе 900 мкг или плацебо в подкожной области 1.2.

[00246] Таблица 11

Группы лечения (количество субъектов)	Подкожная область 1.2			
	АСИ-35.030 900 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение*	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение*
Исходный уровень □ Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	477 (2,26) 209; 1960 249, 914	-	242 (1,54) 179; 328 133, 438	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	23242 (13,53) 1950; 3550000 2891, 186826	5/6	235 (1,19) 208; 266 185, 299	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	7108 (12,79) 1070; 1150000 925, 54634	4/6	277 (1,30) 230; 333 193, 398	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	7993 (8,65) 1700; 607000 1423, 44914	6/6	230 (1,35) 186; 284 152, 348	0/2
Неделя 24 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1423 (7,67) 520; 88400 279, 7266	1/6	313 (1,07) 299; 327 286, 341	0/2
Неделя 26 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2025 (5,89) 676; 70400 490, 8370	3/6	257 (1,31) 212; 312 176, 376	0/2

Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1032 (6,21) 285; 39900 239; 4451	1/6	203 (1,61) 145; 283 105; 390	0/2
Неделя 48 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	798 (5,48) 238; 24200 205; 3113	1/6	190,45 (1,72) 130; 279 90; 403	0/2
Неделя 50 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1019 (5,21) 367; 28600 272; 3819	1/6	182 (1,36) 146; 225 119; 277	0/2
Неделя 67 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	682 (5,45) 242; 20500 176; 2646	1/6	275 (1,46) 210; 359 162; 464	0/2
Неделя 74 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	648 (5,06) 236; 16500 177; 2371	1/6	251 (1,16) 226; 278 205; 307	0/2

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как субъект с иммунным ответом, превышающим порог позитивности. Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-тау IgG $\geq 3,38 \times$ исходный уровень.

□ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до даты и времени первой инъекции.

В Таблице 12 показаны титры анти-тау IgG и частота позитивных ответов на лечение (ИТТ популяция) после иммунизации с помощью АСИ-35.030 в дозе 1800 мкг или плацебо в подкожной области 1.3.

[00247] Таблица 12

Подкогорта 1.3				
Группы лечения (количество субъектов)	АС1-35.030 1800 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]
Исходный уровень П Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	355 (3,68) 81; 3780 125; 1009	-	306 (1,45) 235; 399 182; 514	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	6550 (5,75) 660; 50800 1615; 26565	5/6	228 (1,63) 162; 322 116; 448	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2001 (3,69) 432; 11500 704; 5685	3/6	238 (1,71) 163; 347 113; 499	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2922 (2,53) 1120; 9340 1392; 6134	4/6	265 (1,45) 204; 344 159; 442	0/2
Неделя 24 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	852 (2,89) 251; 4750 364; 1990	1/6	246 (1,03) 241; 252 236; 257	0/2
Неделя 26 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1859 (2,59) 491; 5420 868; 3982	3/6	246 (1,04) 239; 253 233; 260	0/2
Неделя 31 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1437 #	40% #	NA	NA
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	806 (3,35) 237; 6070 306; 2121	1/6	202 (1,49) 153; 268 117; 351	0/2
Неделя 42 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	709 (3,26) 175; 5360 275; 1824	1/6	230 (1,86) 148; 356 97; 543	0/2
Неделя 48 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	417 #	20% #	NA	NA
Неделя 50 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1133 #	80% #	NA	NA

Неделя 67 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	NA	NA	NA	NA
Неделя 74 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	NA	NA	NA	NA

NA = Данные пока еще не доступны

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как количество субъектов с иммунным ответом, превышающим порог позитивности.

5 Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-тау IgG \geq 3,38 \times исходный уровень.

10 □ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до даты и времени первой инъекции.

Для подкогорты 1.3, данные в недели 31, 48 и 50 от субъектов, которые находятся на активном лечении, объединяются, чтобы избежать потенциального раскрытия.

NA = Данные пока еще не доступны

* Из-за пандемии Covid-19, 7/8 пациентов не получили иммунизацию ACI-35.030 (доза 300 мкг) или плацебо на 24-й неделе, поэтому данные n=1 не были предоставлены, чтобы избежать потенциального раскрытия. Кроме того, на 26-й неделе забор крови не проводился.

[00248] В Таблице 13 показано соотношение титров анти-фТау IgG / анти-тау IgG (ИТТ популяция) после иммунизации с помощью ACI-35.030 в дозе 300 мкг в подкогорте 1.

[00249] Таблица 13

Неделя	Геом. среднее титров анти-фТау IgG (у.е./мл) в дозе 300 мкг АСИ-35.030	Геом. среднее титров анти-тау IgG (у.е./мл) в дозе 300 мкг АСИ-35.030	Соотношение геом. средних титров анти-фТау IgG / анти-тау IgG (у.е./мл) в дозе 300 мкг АСИ-35.030
Исходн. уровень	2048	375	5,5
2	80292	2610	30,8
8	49361	1065	46,4
10	110984	1509	73,6
24 *	*	*	-
26 *	*	*	-
36	8207	523	15,7
48 #	2397 #	303 #	7,9
50 #	13514 #	532 #	25,4
67 #	5030 #	297 #	16,9
74 #	4018 #	265 #	15,2

NA = Данные пока еще не доступны

* Из-за пандемии Covid-19, 7/8 пациентов не получили иммунизацию АСИ-35.030 (доза 300 мкг) или плацебо на 24-й неделе, поэтому данные n=1 не были предоставлены, чтобы избежать потенциального раскрытия. Кроме того, на 26-й неделе забор крови не проводился.

Для подкогорты 1.1 данные в недели 48, 50, 67 и 74 объединяют между активным ингредиентом и плацебо, чтобы избежать потенциального раскрытия после изъятия 2 субъектов из исследования.

[00250] В Таблице 14 показано соотношение титров анти-фТау IgG / анти-тау IgG (ИТТ популяция) после иммунизации с помощью АСИ-35.030 900 мкг в подкогорте 1.2.

[00251] Таблица 14

Неделя	Геом. среднее титров анти-фТау IgG (у.е./мл) в дозе 900 мкг АСИ-35.030	Геом. среднее титров анти-тау IgG (у.е./мл) в дозе 900 мкг АСИ-35.030	Соотношение геом. средних титров анти-фТау IgG / анти-тау IgG (у.е./мл) в дозе 900 мкг АСИ-35.030
Исходн. уровень	1079	477	2,3
2	321012	23242	13,8
8	141063	7108	19,9
10	272400	7993	34,1
24	44635	1423	31,4
26	113771	2025	56,2
36	46785	1032	45,3
48	29963	798	37,5
50	59710	1019	58,6
67	24727	682	36,3
74	21991	648	33,9

[00252] В Таблице 15 показано соотношение титров анти-фТау IgG / анти-тау IgG (ИТТ популяция) после иммунизации с помощью АСИ-35.030 в дозе 1800 мкг в подкогорте 1.3.

5 [00253] Таблица 15

Неделя	Среднее геометрическое титров анти-фТау IgG (у.е./мл) в дозе 1800 мкг АСИ-35.030	Среднее геометрическое титров анти-тау IgG (у.е./мл) в дозе 1800 мкг АСИ-35.030	Соотношение средн. геом. титров анти-фТау IgG / анти-тау IgG (у.е./мл) в дозе 1800 мкг АСИ-35.030
Исходн. уровень	676	355	2,0
2	187981	6550	28,7
8	66036	2001	33,0
10	135520	2922	46,4
24	19853	852	23,3
26	60105	1859	32,3
31	30328	1437	21,1
36	19811	806	24,6
42	15349	709	21,7
48	10848	417	26,0
50	63736	1133	56,3
67	NA	NA	NA
74	NA	NA	NA

NA = Данные пока еще не доступны

[00254] Как показано в результатах Таблиц 13-15, иммунизация с помощью АСИ-35.030 в каждой из доз 300 мкг, 900 мкг и 1800 мкг индуцировала ответ антител IgG, которые предпочтительно распознают фТау-пептид, чем не-фТау-пептид и это преимущество продолжалось в течение длительного времени.

[00255] Распознавание патологического фТау (обогащенных парных спиральных филамент – ePHF), полученного из головного мозга человека с AD

[00256] Способность поликлональных антител IgG, индуцированных иммунизацией АСИ-35.030 в трех подкогортах Таблицы 2, связываться с ePHF, полученным из головного мозга человека с AD, измеряли со временем с помощью MSD. В Таблице 16 показаны титры анти-ePHF IgG и частота позитивных ответов на лечение (ИТТ популяция) после иммунизации с помощью АСИ-35.030 в дозе 300 мкг или плацебо в подкогорте 1.1.

[00257] Таблица 16

Группы лечения (количество субъектов)	Подкогорта 1.1			
	АСI-35.030 300 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]
Исходный уровень П Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	1553 (1,51) 897; 3080 1117, 2160	-	1657 (1,57) 1205; 2275 888, 3086	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	4147 (2,86) 2120; 33700 1791, 9603	4/6	1954 (1,48) 1480; 2580 1133, 3369	0/2
Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	4282 (1,94) 2160; 14900 2522, 7268	5/6	1622 (1,55) 1190; 2210 884, 2975	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	9372 (3,55) 2420; 62600 3398, 25844	5/6	1659 (1,28) 1390, 1980 1173, 2347	0/2
Неделя 24 * Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	- - -	-	- - -	-
Неделя 26 * Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	- - -	-	- - -	-
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2709 (1,31) 2120; 4080 2188, 3354	2/6	1627 (2,17) 942; 2810 557, 4748	0/2
Неделя 48 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2097 (1,46) # 1140; 3220 1551, 2835	-	#	-
Неделя 50 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	4550 (2,83) # 1070; 21700 1978, 10466	-	#	-
Неделя 67 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2538 (1,64) # - 1712; 3765	NA	#	NA
Неделя 74 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2150 (1,66) # - 1437, 3218	NA	#	NA

* Из-за пандемии Covid-19, 7/8 пациентов не получили иммунизацию ACI-35.030 (доза 300 мкг) или плацебо на 24-й неделе, поэтому данные n=1 не были предоставлены, чтобы избежать потенциального раскрытия. Кроме того, на 26-й неделе забор крови не проводился.

5 # Для подкогорты 1.1 данные недель 48, 50, 67 и 74 объединяют между активным ингредиентом и плацебо, чтобы избежать потенциального раскрытия после изъятия 2 субъектов из исследования.

NA = Данные пока еще не доступны

10 ♦ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как субъект с иммунным ответом, превышающим порог позитивности. Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу x исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-ePHF IgG $\geq 2,21$ x
15 исходный уровень.

□ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции.

20 [00258] В Таблице 17 показаны титры анти-ePHF IgG и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью или ACI-35.030 900 мкг или плацебо в подкогорте 1.2.

[00259] Таблица 17

Группы лечения (количество субъектов)	Подкогорта 1.2			
	ACI-35.030 900 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [♦]
Исходный уровень □ Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	2858 (2,41) 1370; 14400 1415, 5771	-	924 (1,18) 824; 1036 738, 1156	-
Неделя 2 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	11507 (2,3) 4320; 38100 5909, 22411	6/6	1026 (1,63) 726; 1450 521, 2021	0/2

Неделя 8 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	9156 (2,33) 3120; 27900 4650, 18027	4/6	914 (1,54) 673; 1240 502, 1663	0/2
Неделя 10 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	23508 (2,14) 5910; 49200 12768, 43284	6/6	977 (1,21) 852; 1120 747, 1277	0/2
Неделя 24 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	11698 (1,88) 3970; 24800 7051, 19408	4/6	831 (1,86) 535; 1290 351, 1968	0/2
Неделя 26 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	19085 (1,54) 10200; 34100 13499, 26983	6/6	892 (1,45) 686; 1160 533, 1493	0/2
Неделя 36 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	18742 (1,72) 9440; 33400 12132; 28954	5/6	1232 (1,17) 1100; 1380 987; 1539	0/2
Неделя 48 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	11528 (1,66) 5730; 20000 7695, 17271	5/6	1205 (1,04) 1170; 1240 1138; 1275	0/2
Неделя 50 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	16078 (2,04) 7460; 38000 9091; 28434	6/6	1252 (1,10) 1170; 1340 1096; 1430	0/2
Неделя 67 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	12455 (1,91) 5750; 32700 7438; 20855	5/6	818 (1,03) 800; 836 783; 854	0/2
Неделя 74 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	8863 (2,12) 2950; 25400 4863; 16153	3/6	863 (1,13) 793; 939 731; 1018	0/2

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как субъект с иммунным ответом, превышающим порог позитивности. Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-ePHF IgG $\geq 2,21 \times$ исходный уровень.

□ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции.

[00260] В Таблице 18 показаны титры анти-ePHF IgG и частота позитивных ответов на лечение (ITT популяция) после иммунизации с помощью или АСИ-35.030 1800 мкг или плацебо в подкожной области 1.3.

[00261] Таблица 18

Группы лечения (количество субъектов)	Подкожная область 1.3			
	АСИ-35.030 1800 мкг (n=6)		Плацебо (n=2)	
	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [†]	Титры антител (у.е./мл)	Частота позит. ответов на лечение [†]
Исходный уровень II				
Среднее геом. (Геом. станд.)	1692 (2,32)	-	893 (1,23)	-
Миним.; макс.	456; 6200		770; 1035	
95% ДИ	862; 3319		668; 1193	
Неделя 2				
Среднее геом. (Геом. станд.)	4133 (2,47)	4/6	955 (1,18)	0/2
Миним.; макс.	773; 9310		852; 1070	
95% ДИ	2008; 8506		764; 1194	
Неделя 8				
Среднее геом. (Геом. станд.)	3973 (1,84)	2/6	796 (1,34)	0/2
Миним.; макс.	1900; 9470		646; 980	
95% ДИ	2440; 6470		529; 1197	
Неделя 10				
Среднее геом. (Геом. станд.)	9318 (1,98)	5/6	877 (1,08)	0/2
Миним.; макс.	4750; 28400		833; 924	
95% ДИ	5404; 16064		793; 971	
Неделя 24				
Среднее геом. (Геом. станд.)	6424 (2,88)	3/6	1117 (1,11)	0/2
Миним.; макс.	2950; 50600		1040; 1200	
95% ДИ	2758; 14962		971; 1285	
Неделя 26				
Среднее геом. (Геом. станд.)	8780 (2,38)	4/6	1315 (1,04)	0/2
Миним.; макс.	3960; 47300		1280; 1350	
95% ДИ	4383; 17585		1248; 1385	
Неделя 31 #				
Среднее геом. (Геом. станд.)	9637 #	60% #	NA	NA
Миним.; макс.				
95% ДИ				
Неделя 36				
Среднее геом. (Геом. станд.)	6887 (3,14)	3/6	1094 (1,05)	0/2
Миним.; макс.	3330; 65200		1060; 1130	
95% ДИ	2759; 17192		1028; 1165	
Неделя 42				
Среднее геом. (Геом. станд.)	6025 (3,10)	4/6	1048 (1,24)	0/2
Миним.; макс.	2730; 55600		900; 1220	
95% ДИ	2435; 14909		778; 1412	
Неделя 48 #				
Среднее геом. (Геом. станд.)	5887 #	40% #	NA	NA
Миним.; макс.				
95% ДИ				

Неделя 50 # Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	8536 #	80% #	NA	NA
Неделя 67 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	NA	NA	NA	NA
Неделя 74 Среднее геом. (Геом. станд.) Миним.; макс. 95% ДИ	NA	NA	NA	NA

NA = Данные пока еще не доступны

◆ Пациент, показавший позитивный ответ на лечение, определяется как количество субъектов с иммунным ответом, превышающим порог позитивности.

5 Постисходное значение считается позитивным, если \geq аналитическому порогу \times исходный уровень. Аналитический порог определяется из образцов от людей-доноров (полученных во время валидации каждого анализа). В частности, пациент, показавший позитивный ответ на лечение, имеет титры анти-ePHF IgG $\geq 2,21 \times$ исходный уровень.

10 □ Исходное значение титра антител — это среднее значение титров, измеренных во время скрининга и визита 1 (включая внеплановые визиты), при условии, что они происходят до первой инъекции.

Для подкогорты 1.3 данные в недели 31, 48 и 50 от субъектов, которые находятся на активном лечении, объединяются, чтобы избежать потенциального раскрытия

15 [00262] Результаты Таблиц 16-18 и ФИГ. 4 и ФИГ. 7 показали, что иммунизация АСИ-35.030 в каждой из доз 300 мкг, 900 мкг и 1800 мкг может индуцировать ответ антител IgG, которые распознают патологический ePHF Tau, полученный из головного мозга человека с AD. Кроме того, титры IgG анти-
20 ePHF могли быть повышены. Среднее геометрическое значений титров IgG анти-ePHF увеличивается через 2 недели после каждой иммунизации. Частота позитивных ответов на лечение IgG анти-ePHF у субъектов, которые получали АСИ-35.030 в дозе 300 мкг, составляла соответственно 66,7% на 2-й неделе, 83,3% на неделе 8 и 10 и 33,3% на 36-й неделе, тогда как предыдущая инъекция на 24-й
25 неделе не проводилась у 7/ 8 субъектов в подкогорте из-за пандемии Covid-19. Чтобы избежать потенциального раскрытия исследования, процент тех, кто

ответил после 36 недели в подкогорте, на данный момент не сообщается.

Частота позитивных ответов на лечение анти-ePHF IgG у субъектов, которые получали АСИ-35.030 в дозе 900 мкг, была соответственно 100% на 2, 10 и 26 неделях, 66,7% на 8 и 24 неделях, 83,3% на 36 и 48 неделях и 100% на 50 неделе.

5 Оказывается, что те же 2 пациента, которые получали лечение активным ингредиентом, не показывали ответа в эти 2 момента времени (8 и 24 недели), тогда как они показывали ответ на 2, 10 и 26 неделях (например, 2 недели после инъекций), выполненных на 0, 8 неделе и 24 неделе, соответственно). Частота положительных ответов на IgG анти-ePHF IgG у пациентов, получавших АСИ-
10 35.030 в дозе 1800 мг на 2, 8 и 10 неделях, составляла 66,7%, 33,3% и 83,3% соответственно, затем 50 % на 24 неделе, 66,7% на 26 и 80 неделях и 80% на 50 неделе.

[00263] *Авидность к патологическому фТау (обогащенным парным спиральным филаментам – ePHF), полученному из головного мозга человека с*
15 *AD*

[00264] Способность ответа антител IgG, индуцированного иммунизацией с АСИ-35.030, в подкогорте 1.1, подкогорте 1.2 и подкогорте 1.3, связываться с ePHF, полученными из головного мозга человека с AD, измеряли в течение
20 определенного периода времени с помощью MSD с использованием как низкого, так и высокого уровня плотности покрытия ePHF на планшете. Концентрацию антител измеряют на покрытии низкой плотности (связываются только антитела с высокой связывающей способностью) и на покрытии высокой плотности (могут связываться все антитела). Индекс авидности рассчитывают по
25 соотношению концентраций антител на покрытии низкой/высокой плотности. В Таблице 19 показан индекс авидности на ePHF после иммунизации посредством АСИ-35.030 в дозе 300 мкг в подкогорте 1.1.

[00265] Таблица 19

Группы лечения	Индекс авидности					
	Субъект 1	Субъект 2	Субъект 3	Субъект 4	Субъект 5	Субъект 6
Исходный уровень \square	-	-	-	-	-	-
Неделя 2	0,307	*	0,655	*	*	0,51
Неделя 8	0,516	0,462	0,711	0,545	*	0,743
Неделя 10	0,611	0,484	0,853	0,593	*	0,733
Неделя 24	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Неделя 26	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Неделя 36	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Неделя 48	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Неделя 50	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Неделя 67	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Неделя 74	NA	NA	NA	NA	NA	NA

(*) измерение недействительное

[00266] В Таблице 20 показан индекс avidности на ePHF после иммунизации с помощью ACI-35.030 в дозе 900 мкг в подкогорте 1.2.

5 [00267] Таблица 20

Группы лечения	Индекс avidности					
	Субъект 1	Субъект 2	Субъект 3	Субъект 4	Субъект 5	Субъект 6
Исходный уровень П	-	-	-	-	-	-
Неделя 2	0,508	0,383	0,571	0,484	0,682	0,788
Неделя 8	0,554	0,487	0,639	0,464	*	*
Неделя 10	*	0,678	0,676	*	0,707	0,822
Неделя 24	*	0,743	0,656	*	*	*
Неделя 26	*	0,754	0,433	*	*	0,777
Неделя 36	*	0,73	*	*	*	*
Неделя 48	*	0,732	*	*	*	*
Неделя 50	*	0,714	*	*	*	1,14
Неделя 67	*	0,748	*	*	*	*
Неделя 74	*	0,87	*	*	*	*

(*) измерение недействительное

[00268] В Таблице 21 показан индекс avidности на ePHF после иммунизации с помощью ACI-35.030 в дозе 1800 мкг в подкогорте 1.3.

10 [00269] Таблица 21

Группы лечения	Индекс avidности					
	Субъект 1	Субъект 2	Субъект 3	Субъект 4	Субъект 5	Субъект 6
Исходный уровень П	-	-	-	-	-	-
Неделя 2	*	0,617	0,559	0,419	0,383	*
Неделя 8	0,550	*	*	*	0,408	*
Неделя 10	0,702	0,786	0,714	0,557	0,338	*
Неделя 24	0,598	*	0,458	*	*	*
Неделя 26	0,559	*	*	0,495	*	*
Неделя 36	0,593	*	*	0,474	*	*
Неделя 42	0,736	*	0,752	0,53	*	*
Неделя 48	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Неделя 50	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Неделя 67	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Неделя 74	NA	NA	NA	NA	NA	NA

(*) измерение недействительное

[00270] Результаты Таблиц 19, 20 и 21 показали, что у большинства пациентов иммунизация с АСІ-35.030 в каждой из доз 300 мкг, 900 и 1800 мкг индуцировала иммунный ответ IgG, что демонстрирует увеличение авидности связывания между 2-й неделей и 10-й неделей.

- 5 [00271] На сегодняшний день предварительные Результаты показали, что, например, АСІ-35.030 индуцировал высокий, специфический и стойкий иммунный ответ, ориентированный на тау-патологические виды (фосфо-тау и ePHF), с очевидной зависимостью доза-ответ между низкими и средними дозами с признаками переключения класса иммуноглобулинов с IgM на IgG.
- 10 Индивидуальная частота положительных ответов на лечение была высокой и постоянной, особенно для анти-фТау и ePHF антител. Похоже, что введение АСІ-35.030 не вызвало никаких особых проблем в отношении безопасности, связанных с исследуемой вакциной, по состоянию на дату анализа данных, что подтверждает благоприятный профиль безопасности и переносимости АСІ-
- 15 35.030 и АСІ-35.030 мог индуцировать длительный иммунный ответ выше исходных значений у иммунизированных пациентов. Со временем данные демонстрируют, что ответ IgG созревает до более сильного преимущества для связывания ePHF, более патологических видов, одновременно снижая титры антитела к непатологическому, нефосфорилированному Тау. Предыдущие
- 20 результаты подтверждают дальнейшую разработку этой вакцины как эффективного лечения, модифицирующего болезнь AD, а также подхода к потенциальной профилактике AD.

Пример 2. Вакцинация с АСІ-35.030 индуцирует относительно однородный ответ антител с широким охватом эпитопов

- 25 [00272] Для дальнейшего профилирования иммунного ответа на широту и селективность к патологическому фТау было выполнено картирование эпитопов в сыворотках крови людей. Были проведены исследования для определения профиля распознавания эпитопов антител, индуцированных липосомной вакциной у людей. Семь пациентов с болезнью Альцгеймера (AD) были
- 30 иммунизированы внутримышечно на 0, 8, 24 и 48 неделях с 900 мкг ацетата тетрапальмитоилированного фосфорилированного Тау-пептида T3 (SEQ ID NO:28) на дозу липосомной вакцины (подкогорта 1,2) в фазе 1/2 клинического исследования. Профиль распознавания эпитопов антител определяли с помощью картирования эпитопов ELISA до первой иммунизации (V1, неделя 0) и после

третьей иммунизации (V6, неделя 26) с использованием библиотеки N-концевых биотинилированных 8-мерных пептидов, смещенных на одну аминокислоту и охватывающих всю последовательность фосфо-тау-пептида T3.30 (SEQ ID NO: 45), а также соответствующую последовательность нефосфорилированного Тау-пептида T3.56 (SEQ ID NO: 46). Кроме того, было определено связывание антител с полноразмерным фосфо-Тау-пептидом T3.30 (и Тау-пептидом T3.56, а также другим N-концевым биотинилированным фосфо-Тау-пептидом T3.85 (SEQ ID NO: 47) и соответствующим нефосфорилированным Тау-пептидом T3.86 (SEQ ID NO: 48) (с дополнительной C-концевой аминокислотой).

10 **[00273]** Данные выражены в виде значений оптической плотности (O.D.), от которых отняли значение предварительного лечения, полученных перед начальной иммунизацией (V1, неделя 0), отнятых от O.D., полученной после третьей иммунизации (V6, неделя 26) для каждого пептида и каждого пациента. Отрицательные значения после вычитания были установлены на 0,000.

15 **[00274]** У Таблицах 22 и 23 показан профиль распознавания эпитопов антител, индуцированных вакцинацией с АСИ-35.030, как определено с помощью картирования эпитопов ELISA на коротких 8-мерных перекрывающихся пептидах, охватывающих фосфо-пептиды T3.30 и T3.85 и не-фосфо-пептиды T3.56 и T3.86.

20 **[00275]** Таблица 22

Фосфо-тау-пептид	Пациент						
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7
фТау393-400	0,000	0,000	2,788	3,131	2,582	3,110	1,208
фТау394-401	0,003	0,000	1,885	2,163	1,491	1,721	0,553
фТау395-402	0,000	0,000	1,769	0,926	1,292	0,495	0,319
фТау396-403	0,000	0,000	0,117	0,272	0,734	0,284	0,150
фТау397-404	0,002	0,000	0,078	0,113	0,459	0,087	0,082
фТау398-405	0,000	0,000	0,119	0,155	0,342	0,660	0,173
фТау399-406	0,020	0,000	0,063	0,157	0,163	0,627	0,098
фТау400-407	0,012	0,000	0,277	0,294	0,060	0,616	0,118
фТау401-408	0,000	0,000	0,239	1,262	0,381	0,253	0,147
фТау393-408	0,000	0,000	3,617	3,558	2,529	3,548	3,024
фТау393-409	0,001	0,000	3,546	3,404	3,411	3,509	2,207

[00276] Таблица 23

Тау-пептид	Пациент						
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7
Тау393-400	0,023	0,000	1,688	0,165	0,000	0,105	0,173
Тау394-401	0,008	0,006	1,155	0,071	0,000	0,060	0,087
Тау395-402	0,007	0,018	1,694	0,077	0,020	0,070	0,102

Tau396-403	0,005	0,000	0,050	0,113	0,063	0,097	0,188
Tau397-404	0,013	0,000	0,016	0,053	0,047	0,044	0,076
Tau398-405	0,014	0,001	0,005	0,095	0,001	0,046	0,070
Tau399-406	0,020	0,000	0,011	0,116	0,000	0,034	0,062
Tau400-407	0,001	0,000	0,298	0,350	0,031	0,110	0,083
Tau401-408	0,008	0,000	0,621	1,768	0,439	0,175	0,230
Tau393-408	0,010	0,000	3,323	1,197	0,714	0,251	0,585
Tau393-409	0,009	0,000	3,429	0,244	0,264	0,129	0,452

[00277] В Таблице 22 и на Фигуре 8А показано, что два пациента с AD по существу не производили никаких антител IgG после трех иммунизаций на 26-й неделе против последовательностей или в пределах фосфо-Tau-пептидов T3.30 и T3.85 (Пациенты №1 и № 2), в то время как остальные пять пациентов с AD генерировали антитела IgG против последовательностей или в пределах фосфо-Tau-пептидов T3.30 и T3.85 в целом с подобным связыванием с последовательностями фосфо-Tau-пептидов T3.30 и T3.85. Значения O.D., полученные на 8-мерных пептидах, указывают на то, что антитела IgG, индуцированные после трех иммунизаций, связывались предпочтительно с N-концевой частью последовательности фосфо-Tau-пептидов T3.30 (SEQ ID NO: 45) и T3.85 (SEQ ID NO : 47), включая фосфорилированный серин в позиции 396. В общем более низкое связывание наблюдалось с C-концевой частью последовательности фосфо-Tau-пептидов T3.30 (SEQ ID NO: 45) и T3.85 (SEQ ID NO: 47), включая фосфорилированный серин в позиции 404.

[00278] В Таблице 23 и на Фигуре 8В показано, что два пациента с AD по сути не вырабатывали никаких антител IgG в течение 26 недель против последовательности нефосфорилированных Tau-пептидов T3.56 и T3.86 (Пациенты №1 и №2). Четыре пациента с AD генерировали антитела IgG с незначительным распознаванием последовательностей или внутри нефосфорилированных тау-пептидов T3.56 и T3.86, и связывание, как оказалось, было связано со связыванием C-концевого 8-мерного пептида (tau401-408). Один пациент с AD (пациент № 3) продуцировал антитела IgG против последовательностей или внутри нефосфорилированных тау-пептидов T3.56 и T3.86, и связывание, по-видимому, в основном связано с N-концевой частью последовательности.

[00279] Для ACI-35.030 ответ IgG субъектов был относительно гомогенным, демонстрируя широкий охват эпитопов, поскольку связывание происходило между проверенными последовательностями фTau и, что немаловажно, без

существенной специфичности для конца пептидной последовательности или существенного связывания с нефосфорилированными последовательностями.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

- SEQ ID NO: 1** - фосфо-Тау-пептид (7.1)
GDRSGYS[pS]PG[pS]PG[pT]PGSRRT
- 5 **SEQ ID NO: 2** - фосфо-Тау-пептид (Т3.5)
VYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHL
- SEQ ID NO: 3** - фосфо-Тау-пептид (22.1)
SSTGSIDMVD[pS]PQLA[pT]LA
- SEQ ID NO: 4** - Тау-пептид (Т3.6)
10 VYKSPVVSGDTSPRHL
- SEQ ID NO: 5** - фосфо-Тау-пептид
RENAKAKTDHGAEIVYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHL
- SEQ ID NO: 6** - фосфо-Тау-пептид
RQEFVEMEDHAGT[pY]GL
- 15 **SEQ ID NO: 7** - фосфо-Тау-пептид
PGSRSR[pT]P[pS]LTPPTR
- SEQ ID NO: 8** - фосфо-Тау-пептид
GYSSPG[pS]PG[pT]PGSRSR
- SEQ ID NO: 9** - фосфо-Тау-пептид
20 GDT[pS]PRHL[pS]NVSSTGSID
- SEQ ID NO: 10** - фосфо-Тау-пептид
PG[pS]PG[pT]PGSRSR[pT]P[pS]LP
- SEQ ID NO: 11** - фосфо-Тау-пептид
HL[pS]NVSSTGSID
- 25 **SEQ ID NO: 12** - фосфо-Тау-пептид
VSGDT[pS]PRHL
- SEQ ID NO: 13** - T50 Т-клеточный эпитоп
AKFVAAWTLKAAAVVRQYIKANSKFIGITELVVRFNFTVSFWLRVPKVS
ASHLE-NH₂
- 30 **SEQ ID NO: 14** - T46 Т-клеточный эпитоп
AKFVAAWTLKAAAGSQYIKANSKFIGITELGSFNFTVSFWLRVPKVSASH
LEK(Pal)K(Pal)-NH₂
- SEQ ID NO: 15** - T48 хелперный Т-клеточный эпитоп

AKFVAAWTLKAAAGSQYIKANSKFIGITELGSFNNFTVSFWLRVPKVSASH
LEGLINSTKIYSYFPSVISKVNQ-NH₂

SEQ ID NO: 16 - T51 хелперный Т-клеточный эпитоп

AKFVAAWTLKAAARRQYIKANSKFIGITELRRFNNFTVSFWLRVPKVSASH
5 LE-NH₂

SEQ ID NO: 17 - T52 хелперный Т-клеточный эпитоп

AKFVAAWTLKAAARKQYIKANSKFIGITELRKFNNFTVSFWLRVPKVSAS
HLE-NH₂

SEQ ID NO: 18 - CpG 2006 (также известный как CpG 7909)

10 5'-tcgctgttttgcgttttgcgtt-3'

где маленькие буквы означают фосфоротиоатные (ps) межнуклеотидные
связи

SEQ ID NO: 19 - CpG 1018

5'-tgactgtgaacgttcgagatga-3'

15 где маленькие буквы означают фосфоротиоатные межнуклеотидные связи

SEQ ID NO: 20 – CpG2395

5'-tcgctgttttcggcgcgcgccg-3'

где маленькие буквы означают фосфоротиоатные межнуклеотидные связи

SEQ ID NO: 21 – CpG2216

20 5'-ggGGGACGATCGTCggggggg-3'

где маленькие буквы означают фосфоротиоатные межнуклеотидные связи,
а большие буквы означают фосфодиэфирные (po) связи

SEQ ID NO:22 – CpG2336

5'- gggGACGACGTCGTGggggggg -3',

25 где маленькие буквы означают фосфоротиоатные межнуклеотидные связи,
а большие буквы означают фосфодиэфирные связи

SEQ ID NO:23 - Пан DR эпитопный (PADRE) пептид

AKFVAAWTLKAAA

SEQ ID NO:24 – P2

30 QYIKANSKFIGITEL

SEQ ID NO:25 – P30

FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE

SEQ ID NO: 26 - TT₅₈₆₋₆₀₅

LINSTKIYSYFPSVISKVNQ

SEQ ID NO: 27 – пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

(пальмитоилированный 7.1)

K(pal)K(pal)GDRSGYS[pS]PG[pS]PG[pT]PGSRSR TK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 28 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид (**T3,**

5 **пальмитоилированный T3.5)**

K(pal)K(pal)VYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 29 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

(пальмитоилированный 22.1)

K(pal)K(pal)SSTGSIDMVD[pS]PQLA[pT]LAK(pal)K(pal)

10 **SEQ ID NO: 30** - пальмитоилированный Тау-пептид

K(pal)K(pal)VYKSPVSGDTSPRHLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 31 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

K(pal)K(pal)RENAKAKTDHGAEIVYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 32 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

15 K(pal)K(pal)RQEFVME DHAGT[pY]GLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 33 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

K(pal)K(pal)PGSRSR[pT]P[pS]LPTPTRK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 34 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

K(pal)K(pal)GYSSPG[pS]PG[pT]PGSRSRK(pal)K(pal)

20 **SEQ ID NO: 35** - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

K(pal)K(pal)GDT[pS]PRHL[pS]NVSSTGSIDK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 36 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

K(pal)K(pal)PG[pS]PG[pT]PGSRSR[pT]P[pS]LPK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 37 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

25 K(pal)K(pal)HL[pS]NVSSTGSIDK(pal)K(pal)

SEQ ID NO: 38 - пальмитоилированный фосфо-Тау-пептид

K(pal)K(pal)VSGDT[pS]PRHLK(pal)K(pal)

SEQ ID NO:39 - T50 без C-концевого амида

AKFVAAWTLKAAAVVRQYIKANSKFIGITELVVRFNFTVSFWLRVPKVS

30 ASHLE

SEQ ID NO: 40 - T46 без -Lys(Pal)-Lys(Pal)-NH₂ на C-конце

AKFVAAWTLKAAAGSQYIKANSKFIGITELGSFNNFTVSFWLRVPKVSASH

LE

SEQ ID NO: 41 - T48 без C-концевого амида

AKFVAAWTLKAAAGSQYIKANSKFIGITELGSFNNFTVSFWLRVPKVSASH
LEGLINSTKIYSYFPSVISKVNQ

SEQ ID NO: 42 - T51 без C-концевого амида

AKFVAAWTLKAAARRQYIKANSKFIGITELRRFNNFTVSFWLRVPKVSASH

5 LE

SEQ ID NO: 43 - T52 без C-концевого амида

AKFVAAWTLKAAARKQYIKANSKFIGITELRKFNNFTVSFWLRVPKVSAS

HLE

SEQ ID NO: 44 - T57

10 AKFVAAWTLKAAAVVRQYIKANSKFIGITELVVRFNNFTVSFWLRVPKVS
ASHLE-K(Pal)K(Pal)-NH₂

SEQ ID NO: 45 - биотинилированный фосфорилированный тау-пептид
(T3.30)

Биотин-LC линкер (Ahx)-GVYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHL-NH₂

15 **SEQ ID NO: 46** - биотинилированный фосфорилированный тау-пептид
(T3.56)

Биотин-LC линкер (Ahx)-GVYKSPVVSGDTSPRHL-NH₂

SEQ ID NO: 47 - биотинилированный фосфорилированный тау-пептид
(T3.85)

20 Биотин-LC линкер (Ahx)-VYK[pS]PVVSGDT[pS]PRHLS-NH₂

SEQ ID NO: 48 - биотинилированный фосфорилированный тау-пептид
(T3.86)

Биотин-LC линкер (Ahx)-VYKSPVVSGDTSPRHLS-NH₂

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ индукции иммунного ответа против фосфорилированного тау-белка (фТау) у субъекта-человека, которому это необходимо, включающий введение субъекту эффективного количества липосомы, содержащей:

(1) тау-фосфопептид, состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28, в количестве от 300 мкг до 1800 мкг на дозу;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4, содержащий монофосфорил липид А;

(3) хелперный Т-клеточный эпитоп, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:13 - SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:23 - SEQ ID NO:26 и SEQ ID NO:39 - SEQ ID NO:44; и

(4) олигонуклеотид CpG, имеющий нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:18 - SEQ ID NO:22,

где:

Тау-фосфопептид презентирован на поверхности липосомы, и ответ антитела длится по меньшей мере 6 недель после первичного введения субъекту-человеку эффективного количества липосомы.

2. Способ по п. 1, в котором эффективное количество липосомы содержит:

(1) тау-фосфопептид в количестве от 300 мкг до 1800 мкг на дозу;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4 в количестве от 100 мкг до 585 мкг на дозу;

(3) хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 75 мкг до 550 мкг на дозу; и

(4) олигонуклеотид CpG в количестве от 150 мкг до 900 мкг на дозу.

3. Способ по п. 1 или 2, в котором эффективное количество липосомы содержит 300 мкг, 900 мкг или 1800 мкг на дозу тау-фосфопептида.

4. Способ по любому из п.п. 1-3, в котором эффективное количество липосомы вводят подкожно.

5. Способ по любому из п.п. 1-3, в котором эффективное количество липосомы вводят внутримышечно.

6. Способ по любому из п.п. 1-5, в котором олигонуклеотид CpG имеет одну или несколько фосфоротиоатных межнуклеотидных связей, и олигонуклеотид CpG является ковалентно связанным по меньшей мере с одной липофильной группой, необязательно, через ПЭГ-линкер.

7. Способ по любому из п.п. 1-6, в котором тау-фосфопептид состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:28, агонист толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорил гекса-ацил Липид А, 3-деацил, хелперный Т-клеточный эпитоп содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39, олигонуклеотид CpG содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 18, и липосома дополнительно включает по меньшей мере один липид, выбранный из группы, состоящей из 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DMPC), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфорил-3'-рац-глицерина (DMPG) и холестерина.

8. Способ по любому из п.п. 1-7, в котором иммунный ответ включает образование специфических IgG антител, направленных против фТау, предпочтительно образованные специфические IgG антитела имеют титр анти-фТау IgG по меньшей мере в 50, 60, 70, 80, 90, 100 или больше раз более высокий, чем титр после введения контрольного плацебо.

9. Способ по любому из п.п. 1-8, в котором иммунный ответ вызывает переключение класса с образования специфического антитела IgM на образование специфического антитела IgG, направленного против фТау.

10. Способ по любому из п.п. 1-9, в котором иммунный ответ содержит иммунный ответ IgG, предпочтительно распознающий фТау чем нефосфорилированный тау-белок, предпочтительно соотношение титра анти-фТау IgG к титру анти-Тау IgG составляет по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или 70.

11. Способ по любому из п.п. 1-10, в котором иммунный ответ содержит иммунный ответ IgG против обогащенной парной спиральной филаменты (ePHF).

5 12. Способ по п. 11, в котором иммунный ответ IgG имеет титр анти-ePHF IgG по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше раз более высокий, чем титр после введения контрольного плацебо.

10 13. Способ по п. 11 или 12, в котором анти-ePHF IgG имеет повышенную avidность связывания с патологическим ePHF Tau по меньшей мере в течение 6 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель, 14 недель, 16 недель, 18 недель, 20 недель, 22 недель, 24 недель или дольше после первичного введения эффективного количества липосомы, предпочтительно анти-ePHF IgG имеет индекс avidности по меньшей мере 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 или 0,7.

15 14. Способ по любому из п.п. 1-13, дополнительно включающий введение субъекту второй дозы эффективного количества липосом через 4 - 12 недель, например, через 8 недель, после первичного введения эффективного количества липосом.

20 15. Способ по п. 14, в котором иммунный ответ, предпочтительно титр анти-ePHF IgG, повышается после введения второй дозы эффективного количества липосом, предпочтительно ответ антител повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше, что
25 измеряют по меньшей мере через 2 недели после введения второй дозы эффективного количества липосом.

16. Способ по п. 14 или 15, дополнительно включающий введение субъекту третьей дозы эффективного количества липосом через 20 - 28 недель, например,
30 через 24 недели, после первичного введения эффективного количества липосом.

17. Способ по п. 16, в котором иммунный ответ, предпочтительно титр анти-ePHF IgG, повышается после введения третьей дозы эффективного количества липосом, предпочтительно ответ антител повышается по меньшей

мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше, что измеряют по меньшей мере через 2 недели после введения третьей дозы эффективного количества липосом.

5 18. Способ по п. 16 или 17, дополнительно включающий введение субъекту четвертой дозы эффективного количества липосом через 44 - 52 недели, например, через 48 недель, после первичного введения эффективного количества липосом.

10 19. Способ по п. 18, в котором иммунный ответ, предпочтительно титр анти-ePHF IgG, повышается после введения четвертой дозы эффективного количества липосом, предпочтительно ответ антител повышается по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше, что измеряют по меньшей мере через 2 недели с помощью введения четвертой дозы
15 эффективного количества липосом.

20 20. Способ индукции стойкого иммунного ответа против фосфорилированного тау-белка (фТау) у субъекта-человека, которому это необходимо, включающий:

- 20 i. внутримышечное введение субъекту первичной вакцины, содержащей эффективное количество липосомы; и
- ii. внутримышечное введение субъекту первой бустерной вакцины, содержащей эффективное количество этой липосомы через 6 - 10 недель после введения первичной вакцины,

25 где:

стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 20 недель после введения первичной вакцины;

липосома содержит:

 (1) тау-фосфопептид, состоящий из аминокислотной последовательности
30 SEQ ID NO: 28, и Тау-фосфопептид презентирован на поверхности липосомы;

 (2) агонист толл-подобного рецептора 4, содержащий монофосфорил липид А;

(3) хелперный Т-клеточный эпитоп, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 24, 25 и 26; и

5 (4) олигонуклеотид CpG, имеющий нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:18 - SEQ ID NO:22; и эффективное количество липосомы содержит:

(1) тау-фосфопептид в количестве от 300 мкг до 1800 мкг на дозу;

(2) агонист толл-подобного рецептора 4 в количестве от 100 мкг до 585 мкг на дозу;

10 (3) хелперный Т-клеточный эпитоп в количестве от 85 мкг до 525 мкг на дозу; и

(4) олигонуклеотид CpG в количестве от 150 мкг до 900 мкг на дозу.

15 21. Способ по п. 20, в котором хелперный Т-клеточный эпитоп имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 39, 40, 41, 42 и 43.

20 22. Способ по п. 20, в котором хелперный Т-клеточный эпитоп имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17 и 44.

25 23. Способ по любому из п.п. 20 – 22, в котором липидированный олигонуклеотид CpG имеет нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:18 и олигонуклеотид CpG ковалентно связан по меньшей мере с одним холестерином через линкер.

30 24. Способ по любому из п.п. 20 – 23, в котором первую бустерную вакцину вводят через 8 недель после введения первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 24 недели после введения первичной вакцины.

25. Способ по любому из п.п. 20-24, дополнительно включающий внутримышечное введение субъекту второй бустерной вакцины, содержащей эффективное количество этой липосомы, через 22 - 26 недель после введения

первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 36 недель после введения первичной вакцины.

26. Способ по п. 25, в котором вторую бустерную вакцину вводят через 24
5 недели после введения первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 48 недель после введения первичной вакцины.

27. Способ по п. 25 или 26, дополнительно включающий внутримышечное
10 введение субъекту третьей бустерной вакцины, содержащий эффективное количество этой липосомы, через 45 - 50 недель после введения первичной вакцины, и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 60 недель после введения первичной вакцины.

28. Способ по п. 27, в котором третью бустерную вакцину вводят через 48
15 недель после введения первичной вакцины и стойкий иммунный ответ длится по меньшей мере приблизительно 72 недели после введения первичной вакцины.

29. Способ по любому из п.п. 20-28, в котором эффективное количество
20 липосомы содержит 300 мкг на дозу тау-фосфопептида.

30. Способ по любому из п.п. 20-28, в котором эффективное количество
липосомы содержит 900 мкг на дозу тау-фосфопептида.

31. Способ по любому из п.п. 20-28, в котором эффективное количество
25 липосомы содержит 1800 мкг на дозу тау-фосфопептида.

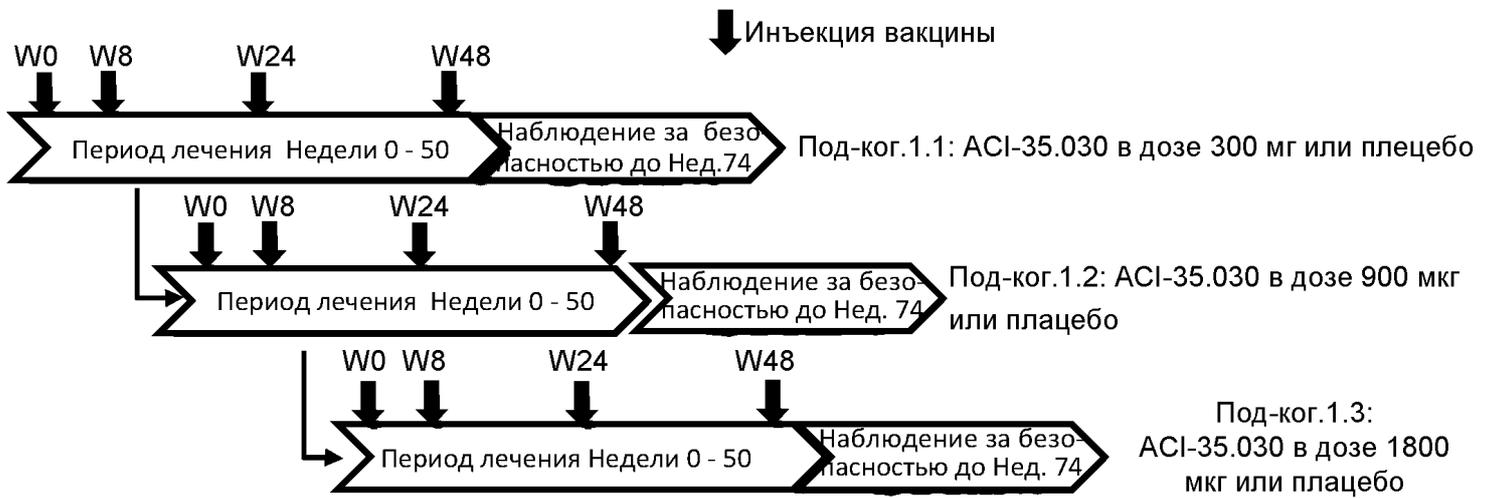
32. Способ по любому из п.п. 20-31, в котором стойкий иммунный ответ
включает иммунный ответ IgG, который предпочтительно распознаёт фТау чем
нефосфорилированный тау-белок, предпочтительно соотношение титра анти-
30 фТау IgG к титру анти-Тау IgG составляет по меньшей мере 5, 10, 15, 20, 25, 30,
35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или 70.

33. Способ по любому из п.п. 20-32, в котором стойкий иммунный ответ
включает иммунный ответ IgG против обогащенной парной спиральной

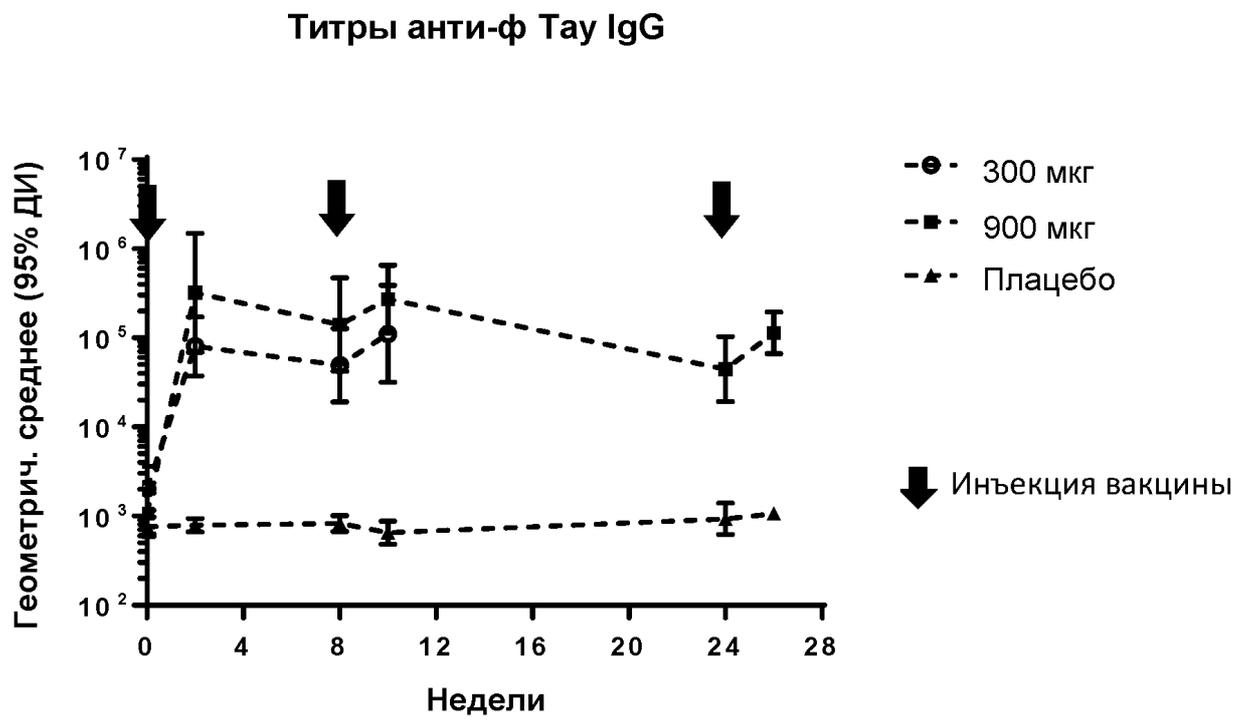
филаменты (ePHF), имеющий титр анти-ePHF IgG по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше раз более высокий, чем титр после введения контрольного плацебо.

5 34. Способ по любому из п.п. 1-33, в котором субъекту необходимо очищение от агрегатов Тау.

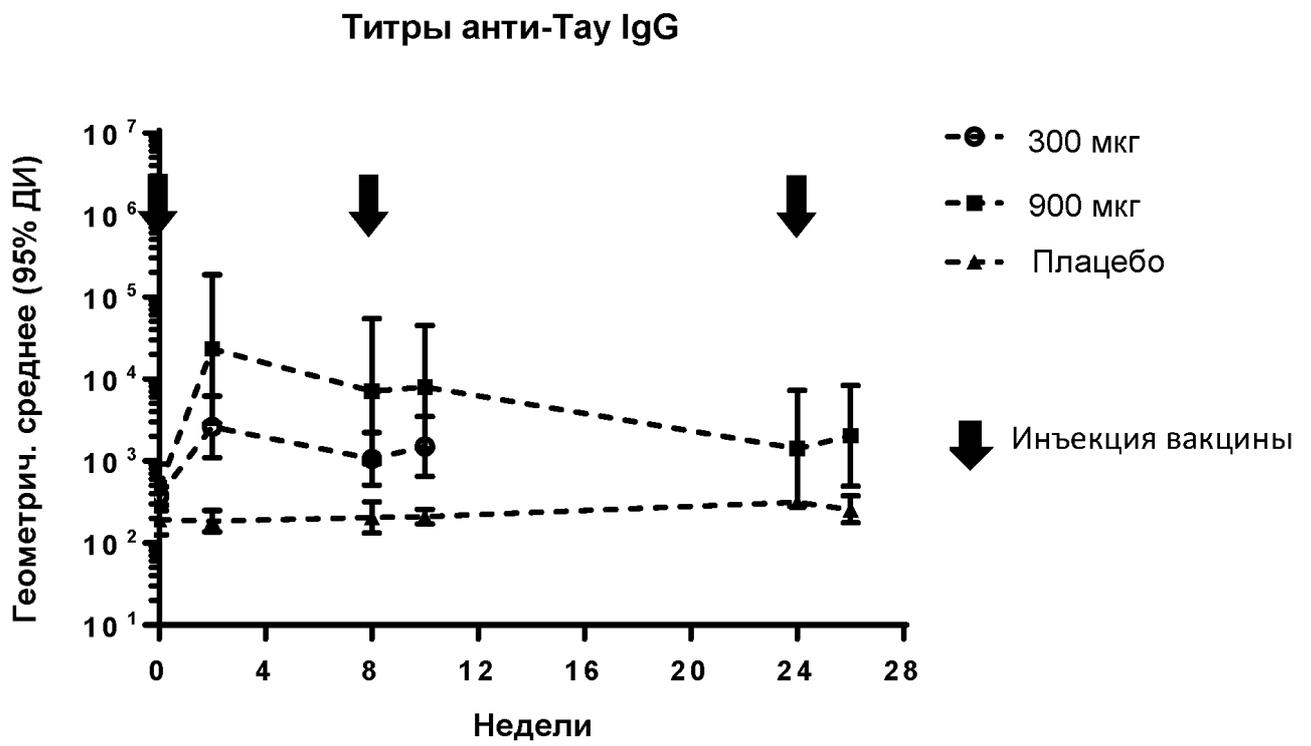
10 35. Способ по любому из п.п. 1-34, в котором субъекту необходима профилактика или лечение болезни Альцгеймера, такой как доклиническая болезнь Альцгеймера, болезнь Альцгеймера легкой или умеренной степени или ранняя болезнь Альцгеймера, легкое когнитивное нарушение (МСИ) из-за болезни Альцгеймера.



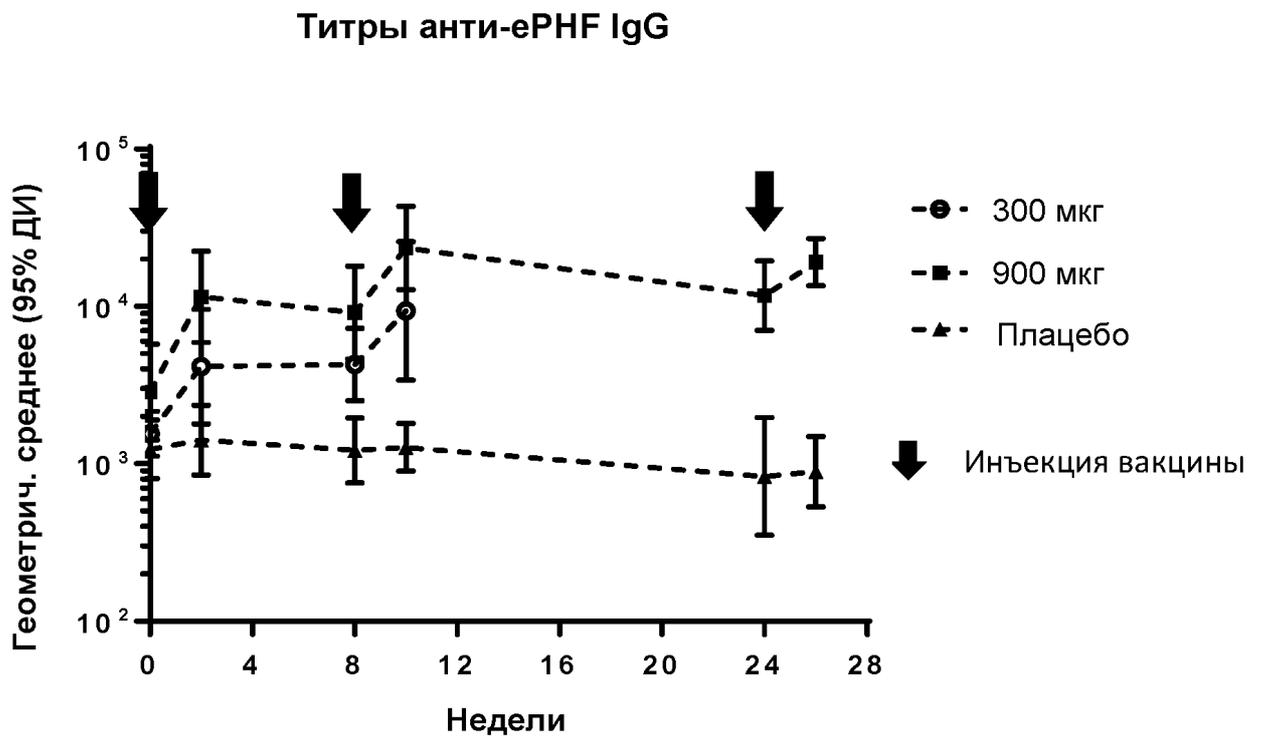
ФИГ. 1



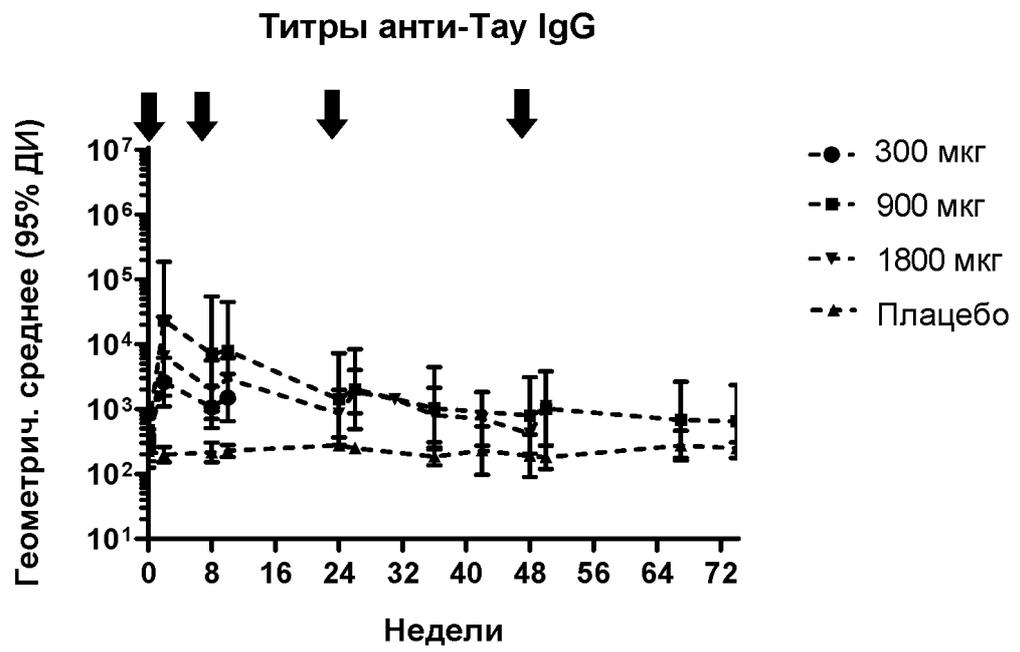
ФИГ. 2



ФИГ. 3

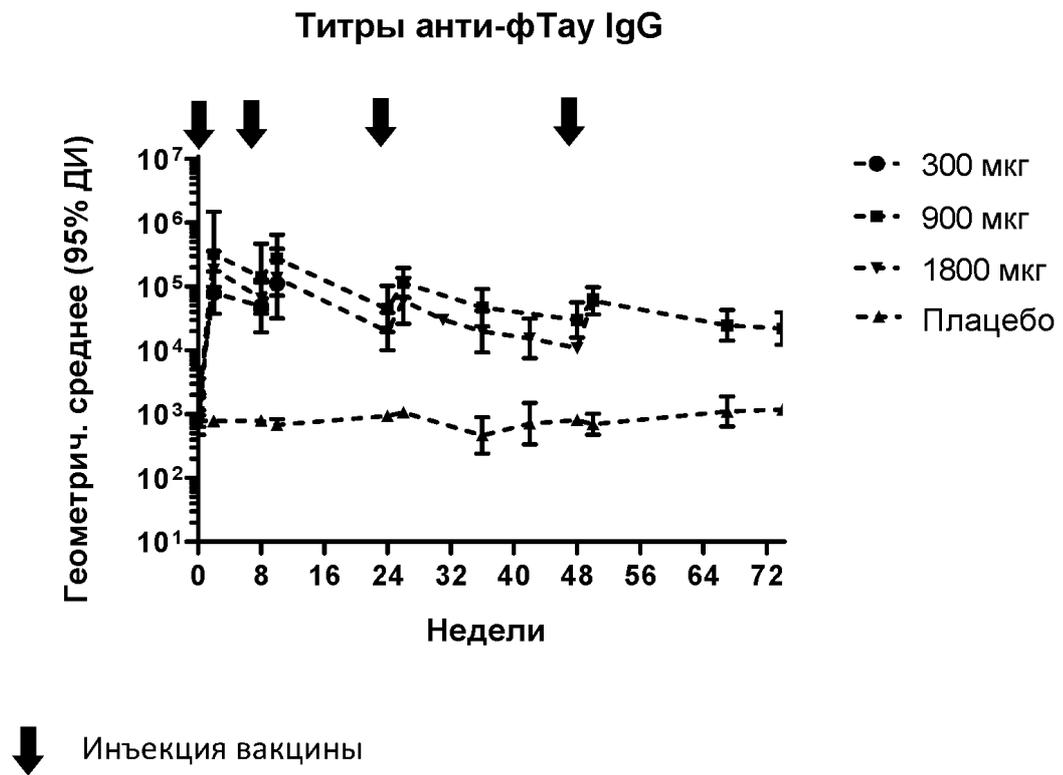


ФИГ. 4

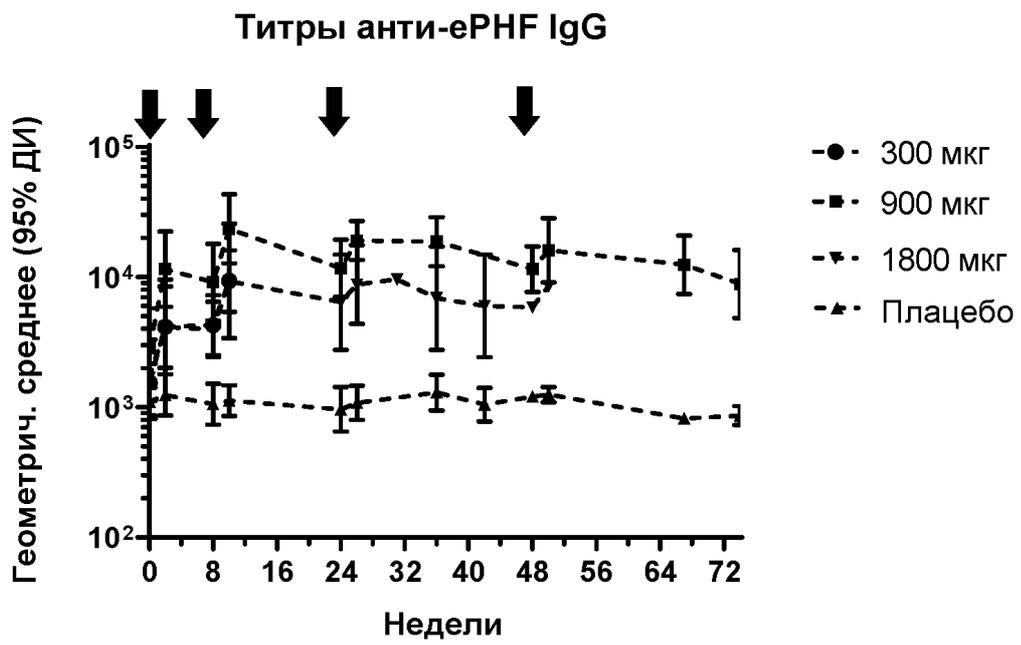


↓ Инъекция вакцины

ФИГ. 5

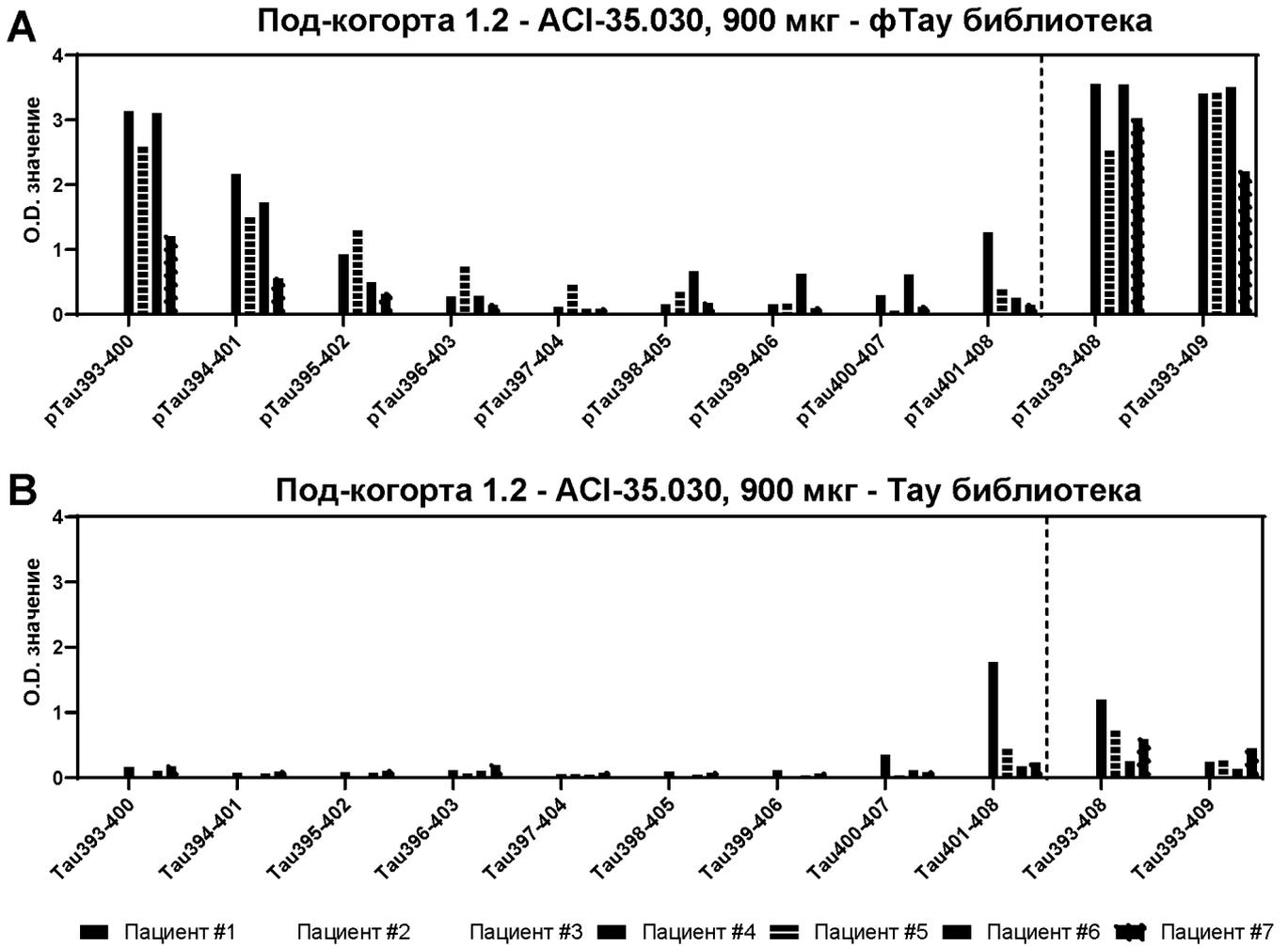


ФИГ. 6



↓ Инъекция вакцины

ФИГ. 7



ФИГ. 8