

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202492000** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.11.14

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

(22) Дата подачи заявки
2023.02.09

(54) **ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА**

(31) 22156006.3; 22156007.1

(32) 2022.02.09

(33) EP

(86) PCT/EP2023/053259

(87) WO 2023/152260 2023.08.17

(71) Заявитель:
АС ИММЬОН СА (CH)

(72) Изобретатель:

Пфайфер Андреа, Айер Максим (CH)

(74) Представитель:

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

(57) Настоящее изобретение относится к липосомальной вакцинной композиции, содержащей пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и адъювант, где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из структуры $X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$, где E представляет собой глутаминовую кислоту, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин, X_1 присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G представляет собой глицин, X_2 присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G имеет значения, как определено выше, X_3 представляет собой L, K или S, где L представляет собой лейцин, K представляет собой лизин и S представляет собой серии, X_4 представляет собой D, K или S, где D, K и S имеют значения, как определено выше, X_5 представляет собой M, где M представляет собой метионин или сульфоксид метионина, X_6 представляет собой A, K или S, где A представляет собой аланин, и K и S имеют значения, как определено выше, при условии, что $X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$ не представляет собой L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A, и который содержит от 1 до 5 аминокислотных отличий по сравнению с аминокислотной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A, и где пептидный антиген не содержит дипептид Y-E, непосредственно следующий за X_6 , где Y представляет собой тирозин, и E имеет значения, как определено выше.

A1

202492000

202492000

A1

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА

ОПИСАНИЕ

Область техники настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к терапевтическим вакцинам против альфа-синуклеина, которые можно применять для профилактики, облегчения и/или лечения заболеваний, нарушений и аномалий, связанных с агрегатами альфа-синуклеина (α -синуклеин, А-синуклеин, аСинуклеин, А-syn, α -syn, aSyn, a-syn), включая без ограничения тельца Леви, и/или нейриты Леви, и/или глиальные цитоплазматические включения, таких как болезнь Паркинсона, множественная системная атрофия, деменция с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона, (PDD)) или болезнь диффузных телец Леви.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Многие дегенеративные заболевания связаны с внеклеточными или внутриклеточными отложениями амилоида или амилоидоподобных белков, которые способствуют патогенезу, а также прогрессированию заболевания. Наиболее изученным амилоидным белком, образующим внеклеточные агрегаты, является бета-амилоид (A β). Амилоидоподобные белки, которые образуют преимущественно внутриклеточные агрегаты, включают без ограничения альфа-синуклеин, tau и хантингтин (htt).

aSyn представляет собой природный мономерный белок массой 14 кДа, который в норме локализуется на пресинаптических окончаниях, либо связанных с мембранами синаптических везикул, либо в цитозоле. Его естественная функция остается плохо изученной, и, вероятно, он участвует в синаптической передаче. В ходе патогенеза неправильное сворачивание и агрегация aSyn происходит в центральной нервной системе (ЦНС) и периферической нервной системе, возможно, как следствие посттрансляционной модификации, включая без ограничения С-концевое протеазное расщепление (Dufty 2007, Bassil 2016). Агрегация приводит к образованию различных видов aSyn, которые связаны с патогенезом заболеваний LB, таких как олигомеры, протофибриллы и фибриллы. Фибриллярные формы aSyn выявляются преимущественно в LB, расположенных в телах нейрональных клеток (Kosaka et al., 1990, Dickson et al., 1989). Агрегаты aSyn также могут быть обнаружены в астроглиальных клетках (Braak 2007).

В головном мозге человека, страдающего заболеванием, были обнаружены не только фибриллы, но и различные виды олигомеров aSyn. В отличие от фибриллярного aSyn,

олигомерные агрегаты, наиболее вероятно, расположены в проекциях нейронов и пресинаптических окончаниях, где они могут повредить синапсы, поэтому олигомерный aSyn обладает клеточной цитотоксичностью.

Показано, что мономерный aSyn может образовывать различные типы агрегатов с разным внешним видом, конформацией, цитотоксичностью и химическими свойствами в разных условиях *in vitro*. В зависимости от конформации мономера и сложившихся премиссивных условий могут образовываться различные типы агрегатов, обладающие разными структурными характеристиками. При затравке отдельные виды aSyn отпечатывают (например, «фибриллы» или «ленты») свою конформацию на принимающей клетке и генерируют агрегаты одного и того же вида в процессе, называемом «конформационной сборкой». Если их вводят в головной мозг крысы, эти типы агрегатов проявляют различные свойства с точки зрения образования включений и генерации поведенческих и нейротоксических фенотипов *in vivo*.

Предполагается, что разные типы агрегатов aSyn экспонируют разные полипептидные цепи из-за их различных конформаций. Эти различным образом экспонированные поверхности допускают различные наборы внутримолекулярных взаимодействий. Таким образом, конформация данного вида aSyn определяет его свойства, такие как способность к затравке или предрасположенность к определенным типам клеток. Начиная появляться экспериментальные данные, демонстрирующие различные свойства видов aSyn, выделенных из материала PD и множественной системной атрофии (MSA). Анализ патологического материала головного мозга пациентов с PD или MSA продемонстрировал различные свойства трансмиссивных агрегатов aSyn.

Заболевания, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, обычно относятся к синуклеинопатиям (или α -синуклеинопатиям, или альфа-синуклеинопатиям), и они включают без ограничения болезнь Паркинсона (PD). Синуклеинопатии включают болезнь Паркинсона (спорадическая, семейная с мутациями альфа-синуклеина, семейная с мутациями, отличными от альфа-синуклеина, истинную вегетативную недостаточность и дисфагию с тельцами Леви), деменцию с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона (PDD)), болезнь диффузных телец Леви (DLBD), спорадическую болезнь Альцгеймера, семейную болезнь Альцгеймера с мутациями APP, семейную болезнь Альцгеймера с PS-1, PS-2 или другими мутациями, семейную британскую деменцию, вариант болезни Альцгеймера с тельцами Леви и синдром Дауна. Синуклеинопатии с нейрональными и глиальными агрегатами альфа-синуклеина включают без ограничения множественную системную атрофию (синдром Шая-Дрейджера, стриатонигральную

дегенерацию и оливопонтocerebellярную атрофию). Другие заболевания, которые могут иметь иммунореактивные поражения альфа-синуклеина, включают черепно-мозговую травму, хроническую травматическую энцефалопатию, паглистическую деменцию, тауопатии (болезнь Пика, лобно-височная деменция, прогрессирующий надъядерный паралич, кортико-базальная дегенерация и болезнь Ниманна-Пика типа С1, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17), болезнь двигательных нейронов, болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз (спорадический, семейный и Гуам-комплекс ALS-деменции), нейроаксональную дистрофию, нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге 1 типа (синдром Галлервордена-Шпатца), прионные болезни, болезнь Крейцфельда-Якоба, атаксию-телеангиэктазию, синдром Мейжа, подострый склерозирующий панэнцефалит, синдром Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, болезнь Гоше, болезнь Краббе, а также другие лизосомальные нарушения накопления (включая синдром Куфора-Ракеба и синдром Санфилиппо) и нарушение поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (REM) (Jellinger, *Mov Disord* 2003, 18 Suppl. 6, S2-12, Galvin et al., *JAMA Neurology* 2001, 58 (2), 186-190, Kovari et al., *Acta Neuropathol.* 2007, 114(3), 295-8, Saito et al., *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004, 63(4), 323-328, McKee et al., *Brain*, 2013, 136(Pt 1), 43-64, Puschmann et al., *Parkinsonism Relat Disord* 2012, 18S1, S24-S27, Usenovic et al., *J Neurosci.* 2012, 32(12), 4240-4246, Winder-Rhodes et al., *Mov Disord.* 2012, 27(2), 312-315, Ferman et al., *J Int Neuropsychol Soc.* 2002, 8(7), 907-914, Smith et al., *J Pathol.* 2014, 232:509-521, Lippa et al., *Ann Neurol.* 1999 Mar, 45(3):353-7, Schmitz et al., *Mol Neurobiol.* 2018 Aug 22, Charles et al., *Neurosci Lett.* 2000 Jul 28, 289(1):29-32, Wilhelmsen et al., *Arch Neurol.* 2004 Mar, 61(3):398-406, Yamaguchi et al., *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004, 80th annual meeting, vol.63, Askanas et al., *J Neuropathol Exp Neurol.* 2000 Jul, 59(7):592-8).

Болезнь Паркинсона (PD) представляет собой синуклеинопатию и второе по распространенности нейродегенеративное двигательное заболевание. Распространенность PD находится в диапазоне от 100 до 200/100 000 среди населения в целом и затрагивает приблизительно 1% населения старше 60 лет с ежегодной заболеваемостью приблизительно 15/100000. Это хроническое прогрессирующее заболевание, характеризующееся сочетанием двигательных синдромов (брадикинезия, ригидность, тремор покоя и постуральная нестабильность) и не двигательных синдромов (различные вегетативные дисфункции, сенсорные нарушения и психические отклонения), которые обычно предшествуют двигательным синдромам. Отличительным признаком заболевания является глубокая потеря дофаминергических нейронов в черной субстанции (SN), сопровождающаяся накоплением нитевидных белковых включений, называемых тельцами

Леви (LB), которые преимущественно состоят из альфа-синуклеина (aSyn). PD, DLB и другие заболевания LB демонстрируют накопление и перераспределение aSyn в различных областях головного мозга и клеточных популяциях.

MSA представляет собой еще одну очень важную синуклеинопатию. MSA представляет собой спорадическое нейродегенеративное заболевание, которое характеризуется симптомами L-DOPA-резистентного паркинсонизма, мозжечковой атаксии и вегетативной дистонии. Пациенты страдают от мультисистемной потери нейронов, поражающей различные области головного мозга, включая полосатое тело, черную субстанцию, мозжечок, варолиев мост, а также нижние оливы и спинной мозг. MSA характеризуется aSyn-позитивными глиальными цитоплазматическими (GCI) и редкими нейрональными включениями по всей центральной нервной системе. Эти включения связаны с стриатонигральной дегенерацией, оливопонтocerebellлярной атрофией и поражением вегетативных ядер продолговатого и спинного мозга. Важность GCI для патогенеза MSA в целом признана и подчеркнута недавним анализом моделей трансгенных мышей, на которых анализировали эффект сверхэкспрессии aSyn в олигодендроглии. У мышей tg, сверхэкспрессирующих aSyn человека, наблюдали как GCI-подобные агрегаты, так и биохимические маркеры MSA.

DLB является вторым наиболее распространенным типом нейродегенеративной деменции в западном обществе после болезни Альцгеймера (AD). На ее долю приходится 4–7% клинически диагностированной деменции, при этом такое же количество случаев прогнозируется для отсутствия правильного клинического диагноза. Диагностика DLB является сложной задачей, поскольку заболевание представляет собой «промежуточное звено» между AD и PD и демонстрирует перекрывающиеся характеристики обоих заболеваний. Четыре клинических консенсусных критерия, два из которых должны присутствовать для диагностики «вероятной DLB», представляют собой колебания когнитивных функций и внимания, повторяющиеся зрительные галлюцинации, расстройство поведения в фазе быстрого сна и спонтанные двигательные признаки паркинсонизма, которые возникают на более поздних стадиях заболевания, чем другие критерии. Это может быть подкреплено множеством дополнительных клинических критериев, которые могут, но не обязательно имеют место, например, обмороки и преходящие эпизоды отсутствия реакции, апатия, тревога, депрессия, психотические эпизоды и чувствительность к нейролептикам и многие другие. Симптомы не являются одинаковыми среди пациентов.

Патология DLB характеризуется белковыми включениями, называемыми тельцами Леви (LB), преимущественно состоящими из альфа-синуклеина (aSyn), который играет

роль в потере функции и структуры нейронов. Однако при DLB LB обнаруживаются диффузно по всей коре, тогда как при PD они обнаруживаются преимущественно в дофаминергических нейронах черной субстанции. LB при DLB менее четко разграничены, менее эозинофильны и менее нитевидны, чем при PD. Кроме того, в головном мозге пациентов, страдающих DLB, можно обнаружить амилоидные бляшки, содержащие в основном удлиненные по карбокси-концам формы бета-амилоида (Абета), такие как Абета1-42. Отложение коркового амилоида связано с перфузией нижних височных долей и тенденцией к атрофии гиппокампа.

Существующие в настоящее время потенциальные способы лечения, способные изменить основную нейродегенерацию, связанную с альфа-синуклеином, все еще находятся в стадии разработки. Вакцинация PD01 и PD03, ранее разработанной AFFITOPE[®], нацеленной на aSyn, доказала свою эффективность на различных животных моделях нарушений агрегации aSyn, уменьшая патологию aSyn, стабилизируя нейровоспаление, а также улучшая поведенческие нарушения (Mandler et al. 2014, WO 2009/103105 A1, WO 2011/020133 A1, WO 2017/076873 A1). Эти пептиды оказались безопасными и хорошо переносимыми вакцинами, способными индуцировать у человека специфические антитела. Другую активную иммунотерапию, нацеленную на альфа-синуклеин, UB-312, протестировали на модели трансгенных мышей с альфа-синуклеином человека, и было показано, что она снижает накопление альфа-синуклеина в головном мозге и кишечнике. Это сопровождалось улучшением двигательной активности обработанных животных (Nimmo JT et al., 2022 Acta Neuropathol, Jan,143(1):55-73). UB-312 в настоящее время проходит клинические испытания фазы 1/2. Это исследование определит безопасность, переносимость и иммуногенность UB-312 у здоровых участников и пациентов, страдающих PD и MSA (Fleming SM et al., 2022, Neuropharmacology 202).

В настоящее время в коммерческом доступе нет одобренных вакцин против альфа-синуклеина для профилактики и/или лечения заболеваний, связанных с альфа-синуклеином. Таким образом, может быть желательно идентифицировать новые терапевтические вакцинные композиции, которые могут предотвращать и/или лечить эти заболевания.

Раскрытие настоящего изобретения

Авторы настоящего изобретения разработали вакцинные композиции, содержащие антигенные пептиды, которые, как показано в настоящем документе, обладают высокой иммуногенностью и индуцируют высокие количества aSyn-специфических антител на

периферии. Прогнозируется, что вакцинные композиции увеличивают связывание индуцированных антител с мишенью посредством реакции олигоклональных антител.

Согласно одному общему аспекту настоящее изобретение относится к липосомальной композиции, содержащей антигенный пептид, экспонированный на поверхности липосомы, и адъювант, где антигенный пептид имеет структуру:

$$X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6,$$

где:

E представляет собой глутаминовую кислоту, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин,

X₁, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G представляет собой глицин,

X₂, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой I или G, где I представляет собой изолейцин, и G имеет значения, как определено выше,

X₃ представляет собой L, K или S, где L представляет собой лейцин, K представляет собой лизин, и S представляет собой серин,

X₄ представляет собой D, K или S, где D, K и S имеют значения, как определено выше,

X₅ представляет собой M, где M представляет собой метионин или сульфоксид метионина,

X₆ представляет собой A, K или S, где A представляет собой аланин, и K и S имеют значения, как определено выше.

В настоящем документе применяют однобуквенный аминокислотный код, широко известный в данной области техники.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к липосомальной вакцинной композиции, содержащей антигенный пептид, экспонированный на поверхности липосомы, и адъювант, где антигенный пептид имеет структуру:

$$X_1-X_2-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A$$

где:

L представляет собой лейцин, E представляет собой глутаминовую кислоту, M представляет собой метионин или сульфоксид метионина, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин, A представляет собой аланин,

X₁, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G представляет собой глицин,

X₂, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой I или G, где I представляет собой изолейцин, и G имеет значения, как определено выше.

Согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к липосомальной вакцинной композиции, содержащей антигенный пептид, экспонированный на поверхности липосомы, и адъювант, где антигенный пептид содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 1). Таким образом, настоящее изобретение согласно одному аспекту охватывает применение нативного aSyn-пептида (аминокислотное положение 111-124, со ссылкой на SEQ ID NO: 28) в липосомальной вакцинной композиции.

Согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к липосомальной вакцинной композиции, содержащей антигенный пептид, экспонированный на поверхности липосомы, и адъювант, где антигенный пептид содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 38). Таким образом, настоящее изобретение согласно другому аспекту охватывает применение нативного aSyn-пептида (аминокислотное положение 113-124 со ссылкой на SEQ ID NO: 28) в липосомальной вакцинной композиции.

Антигенный пептид липосомальной вакцинной композиции может содержать, состоять по существу из или состоять из аминокислотной последовательности G-G-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 45). Таким образом, настоящее изобретение может охватывать применение пептида aSyn (аминокислотное положение 111-124) с одной заменой I на G в аминокислотном положении 112, где X₂ представляет собой G, и, таким образом, пептид aSyn липосомальной вакцинной композиции, имеет аминокислотную последовательность: G-G-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 45).

Антигенный пептид необязательно может содержать от 1 до 2 аминокислотных различий (т.е. 1, 2 отличия) по сравнению с аминокислотной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A. Отличия обычно представляют собой аминокислотные замены согласно вариантам, изложенным для каждого положения. Эти отличия могут быть выбраны из любой из аминокислот X₁-X₂. Отсутствие X₁ и/или X₂ считается отличием. Например, SEQ ID NO: 38 не содержит аминокислот в положениях X₁ и X₂ и, таким образом, представляет два отличия по сравнению с SEQ ID NO: 1, а SEQ ID NO: 45 представляет аминокислотную замену в положении X₂ (где I заменяется на G) и, таким образом, представляет одно различие по сравнению с аминокислотной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A.

Согласно некоторым вариантам осуществления антигенный пептид липосомальной вакцинной композиции, содержащий аминокислотные последовательности: SEQ ID NO: 1,

SEQ ID NO: 38 или SEQ ID NO: 45, не содержит дипептид Y-E, следующий непосредственно за остатком аланина (т.е. в положении X₆), где Y представляет собой тирозин, а E представляет собой глутаминовую кислоту.

Обычно антигенные пептиды, входящие в состав липосомальной вакцинной композиции согласно настоящему изобретению, не содержат дополнительных аминокислотных остатков альфа-синуклеина после аланина в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 38. В частности, они не содержат дипептид Y-E, следующий непосредственно за аланином.

Антигенные пептиды липосомальной вакцинной композиции могут содержать, состоять из или состоять по существу из аминокислотных последовательностей, выбранных из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 или SEQ ID NO: 45. Однако антигенные пептиды могут содержать ограниченное количество дополнительных N- и/или C-концевых аминокислотных остатков, чтобы обеспечить вставку антигенного пептида в липосому (таким образом, который позволяет пептидному антигену быть экспонированным на поверхности липосомы). Например, антигенный пептид может включать дополнительные остатки, такие как остатки лизина, для облегчения пальмитоилирования. Эти остатки обычно обнаруживаются на N- и/или C-конце последовательности антигенного пептида. Согласно некоторым вариантам осуществления к N- и/или C-концу могут быть добавлены 1-4 остатка лизина, предпочтительно 2 остатка лизина добавлены к N- и C-концу.

В этом контексте термин «состоит по существу из» означает, что пептидный антиген, происходящий из альфа-синуклеина, включает от 10 до 14 смежных аминокислот, начиная с положения 111 или 113 альфа-синуклеина (SEQ ID NO: 28), но может включать ограниченное количество дополнительных остатков, как например, от двух до четырех остатков лизина, для облегчения экспонирования на поверхности липосомы.

Пептидный антиген, содержащий, состоящий из или состоящий по существу из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 или SEQ ID NO: 45, включенный в липосомальные композиции согласно настоящему изобретению, может дополнительно включать по меньшей мере одну химическую модификацию. Модификации, такие как амидирование, эстерификация, пальмитоилирование, формилирование, ацетилирование, другие химические замены и т.д., могут быть выполнены в отношении свободного C-концевого (или N-концевого) конца пептида или его боковых цепей. Такие модификации входят в объем термина «состоящие по существу из» в контексте настоящего изобретения, даже если это не указано отдельно. Пальмитоилирование является предпочтительной модификацией для облегчения

экспонирования пептидного антигена на поверхности липосомы, которая может иметь структурное расположение, способствующее продукции нейтрализующих антител.

Далее определены варианты осуществления настоящего изобретения со ссылками на пронумерованные пункты.

1. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:

пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы,

пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

адъювант,

где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из структуры:

X_1 - X_2 -L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A,

где:

L представляет собой лейцин, E представляет собой глутаминовую кислоту, M представляет собой метионин или сульфоксид метионина, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин, A представляет собой аланин,

X_1 присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G представляет собой глицин,

X_2 , присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой I или G, где I представляет собой изолейцин, и G имеет значения, как определено выше,

где пептидный антиген не содержит дипептид Y-E, непосредственно следующий за A, где Y представляет собой тирозин, и E имеет значения, как определено выше.

2. Липосомальная композиция по пункту 1, где X_1 и X_2 присутствуют.

3. Липосомальная композиция по пункту 1, где X_1 и X_2 отсутствуют.

4. Липосомальная композиция по пункту 1 или 2, где X_2 представляет собой I.

5. Липосомальная композиция по пункту 1, где пептидный антиген выбран из группы, состоящей из G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 1), L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 38) и G-G-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 45).

6. Липосомальная композиция по любому из предшествующих пунктов, где M представляет собой сульфоксид метионина.

7. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептидный антиген дополнительно содержит по меньшей мере одну химическую модификацию.

8. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где один или оба конца пептидного антигена дополнительно содержат один остаток аргинина I или глутаминовой кислоты I.

9. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где один или оба конца пептидный антиген дополнительно содержат 3 остатка аргинина I или глутаминовой кислоты I.

10. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, содержит по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 35 (PaDre), SEQ ID NO: 36 (P2), SEQ ID NO: 37 (P30), SEQ ID NO: 21 (SAT13), SEQ ID NO: 22 (SAT15), SEQ ID NO: 23 (SAT17), SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и любой их комбинации.

11. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29 (SAT42), SEQ ID NO: 30 (SAT43), SEQ ID NO: 31 (SAT44), SEQ ID NO: 32 (SAT47), SEQ ID NO: 35 (PaDre), SEQ ID NO: 36 (P2) и SEQ ID NO: 37 (P30) или их близкого аналога.

12. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или ее близкого аналога.

13. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4 и/или лиганд толл-подобного рецептора 9.

14. Липосомальная вакцинная композиция по пункту 13, где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или где лиганд толл-подобного рецептора 9 содержит CpG.

15. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где адъювант содержит монофосфорилированный липид А (MPLA).

16. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где адъювант дополнительно содержит CpG.

17. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, инкапсулирован в липосому.

18. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:
пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности,

выбранной из G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 1), L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 38) и G-G-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 45), и

пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или ее близкого аналога, и

адьювант, где адьювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, и

где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA).

19. Липосомальная вакцинная композиция по пункту 18, где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 1).

20. Липосомальная вакцинная композиция по пункту 18, где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 38).

21. Фармацевтическая композиция, содержащая липосомальную вакцинную композицию по любому из пунктов 1 – 20 и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество.

22. Набор, содержащий липосомальную вакцинную композицию, как определено в любом из пунктов 1 – 20, или фармацевтическую композицию по пункту 21 и контейнер.

23. Липосомальная вакцинная композиция, как определено в любом из пунктов 1 – 20, или фармацевтическая композиция, как определено в пункте 21, или набор, как определено в пункте 22, для применения для лечения или профилактики заболеваний, нарушений или аномалий, связанных с агрегатами альфа-синуклеина.

24. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по пункту 23, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, представляют собой синуклеинопатию.

25. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по пункту 23 или 24, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия выбраны из группы, состоящей из болезни Паркинсона (спорадической, семейной с мутациями альфа-синуклеина, семейной с мутациями, отличными от альфа-синуклеина, истинной вегетативной недостаточности и дисфагии с тельцами Леви), деменции с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона (PDD)), болезни диффузных телец Леви (DLBD), спорадической болезни Альцгеймера, семейной болезни Альцгеймера с мутациями APP,

семейной болезни Альцгеймера с PS-1, PS-2 или другими мутациями, семейной британской деменции, варианта болезни Альцгеймера с тельцами Леви и синдрома Дауна, множественной системной атрофии (синдром Шая-Дрейджера, стриатонигральная дегенерация и оливопонтocerebellарная атрофия), черепно-мозговой травмы, хронической травматической энцефалопатии, деменции боксеров, таупатий (болезнь Пика, лобно-височная деменция, прогрессирующий надъядерный паралич, кортико-базальная дегенерация и болезнь Ниманна-Пика типа С1, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17), болезни двигательных нейронов, болезни Хантингтона, бокового амиотрофического склероза (спорадический, семейный и Гуам-комплекс ALS-деменции), нейроаксональной дистрофии, нейродегенерации с накоплением железа в головном мозге 1 типа (синдром Галлервордена-Шпатца), прионных болезней, болезни Крейцфельдта-Якоба, атаксии-телеангиэктазии, синдрома Мейжа, подострого склерозирующего панэнцефалита, синдрома Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, миозита с включенными тельцами, болезни Гоше, болезни Краббе, а также других лизосомальных нарушений накопления (включая синдром Куфора-Ракеба и синдром Санфилиппо) и нарушения поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (REM).

26. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по любому из пунктов 23 - 25, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия выбраны из группы, состоящей из связанных с тельцами Леви, и/или нейритами Леви, и/или глиальными цитоплазматическими включениями, таких как болезнь Паркинсона, множественная системная атрофия, деменция с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона, (PDD)) или болезнь диффузных телец Леви.

27. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по любому из пунктов 23 - 26, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия представляют собой множественную системную атрофию.

28. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по пунктам 23 - 26, заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия представляют собой болезнь Паркинсона.

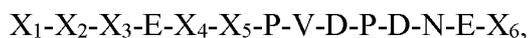
29. Способ профилактики, лечения и облегчения заболеваний, связанных с заболеванием, нарушением или аномалией, связанными с агрегатами альфа-синуклеина,

где способ предусматривает введение субъекту липосомальной вакцинной композиции по любому из пунктов 1 - 20 или фармацевтической композиции по пункту 21.

30. Способ по пункту 29, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, представляют собой синуклеинопатию.

31. Способ по пункту 29 или 30, где введение субъекту липосомальной вакцинной композиции по любому из пунктов 1-20 или фармацевтической композиции по пункту 21 индуцирует защитный иммунный ответ против агрегатов альфа-синуклеина.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к липосомальной композиции, содержащей антигенный пептид, экспонированный на поверхности липосомы, и адьювант, где антигенный пептид имеет структуру:



где:

E представляет собой глутаминовую кислоту, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин,

X₁, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G представляет собой глицин,

X₂, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой I или G, где I представляет собой изолейцин, и G имеет значения, как определено выше,

X₃ представляет собой L, K или S, где L представляет собой лейцин, K представляет собой лизин, и S представляет собой серин,

X₄ представляет собой D, K или S, где D, K и S имеют значения, как определено выше,

X₅ представляет собой M, где M представляет собой метионин или сульфоксид метионина,

X₆ представляет собой A, K или S, где A представляет собой аланин, и K и S имеют значения, как определено выше.

Предпочтительно пептид модифицирован по сравнению с этой пептидной последовательностью. Такие пептиды способны вызывать сильный ответ анти-aSyn антител, и индуцированные антитела демонстрируют высокую перекрестную реактивность с aSyn человека, даже несмотря на то, что эти пептиды имеют последовательность, которая отлична от нативной последовательности. Иммунные ответы, превосходящие ответы с нативной последовательностью (т.е. направленные на те же самые нативные структуры), были достигнуты с помощью пептидов согласно настоящему изобретению. Таким образом, настоящее изобретение относится к липосомальной вакцинной композиции, содержащей:

антигенный пептид, экспонированный на поверхности липосомы,
и адьювант,

где антигенный пептид содержит, состоит по существу из или состоит из структуры:

X₁-X₂-X₃-E-X₄-X₅-P-V-D-P-D-N-E-X₆,

где:

E представляет собой глутаминовую кислоту, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин,

X₁, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G представляет собой глицин,

X₂, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G имеет значения, как определено выше,

X₃ представляет собой L, K или S, где L представляет собой лейцин, K представляет собой лизин, и S представляет собой серин,

X₄ представляет собой D, K или S, где D, K и S имеют значения, как определено выше,

X₅ представляет собой M, где M представляет собой метионин или сульфоксид метионина,

X₆ представляет собой A, K или S, где A представляет собой аланин, и K и S имеют значения, как определено выше,

при условии, что X₃-E-X₄-X₅-P-V-D-P-D-N-E-X₆ не представляет собой L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A, и где антигенный пептид не содержит дипептид Y-E, непосредственно следующий за X₆, где Y представляет собой тирозин, и E имеет значения, как определено выше. Таким образом, в настоящем документе в общем используется однобуквенный код аминокислоты.

Антигенный пептид, описанный в настоящем документе, может содержать от 1 до 5 аминокислотных отличий (т.е. 1, 2, 3, 4 или 5 отличий) или может содержать от 1 до 4 аминокислотных отличий по сравнению с аминокислотной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A. Отличия обычно представляют собой аминокислотные замены в соответствии с вариантами, изложенными для каждого положения. Однако согласно некоторым вариантам осуществления X₆ удаляется. Более предпочтительно присутствуют 2, 3, 4 или 5 аминокислотных отличий по сравнению с аминокислотной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A (SEQ ID NO: 1, которая представляет собой последовательность альфа-синуклеина дикого типа из аминокислот 111-124 согласно SEQ ID NO: 28). Эти отличия могут быть выбраны из любой из аминокислот X₁-X₆.

Согласно некоторым вариантам осуществления антигенный пептид содержит аминокислотные отличия по сравнению с аминокислотной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A в одном или нескольких положениях, выбранных из X₁, X₂, X₃, X₄, X₅ и X₆. Отсутствие X₁, X₂ и/или X₆ считается отличием.

Метионин представляет собой встречающуюся в природе аминокислоту. Серосодержащие аминокислоты метионин и цистеин окисляются легче, чем другие аминокислоты. Окисление серы метионина приводит к образованию сульфоксида метионина или сульфона метионина. Согласно некоторым вариантам осуществления антигенные пептиды липосомальной композиции согласно настоящему изобретению содержат метионин в его окисленной форме сульфоксида метионина. Согласно некоторым вариантам осуществления липосомальная композиция согласно настоящему изобретению содержит антигенный пептид, содержащий сульфоксид метионина. Согласно варианту осуществления X₅ представляет собой метионин или сульфоксид метионина. Согласно другому варианту осуществления X₅ представляет собой метионин. Согласно другому варианту осуществления X₅ представляет собой сульфоксид метионина.

Липосомальная композиция согласно настоящему изобретению содержит антигенный пептид, который сохраняет свою способность генерировать аSyn-специфические антитела при использовании в качестве иммуногена. Более того, антигенные пептиды согласно настоящему изобретению являются более иммуногенными, чем соответствующий пептид аSyn дикого типа (содержащий 14-мерный G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A, (SEQ ID NO: 1)) с точки зрения образования аSyn-специфических антител, как показано в сравнительных экспериментах, представленных в настоящем документе (пример 2). Они также более иммуногенны, чем другие пептиды аSyn из С-концевой области аSyn, см. Таблицы 2 и 4 ниже.

Антигенные пептиды, содержащиеся в липосомальной вакцинной композиции согласно настоящему изобретению, обычно не содержат дополнительных аминокислотных остатков альфа-синуклеина после X₆. В частности, они не содержат дипептид Y-E, следующий сразу за X₆. Как описано в настоящем документе, пептиды, включающие аминокислоты Y₁₂₅ и E₁₂₆, согласно прогнозам на основе анализов *in silico* связываются с высокой аффинностью с различными аллельными вариантами МНС I и, таким образом, представляют собой потенциальные аSyn-специфические цитотоксические Т-клеточные эпитопы (www.syfpeithi.de). Таким образом, никакие удлинения аминокислот (в отличие от слитых белков, раскрытых, например, в WO 2005/108423 A1) не должны присутствовать на С-конце, которые представляют нативную аминокислотную последовательность аSyn, т.е. конкретно Tug₁₂₅ и Glu₁₂₆, которые могли бы связываться с высокой аффинностью с

различными аллельными вариантами МНСI и, таким образом, могут быть потенциальными цитотоксическими Т-клеточными эпитопами. Соответственно, на С-конце пептида не должно присутствовать аминокислотного остатка Y или дипептидной цепи Y-E, где Y представляет собой тирозин, а E имеет значения, как определено выше.

Антигенные пептиды, включенные в липосомальную вакцинную композицию, могут, однако, содержать ограниченное количество дополнительных N-концевых аминокислотных остатков. Антигенные пептиды могут, дополнительно или альтернативно, содержать ограниченное количество дополнительных С-концевых аминокислотных остатков, чтобы обеспечить вставку антигенного пептида в липосому (таким образом, который позволяет пептидному антигену экспонироваться на поверхности липосом). Например, пептид может включать дополнительные остатки, такие как остатки лизина, для облегчения пальмитоилирования. Эти остатки обычно обнаруживаются на N- и/или С-конце пептида. Согласно некоторым вариантам осуществления к N- и/или С-концу могут быть добавлены 1-4 остатка лизина, предпочтительно 2 остатка лизина добавлены к N- или С-концу, или предпочтительно 2 остатка лизина добавлены к N- и С-концу. В этом контексте термин «состоит по существу из» означает, что пептидный антиген, происходящий из альфа-синуклеина, включает от 10 до 14 смежных аминокислот, начиная с положения 111 или 113 альфа-синуклеина (SEQ ID NO: 28), но может включать ограниченное количество дополнительных остатков, как например, от двух до четырех остатков лизина, для облегчения экспонирования на поверхности липосомы.

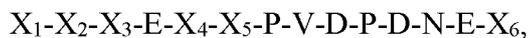
Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения один или оба конца пептидного антигена могут включать дополнительные остатки, которые не происходят из последовательности белка альфа-синуклеина, а скорее предназначены для модификации свойств пептида. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения пептидный антиген согласно настоящему изобретению дополнительно содержит короткую последовательность, содержащую, состоящую по существу из или состоящую из по меньшей мере одной аминокислоты, необязательно аргинина (R) или глутаминовой кислоты (E). Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения, пептидный антиген согласно настоящему изобретению дополнительно содержит короткую последовательность, содержащую, состоящую по существу из или состоящую из по меньшей мере трех аминокислот, необязательно аргинина (R) или глутаминовой кислоты (E). Эти последовательности называются короткими последовательностями. Они могут, например, состоять из таких последовательностей, как повторяющиеся последовательности аргинина (R), состоящие из 3 (RRR) и 8 (RRRRRRRR)

остатков аргинина, или повторяющиеся последовательности глутаминовой кислоты (E), состоящие из 3 (EEE) и 8 (EEEEEEEE) остатков глутаминовой кислоты.

Таким образом, антигенные пептиды согласно настоящему изобретению обычно составляют 11-22 аминокислоты в длину, предпочтительно 12-14 аминокислот в длину (т.е. 12, 13 или 14 аминокислот в длину). Особенно предпочтительно антигенные пептиды составляют 12 или 14 аминокислот в длину. Антигенные пептиды липосомальной вакциновой композиции вызывают гуморальный ответ при отсутствии Т-клеточного ответа. Таким образом, антигенные пептиды согласно настоящему изобретению сами по себе обычно не содержат Т-клеточные эпитопы, в частности цитотоксические Т-клеточные эпитопы.

Ожидается, что липосомальные вакцинные композиции согласно настоящему изобретению, содержащие антигенные пептиды, описанные в настоящем документе, будут высокоиммуногенными, и ожидается, что индуцированные антитела будут иметь низкую вариабельность от пациента к пациенту. Кроме того, липосомальные вакцинные композиции согласно настоящему изобретению, включающие пальмитоилированные пептиды, также могут преимущественно генерировать антитела против последовательностей альфа-синуклеина в конформации β -листа, что приводит к повышенной аффинности к патологическим и/или агрегированным видам α Syn. Известно, что периодические расположения пептидов, например, в липосомальной композиции, очень эффективно сшивают антигенный рецептор иммуноглобулина на В-клетках, обеспечивая сильный стимул для продукции антител (Pihlgren et al., 2013).

Согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к липосомальной композиции, содержащей антигенный пептид, экспонированный на поверхности липосомы, где антигенный пептид имеет структуру:



где:

E представляет собой глутаминовую кислоту, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин,

X_1 , присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G представляет собой глицин,

X_2 , присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой I или G, где I представляет собой изолейцин, и G имеет значения, как определено выше,

X_3 представляет собой L, K или S, где L представляет собой лейцин, K представляет собой лизин, и S представляет собой серин,

X₄ представляет собой D, K или S, где D, K и S имеют значения, как определено выше,

X₅ представляет собой M, где M представляет собой метионин или сульфоксид метионина,

X₆ представляет собой A, K или S, где A представляет собой аланин, и K и S имеют значения, как определено выше.

Согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к липосомальной композиции, содержащей антигенный пептид, экспонированный на поверхности липосомы, где антигенный пептид имеет структуру:

X₁-X₂-X₃-E-X₄-X₅-P-V-D-P-D-N-E-X₆,

где:

E представляет собой глутаминовую кислоту, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин,

X₁, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G где G представляет собой глицин,

X₂, присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G имеет значения, как определено выше,

X₃ представляет собой L, K или S, где L представляет собой лейцин, K представляет собой лизин, и S представляет собой серин,

X₄ представляет собой D, K или S, где D, K и S имеют значения, как определено выше,

X₅ представляет собой M, где M представляет собой метионин или сульфоксид метионина,

X₆ представляет собой A, K или S, где A представляет собой аланин, и K и S имеют значения, как определено выше,

при условии, что X₃-E-X₄-M-P-V-D-P-D-N-E-X₆ не представляет собой L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A.

Согласно некоторым вариантам осуществления X₁ и X₂ отсутствуют. Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение относится к липосомальной композиции, содержащей антигенный пептид, имеющий структуру:

X₃-E-X₄-X₅-P-V-D-P-D-N-E-X₆,

где:

Е представляет собой глутаминовую кислоту, Р представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин,

X_3 представляет собой L, K или S, где L представляет собой лейцин, K представляет собой лизин, и S представляет собой серин,

X_4 представляет собой D, K или S, где D, K и S имеют значения, как определено выше,

X_5 представляет собой M, где M представляет собой метионин или сульфоксид метионина,

X_6 представляет собой A, K или S, где A представляет собой аланин, и K и S имеют значения, как определено выше,

при условии, что X_3 -E- X_4 - X_5 -P-V-D-P-D-N-E- X_6 не представляет собой L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A.

Согласно некоторым вариантам осуществления, X_1 присутствует и представляет собой G. Согласно некоторым вариантам осуществления, X_2 присутствует и представляет собой G. Согласно некоторым вариантам осуществления, если X_1 присутствует, X_2 присутствует, и X_2 представляет собой G. Согласно некоторым вариантам осуществления X_3 представляет собой L, K или S. Согласно некоторым вариантам осуществления X_4 представляет собой D, S или K. Согласно некоторым вариантам осуществления X_5 представляет собой метионин или сульфоксид метионина, предпочтительно сульфоксид метионина. Согласно некоторым вариантам осуществления, X_6 представляет собой A, K или S.

Согласно некоторым вариантам осуществления, X_1 , X_2 присутствуют и каждый представляет собой G, и X_3 представляет собой K.

Согласно некоторым вариантам осуществления, X_1 , X_2 присутствуют и каждый представляет собой G, X_3 представляет собой K, и X_6 представляет собой A.

Согласно предпочтительным вариантам осуществления X_1 , X_2 присутствуют и каждый представляет собой G, X_3 представляет собой K, X_4 представляет собой S, и X_6 представляет собой A. Согласно предпочтительным вариантам осуществления X_1 , X_2 присутствуют и каждый представляет собой G, X_3 представляет собой K, X_4 представляет собой D, и X_6 представляет собой A.

Согласно некоторым вариантам осуществления X_3 представляет собой L или K.

Согласно некоторым вариантам осуществления X_4 представляет собой D или S.

Согласно некоторым вариантам осуществления X_5 представляет собой M.

Согласно некоторым вариантам осуществления X_6 представляет собой A или S.

Согласно некоторым вариантам осуществления X_1 и X_2 отсутствуют.

Согласно некоторым вариантам осуществления X_1 , X_2 отсутствуют, и X_3 представляет собой L.

Согласно предпочтительным вариантам осуществления X_1 , X_2 отсутствуют, X_3 представляет собой L, X_6 представляет собой S. Согласно другому предпочтительному варианту осуществления X_1 , X_2 отсутствуют, X_3 представляет собой L, и X_4 представляет собой D.

Пептидный антиген, включенный в липосомальные композиции согласно настоящему изобретению, может дополнительно включать по меньшей мере одну химическую модификацию. Модификации, такие как амидирование, эстерификация, пальмитоилирование, формилирование, ацетилирование, другие химические замены и т.д. свободного С-концевого (или N-концевого) конца пептида или его боковых цепей явно включены в объем настоящего изобретения. Такие модификации входят в объем термина «состоящие по существу из» в контексте настоящего изобретения, даже если это не указано отдельно. Пальмитоилирование является предпочтительной модификацией для облегчения отображения пептидного антигена на поверхности липосомы, которая может иметь структурное расположение, способствующее продукции нейтрализующих антител.

Пептиды согласно настоящему изобретению («(антигенный) пептид (пептиды) (согласно настоящему изобретению)», « $X_1 - X_6$ » и т.д.) могут быть предоставлены в композициях, подходящих для предполагаемого применения для профилактики и/или лечение синуклеинопатий, особенно в фармацевтических композициях, в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем. Такие фармацевтические композиции можно вводить пациенту, нуждающемуся в этом, в эффективном количестве для достижения профилактического и/или терапевтического эффекта, как более подробно обсуждается в настоящем документе.

Согласно определенным вариантам осуществления антигенный пептид согласно настоящему изобретению выбран из группы, состоящей из GILEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 1), GGKESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2), GGKEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 3), LESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 4), LEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 5), GGSESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 6), GGSESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 7), KEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 8), SESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 9), LESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 10), GGKESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 11), KESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 12), KESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 13), SEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 14), LEKMPVDPDNES (SEQ ID NO: 15), GGSESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 16), LEKMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 17), GGKEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 18),

GGKESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 19), GGKEKMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 20), LEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 38) и GGLEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 45).

Таким образом, согласно определенным вариантам осуществления антигенный пептид согласно настоящему изобретению выбран из группы, состоящей из GGKESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2), GGKEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 3), LESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 4), LEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 5), GGSESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 6), GGSESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 7), KEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 8), SESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 9), LESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 10), GGKESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 11), KESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 12), KESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 13), SEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 14), LEKMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 15), GGSESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 16), LEKMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 17), GGKEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 18), GGKESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 19) и GGKEKMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 20).

Предпочтительно, антигенный пептид согласно настоящему изобретению выбран из группы, состоящей из GGKESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2), GGKEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 3), LESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 4), LEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 5) и KESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 12).

Даже более предпочтительно антигенный пептид согласно настоящему изобретению выбран из группы, состоящей из GGKESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2), GGKEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 3), LESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 4). Согласно одному варианту осуществления антигенный пептид согласно настоящему изобретению представляет собой GGKESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2). Согласно одному варианту осуществления антигенный пептид согласно настоящему изобретению представляет собой KESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 12).

Согласно этим вариантам осуществления предпочтительно присутствует максимум одна, две, три, четыре или пять мутаций по сравнению с нативной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A. Согласно некоторым вариантам осуществления нет мутаций в антигенном пептиде по сравнению с нативной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A. Мутации представляют собой аминокислотные замены согласно вариантам, изложенным для каждого положения $X_1 - X_6$.

Пептидный антиген, происходящий из альфа-синуклеина, экспонируется на поверхности липосом. Обычно это происходит путем вставки во внешнюю поверхность липосомы. Вставка во внешнюю поверхность липосомы может быть облегчена путем присоединения пептидного антигена, происходящего из альфа-синуклеина, к фрагменту, который встраивается во внешнюю поверхность липосомы. Липосома может представлять

собой любую липосому, которая подходит для экспонирования пептидного антигена, происходящего из альфа-синуклеина, на поверхности, а также для инкапсуляции пептида, содержащего Т-клеточный эпитоп, в частности, нерелевантного пептида aSyn, содержащего универсальный эпитоп Т-хелперных клеток. Обычно фрагмент содержит гидрофобный фрагмент, обеспечивающий встраивание в липидный бислой липосомы. Фрагмент может представлять собой любой подходящий фрагмент, но он содержит жирную кислоту. Жирная кислота может содержать пальмитоильный остаток.

Согласно одному варианту осуществления липосомальная композиция содержит антигенный пептид, описанный в настоящем документе, присоединенный к одному или двум пальмитоильным остаткам в N- или C-концевых областях пептида. Таким образом, антигенный пептид моно- или дипальмитирован на одной и необязательно на обеих концевых областях пептида. Этому может способствовать включение остатков лизина в N- и C-концевые области пептидного антигена, происходящего из альфа-синуклеина. Остатки лизина пальмитоилированы.

Согласно другому варианту осуществления липосомальная композиция содержит антигенный пептид, описанный в настоящем документе, присоединенный по меньшей мере к одному пальмитоильному остатку в N- и C-концевых областях антигенного пептида. Таким образом, антигенный пептид дипальмитируется. Этому можно способствовать путем включения по меньшей мере одного остатка лизина в N- и C-концевые области пептидного антигена, происходящего из альфа-синуклеина. Остатки лизина пальмитоилированы.

Согласно другому варианту осуществления липосомальная композиция содержит антигенный пептид, присоединенный к двум пальмитоильным остаткам в N- и C-концевых областях пептида. Таким образом, антигенный пептид тетрапальмитируется. Этому можно способствовать путем включения двух остатков лизина в N- и C-концевые области пептидного антигена, происходящего из альфа-синуклеина. Остатки лизина пальмитоилированы.

Липосомальные вакцинные композиции согласно настоящему изобретению содержат пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, в частности эпитоп Т-хелперных клеток. Предпочтительно пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, содержит по меньшей мере два Т-клеточных эпитопа. Пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, может быть по меньшей мере частично инкапсулирован в липосому, и/или может быть также экспонирован на поверхности липосомы, и/или может быть по меньшей мере частично включен в липидный бислой липосомы. Предпочтительно пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, инкапсулирован. Обычно этого достигают путем формирования липосомы в растворе, содержащем пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп. Следует

отметить, что во время процесса инкапсуляции часть пептидов, содержащих Т-клеточный эпитоп, может адсорбироваться на внешней поверхности липосомы, а часть пептидов, содержащих Т-клеточный эпитоп, может включаться в липидный бислой липосомы. Таким образом, когда упоминается инкапсулированный Т-клеточный эпитоп, это означает, что по меньшей мере некоторые пептиды, содержащие Т-клеточный эпитоп, инкапсулированы.

Доля общего пептида, содержащего Т-клеточный эпитоп, который связан с липосомой, может составлять по меньшей мере 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% (остальная часть адсорбируется на поверхности и включается в липидный бислой). Точная степень инкапсуляции будет зависеть от свойств пептида, содержащего Т-клеточный эпитоп.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит по меньшей мере один или по меньшей мере два (2) Т-клеточных эпитопа. Т-клеточные эпитопы могут представлять собой по меньшей мере два (2) линейных Т-клеточных эпитопа или конъюгат нескольких Т-клеточных эпитопов, связанных вместе со спейсером или без него. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения Т-клеточные эпитопы содержат несколько Т-клеточных эпитопов, связанных вместе спейсером, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту, предпочтительно по меньшей мере три аминокислоты, более предпочтительно аминокислотную последовательность, содержащую VVR. Конъюгат содержит по меньшей мере два, три или четыре различных Т-клеточных эпитопа, инкапсулированных в липосому. Согласно некоторым вариантам осуществления Т-клеточные эпитопы происходят из дифтерийного токсина, столбнячного токсина, вируса Эпштейна-Барра, гемагглютинина вируса гриппа и/или гемоцианина лимфы улитки. Конкретные предпочтительные комбинации Т-клеточных эпитопов выбраны, таким образом, из:

- a) комбинации Т-клеточного эпитопа дифтерийного токсина и столбнячного токсина,
- b) комбинации Т-клеточного эпитопа вируса Эпштейна-Барра и столбнячного токсина,
- c) комбинации Т-клеточного эпитопа вируса Эпштейна-Барра, столбнячного токсина и гемоцианина лимфы улитки, или
- d) комбинации гемагглютинина Т-клеточного эпитопа вируса гриппа, дифтерийного токсина, столбнячного токсина и вируса Эпштейна-Барра.

Хотя вышеуказанные комбинации предпочтительно включены в указанном порядке, они могут быть включены в альтернативном порядке. Например, если имеется три Т-

клеточных эпитопа, А, В и С, они могут быть включены в любой из порядков ABC, ACB, BAC, BCA, CAB или CBA.

Такие пептиды предпочтительно включены в вакцинные композиции согласно настоящему изобретению. Таким образом, пептиды, полезные согласно настоящему изобретению, содержат, состоят по существу из или состоят из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 21 (SAT13), SEQ ID NO: 22 (SAT15), SEQ ID NO: 23 (SAT17), SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и/или любой их комбинации. Согласно предпочтительному варианту осуществления Т-клеточный эпитоп содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и/или любой их комбинации. Согласно некоторым вариантам осуществления Т-клеточный эпитоп содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 24. Согласно некоторым вариантам осуществления, Т-клеточный эпитоп содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам осуществления Т-клеточный эпитоп содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 26. Согласно некоторым вариантам осуществления Т-клеточный эпитоп содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 27. Согласно другим вариантам осуществления Т-клеточный эпитоп содержит по меньшей мере две аминокислотные последовательности, выбранные из SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27. Согласно другим вариантам осуществления Т-клеточный эпитоп содержит по меньшей мере три аминокислотные последовательности, выбранные из SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27. Согласно наиболее предпочтительному варианту осуществления Т-клеточный эпитоп содержит SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27. Комбинации этих пептидов, укороченные до 10-20 аминокислот в длину, при необходимости, также могут быть включены в вакцинные композиции согласно настоящему изобретению. Комбинированные пептиды предпочтительно соединены одним или несколькими линкерами, как определено в настоящем документе.

Согласно некоторым вариантам осуществления Т-клеточные эпитопы согласно настоящему изобретению могут включать одну или несколько модификаций, таких как без ограничения аминокислотные замены и посттрансляционная модификация. Согласно более предпочтительному варианту осуществления Т-клеточные эпитопы согласно настоящему изобретению включают от одной до пяти модификаций аминокислот.

Пептиды эпитопа Pan DR (PADRE или PaDre) (имеющие последовательность AKFVAAWTLKAAA (SEQ ID NO: 35) известны, см., например, Alexander et al. (1994) и de Guercio et al. (1997). Было обнаружено, что пептиды PADRE представляют собой пептиды,

которые способствуют образованию антител и обеспечивают активность хелперных Т-клеток *in vivo*. Эти свойства позволяют предположить, что конструкции, содержащие пептиды PADRE, могут быть столь же эффективны в генерировании иммунного ответа, как и большие мультивалентные антигены.

Пептиды P2 (имеющие аминокислотную последовательность: QYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 36)) и P30 (имеющие аминокислотную последовательность: FNNFTTVSFWLRVPKVSASHLE (SEQ ID NO: 37)) были получены из столбнячного токсина, см., например, Panina-Bordignon et al (1989), и Boeckler et al., (1999).

Согласно некоторым вариантам осуществления, липосомальная вакцинная композиция согласно настоящему изобретению содержит универсальный Т-клеточный эпитоп, содержащий, состоящий по существу из или состоящий из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 29 (SAT42), SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности, как определено в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления липосомальная вакцинная композиция согласно настоящему изобретению содержит универсальный Т-клеточный эпитоп, содержащий, состоящий по существу из или состоящий из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности, как определено в настоящем документе.

Согласно некоторым вариантам осуществления, липосомальная вакцинная композиция согласно настоящему изобретению содержит пептид, имеющий универсальный Т-клеточный эпитоп, содержащий, состоящий по существу из или состоящий из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или SEQ ID NO: 33 (SAT58). Согласно некоторым вариантам осуществления липосомальная вакцинная композиция содержит настоящему изобретению содержит пептид, имеющий универсальный Т-клеточный эпитоп, содержащий, состоящий по существу из или состоящий из SEQ ID NO: 33 (SAT58).

Предпочтительно комбинация Т-клеточных эпитопов представлена в пептиде, содержащем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 (SAT42), SEQ ID NO: 30 (SAT43), SEQ ID NO: 31 (SAT44), SEQ ID NO: 32 (SAT47), SEQ ID NO: 35 (PaDre), SEQ ID NO: 36 (P2), SEQ ID NO: 37 (P30), SEQ ID NO: 21 (SAT 13), SEQ ID NO: 22 (SAT 15), SEQ ID NO: 23 (SAT17), SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 или SEQ ID NO: 27 или вариант (который может упоминаться как близкий аналог последовательности), имеющий по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или предпочтительно 99% идентичности последовательности с ними, или вариант, содержащий от одной до пяти аминокислотных замен, при условии что полученный пептид сохраняет Т-клеточный эпитоп.

Согласно одному варианту осуществления комбинация Т-клеточных эпитопов представлена в пептиде, содержащем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (SAT47) или вариант (который может упоминаться как близкий аналог последовательности), имеющий по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или предпочтительно 99% идентичности последовательности с ними, или вариант, содержащий от одной до пяти аминокислотных замен, при условии, что полученный пептид сохраняет Т-клеточный эпитоп.

Согласно одному варианту осуществления комбинация Т-клеточных эпитопов представлена в пептиде, содержащем аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 (SAT58) или вариант (который может упоминаться как близкий аналог последовательности), имеющий по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или предпочтительно 99% идентичности последовательности с ними, или вариант, содержащий от одной до пяти аминокислотных замен, при условии, что полученный пептид сохраняет Т-клеточный эпитоп.

Выравнивание варианта обычно проводят на основе сравнения с последовательностью родительского линейного пептида полной длины. Доступны и регулярно используются различные алгоритмы выравнивания, такие как CLUSTALW и GAP. Состав этих пептидов более подробно поясняется со ссылкой на Таблицу 1 ниже. Такие пептиды включены в липосомальные вакцинные композиции согласно настоящему изобретению. Предпочтительно липосомальная вакцинная композиция согласно настоящему изобретению содержит пептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 (SAT42), SEQ ID NO: 32 (SAT47) или ее близкий аналог, как определено в настоящем документе.

Даже более предпочтительно липосомальная вакцинная композиция содержит пептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (SAT 47) или ее близкий аналог. Например, липосомальная вакцинная композиция может содержать пептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO 33 (SAT58).

Таблица 1.

Название	Последовательность	Происхождение пептида
SAT42	VHNNTTEEIVAQSIASSLMVPMG APQYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 29)	Дифтерийный токсин +Столбнячный токсин

SAT43	VYGGSKTSLYNLRRGTALAIVVR QYIKANSKFIGITELVVRPIFFLHH SNTDRLWAI (SEQ ID NO: 30)	Вирус Эпштейна-Барра + Столбнячный токсин + KLH
SAT44	VYGGSKTSLYNLRRGTALAIVVR QYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 31)	Вирус Эпштейна-Барра + Столбнячный токсин
SAT47	SMGVYQILAIYSTVVRIVAQSIALS SVVRYIKANSKFIGVVRLYNLRRG TAL (SEQ ID NO: 32)	Гемагглютинин вируса гриппа + Дифтерийный токсин+Столбнячный токсин + Вирус Эпштейна-Барра
SAT58	SAGVYQILAIYSTVVRIVAQSIALS SVVRYIKANSKFIGVVRLYNLRRG TAL (SEQ ID NO: 33)	Гемагглютинин вируса гриппа + Дифтерийный токсин+Столбнячный токсин + Вирус Эпштейна-Барра
SAT13	VHHNTEEIVAQSIALSSLMV SEQ ID NO: 21	Дифтерийный токсин
SAT15	IDGVKLESMGVYQILAIYSTVASS L SEQ ID NO: 22	Гемагглютинин вируса гриппа
SAT17	VYGGSKTSLYNLRRGTALAI SEQ ID NO: 23	Вирус Эпштейна-Барра
Усеченный пептид 1	SMGVYQILAIYST SEQ ID No: 24	Гемагглютинин вируса гриппа
Усеченный пептид 2	IVAQSIALSS SEQ ID NO: 25	Дифтерийный токсин
Усеченный P2	YIKANSKFIG SEQ ID No: 26	Столбнячный токсин
Усеченный пептид 3	LYNLRRGTAL SEQ ID NO: 27	Вирус Эпштейна-Барра
Усеченный пептид 4	SAGVYQILAIYST SEQ ID NO: 46	Гемагглютинин вируса гриппа

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения Т-клеточные эпитопы могут быть инкапсулированы или экспонированы на поверхности липосомы. В зависимости от природы Т-клеточного эпитопа он может в некоторой степени связываться или ассоциироваться с липосомальной мембраной, обеспечивая некоторый уровень поверхностного экспонирования и/или некоторый уровень внутри липосомальной мембраны.

Согласно некоторым вариантам осуществления липосома имеет отрицательный поверхностный заряд, липосома является анионной. Предпочтительно липосома содержит фосфолипиды, и даже более предпочтительно фосфолипиды содержат димирситоилфосфатидилхолин (DMPC) и димирситоилфосфатидилглицерин (DMPG). Липосома может дополнительно содержать холестерин. Молярные соотношения этих трех компонентов могут составлять согласно некоторым вариантам осуществления.

Наиболее предпочтительная конструкция, таким образом, содержит антигенный пептид, восстановленный в липосоме. Соответственно эти композиции согласно настоящему изобретению в общем могут упоминаться в настоящем документе как «липосомальные вакцинные композиции согласно настоящему изобретению».

Композиции согласно настоящему изобретению обычно содержат по меньшей мере один адъювант. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения композиции согласно настоящему изобретению содержат два адъюванта. Задачей адъюванта (адъювантов) является усиление или стимуляция иммунного ответа у субъекта. Предпочтительно по меньшей мере один адъювант является частью носителя (в отличие от инкапсулированного внутри носителя). Таким образом, по меньшей мере один адъювант может образовывать часть липосомы, он может образовывать часть липидного бислоя. Адъювант может быть агонистом TLR. Таким образом, адъювант может представлять собой адъювант на основе липидов. Адъювант может быть по меньшей мере частично экспонирован на поверхности липосом, это может быть следствием того, что адъювант образует часть липидного бислоя. Адъювант может содержать агонист TLR4 и/или агонист TLR9.

Примеры лигандов TLR4, полезных для настоящего изобретения, включают агонист TLR4, включая без ограничения монофосфорилированный липид А (MPLA). В контексте настоящего изобретения термин «монофосфорилированный липид А» или «MPLA» относится к модифицированной форме липида А, которая является биологически активной частью эндотоксина липополисахарида грамотрицательных бактериальных (LPS). MPLA менее токсичен, чем LPS, сохраняя при этом иммуностимулирующую активность. В качестве вакцинного адъюванта MPLA стимулирует как клеточный, так и гуморальный

ответ на вакцинный антиген. Примеры MPLA включают без ограничения 3-О-деацил-4'-монофосфорилированный липид А, монофосфорилгексаациллипид А, 3-деацил, монофосфорил-3-деациллипид А и их структурно родственные варианты. MPLA, полезный согласно настоящему изобретению, может быть получен с использованием 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 МРТ[™] из различных коммерческих источников. Согласно конкретным вариантам осуществления агонист TLR4 представляет собой MPLA.

Примеры лигандов TLR9, полезных согласно настоящему изобретению, включают агонист TLR9, включая без ограничения олигонуклеотиды CpG.

Другие адъюванты, которые можно использовать согласно настоящему изобретению, включают, среди прочего, гидроксид алюминия (квасцы) и/или CpG. Любой подходящий CpG, известный специалистам в данной области техники, может быть использован в настоящем изобретении с учетом настоящего описания. Примеры таких олигонуклеотидов CpG включают без ограничения CpG2006 (также известный как CpG 7909), CpG 1018, CpG2395, CpG2216 или CpG2336. CpG можно липидировать с использованием способов, известных в данной области техники, с учетом настоящего раскрытия. Согласно некоторым вариантам осуществления 3'-конец или 5'-конец олигонуклеотида CpG- ковалентно связан с молекулой холестерина через фосфатную связь, необязательно через линкер ПЭГ. Таким образом, предпочтительным адъювантом является CpG-chol (холестерин). Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения CpG содержит CpG 2006 (также известный как CpG 7909), как определено следующей нуклеотидной последовательностью (SEQ ID NO: 34):

5' -tcgtcgttttgtcgttttgtcgtt-3' (SEQ ID NO: 34)

где основания представляют собой фосфориоаты (ps).

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

- a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20,
- b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и
- c. адъювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один лиганд TLR.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, или любой их комбинации, и

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32, и

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5 или SEQ ID NO: 12,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 24 и/или SEQ ID NO: 25 и/или SEQ ID NO: 27, и

c. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, предпочтительно монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, предпочтительно CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5 или SEQ ID NO: 12,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 27, и

с. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, предпочтительно монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, предпочтительно CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5 или SEQ ID NO:12,

б. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 46 и/или SEQ ID NO: 25 и/или SEQ ID NO: 27, и

с. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, предпочтительно монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, предпочтительно CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5 или SEQ ID NO:12,

б. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 27, и

с. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, предпочтительно монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, предпочтительно CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO:12,

б. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 46, и/или SEQ ID NO: 25, и/или SEQ ID NO: 27, и

с. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, предпочтительно монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, предпочтительно CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO:12,

б. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 25 и SEQ ID NO: 27, и

с. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, предпочтительно монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, предпочтительно CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4,

б. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

с. адъювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 12,

б. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

с. адъювант.

Согласно другим вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27 или любой их комбинации, и

c. адъювант.

Согласно другим вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 12,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 24, и SEQ ID NO: 25, и SEQ ID NO: 26, и SEQ ID NO: 27 или любой их комбинации, и

c. адъювант.

Согласно другим вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, и

c. адъювант.

Согласно другим вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 12,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46, и SEQ ID NO: 25, и SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27, и

c. адъювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32, и

c. адъювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 33 (SAT58), и

c. адъювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32, и

c. адъювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 33 (SAT58), и

с. адъювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2,

б. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 33 (SAT58), и

с. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4 и/или лиганд толл-подобного рецептора 9. Необязательно лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA), и лиганд толл-подобного рецептора 9 содержит CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4,

б) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32,

с) лиганд TLR4, содержащий монофосфорилированный липид А (MPLA), и

д) лиганд TLR9, содержащий CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

а) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 12,

б) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32,

с) лиганд TLR4, содержащий монофосфорилированный липид А (MPLA), и

д) лиганд TLR9, содержащий CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 12, и

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или ее близкого аналога, и

c) адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, и где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA).

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или ее близкого аналога, и

c) адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4 и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, и где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA), где лиганд толл-подобного рецептора 9 содержит CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32,

c) лиганд TLR4, содержащий монофосфорилированный липид А (MPLA), и

d) лиганд TLR9, содержащий CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 33 (SAT58),

c) лиганд TLR4, содержащий монофосфорилированный липид А (MPLA), и

d) лиганд TLR9, содержащий CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 12, и

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 33 (SAT58), и

c) адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, и где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA).

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 3,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32,

c) лиганд TLR4, содержащий монофосфорилированный липид А (MPLA), и

d) лиганд TLR9, содержащий CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 4,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32,

c) лиганд TLR4, содержащий монофосфорилированный липид А (MPLA), и

d) лиганд TLR9, содержащий CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 12,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32,

c) лиганд TLR4, содержащий монофосфорилированный липид А (MPLA), и

d) лиганд TLR9, содержащий CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c) адъювант,

где пептидный антиген содержит один или два пальмитоильных остатка в N- и/или C-концевых областях пептида.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 12,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c) адъювант,

где пептидный антиген содержит один или два пальмитоильных остатка в N- и/или C-концевых областях пептида.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c) адъювант,

где пептидный антиген содержит два пальмитоильных остатка в N- или C-концевых областях пептида.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c) адъювант,

где пептидный антиген содержит два пальмитоильных остатка в N- и C-концевых областях пептида.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 12,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c) адъювант,

где пептидный антиген содержит один или два пальмитоильных остатка в N-концевых областях пептида.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 2,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c) адъювант,

где пептидный антиген содержит один или два пальмитоильных остатка в N-концевых областях пептида.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 12,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c) адъювант,

где пептидный антиген содержит один или два пальмитоильных остатка в N-концевых областях пептида.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, или SEQ ID NO: 27, или любой их комбинации, и

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 24, и SEQ ID NO: 25, и SEQ ID NO: 26, и SEQ ID NO: 27.

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 или SEQ ID NO: 27.

c. адъювант.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46, и SEQ ID NO: 25, и SEQ ID NO: 26, и SEQ ID NO: 27.

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32, и

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 33 (SAT58), и

c. адъювант,

где адъювант содержит по меньшей мере один из лиганда TLR4 и/или лиганда TLR9.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 33 (SAT58), и

c. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4 и/или лиганд толл-подобного рецептора 9. Необязательно, лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA), и лиганд толл-подобного рецептора 9 содержит CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 32 (SAT47) или близкого аналога последовательности согласно SEQ ID NO: 32,

c) лиганд TLR4, содержащий монофосфорилированный липид А (MPLA), и

d) лиганд TLR9, содержащий CpG.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения липосомальная вакцинная композиция содержит:

a) пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 38 и SEQ ID NO: 45,

b) пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и

c) адъювант,

где пептидный антиген содержит один или два пальмитоильных остатка в N- и/или C-концевых областях пептида.

Липосомальные вакцинные композиции согласно настоящему изобретению можно вводить субъекту однократно для создания защитного иммунного ответа. Однако согласно некоторым вариантам осуществления вакцинные композиции согласно настоящему изобретению вводят несколько раз одному и тому же субъекту. Таким образом, согласно изобретению можно использовать так называемые схемы прайм-буст. Введение вакцины

обычно отделяется промежуточным периодом продолжительностью по меньшей мере 1 недели, а часто приблизительно 1 - 12 месяцев.

Время введения (например, путем инъекции) может значительно варьироваться от одного раза в день до одного раза в год или одного раза в десять лет. Иллюстративная схема состоит из иммунизации с последующим повторным введением вакцины (например, путем инъекции) через регулярные промежутки времени, например, с интервалом от 4 до 6 недель. Однако менее регулярное введение ревакцинации, например, ежегодная ревакцинация, может быть предпочтительным из соображений удобства и соблюдения.

Можно провести одну или несколько иммунизаций. Иллюстративная схема состоит из иммунизации с последующими повторными инъекциями через определенные промежутки времени, например, с интервалом 4-6 недель. Другой режим может включать иммунизацию с последующими повторными инъекциями через 1, 2, 6, 9 и/или 12 месяцев.

Альтернативно, бустерные инъекции можно проводить нерегулярно, на что указывает мониторинг иммунного ответа (например, когда уровень антител ниже порога, определенного врачом или специалистом в данной области техники).

Вакцинные композиции согласно настоящему изобретению представляют собой новый мощный терапевтический вариант для профилактики и лечения заболевания, нарушения или аномалии, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, включая без ограничения тельца Леви, и/или нейриты Леви, и/или глиальные цитоплазматические включения, таких как болезнь Паркинсона, множественная системная атрофия, деменция с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона, (PDD)) или болезнь диффузных телец Леви. Согласно некоторым вариантам осуществления каждый раз вводят одну и ту же вакцинную композицию – гомологичную схему вакцинации. Гомологичная вакцинация относится к схеме иммунизации с использованием одной и той же вакцины как для первичной (первая иммунизация), так и для бустерной (вторая или любая последующая иммунизация).

Вакцинные композиции согласно настоящему изобретению можно вводить субъекту любым подходящим путем введения. Как известно специалисту, вакцинные композиции можно вводить местно, перорально, ректально, назально или парентерально (например, внутривенно, внутрикожно, подкожно или внутримышечно). Кроме того, вакцинные композиции могут быть включены в матрицы замедленного высвобождения, такие как биоразлагаемые полимеры, причем полимеры имплантируют вблизи или в непосредственной близости от того места, где желательна доставка. Согласно

предпочтительным вариантам осуществления вакцинную композицию вводят внутримышечно или подкожно.

Вакцинные композиции согласно настоящему изобретению вводят субъектам с целью лечения, профилактики, индукции защитного иммунного ответа или облегчения симптомов, связанных с заболеванием, нарушением или аномалией, связанных с агрегатами альфа-синуклеина.

Таким образом, вакцинные композиции могут иметь как профилактическое, так и терапевтическое применение. Субъектом является млекопитающее и, как правило, человек.

Согласно варианту осуществления настоящего изобретения заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, представляют собой синуклеинопатию.

Согласно другим вариантам осуществления настоящего изобретения заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия, могут быть выбраны из группы, состоящей из болезни Паркинсона (спорадической, семейной с мутациями альфа-синуклеина, семейной с мутациями, отличными от альфа-синуклеина, истинной вегетативной недостаточности и дисфагии с тельцами Леви), деменции с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона (PDD)), болезни диффузных телец Леви (DLBD), спорадической болезни Альцгеймера, семейной болезни Альцгеймера с мутациями APP, семейной болезни Альцгеймера с PS-1, PS-2 или другими мутациями, семейной британской деменции, варианта болезни Альцгеймера с тельцами Леви и синдрома Дауна, множественной системной атрофии (синдром Шая-Дрейджера, стриатонигральная дегенерация и оливопонтocerebellарная атрофия), черепно-мозговой травмы, хронической травматической энцефалопатии, деменции боксеров, таупатий (болезнь Пика, лобно-височная деменция, прогрессирующий надъядерный паралич, кортико-базальная дегенерация и болезнь Ниманна-Пика типа C1, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17), болезни двигательных нейронов, болезни Хантингтона, бокового амиотрофического склероза (спорадический, семейный и Гуам-комплекс ALS-деменции), нейроаксональной дистрофии, нейродегенерации с накоплением железа в головном мозге 1 типа (синдром Галлервордена-Шпатца), прионных болезней, болезни Крейтцфельда-Якоба, атаксии-телеангиэктазии, синдрома Мейжа, подострого склерозирующего панэнцефалита, синдрома Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, миозита с включенными тельцами, болезни Гоше, болезни Краббе, а также других лизосомальных нарушений накопления (включая синдром Куфора-

Ракеба и синдром Санфилиппо) и нарушения поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (REM).

Согласно предпочтительному варианту осуществления заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия выбраны из группы, состоящей из телец Леви, и/или нейритов Леви, и/или глиальных цитоплазматических включений, таких как болезнь Паркинсона, множественная системная атрофия, деменция с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона, (PDD)) или болезнь диффузных телец Леви. Согласно варианту осуществления заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия представляют собой болезнь Паркинсона или множественную системную атрофию, более предпочтительно множественную системную атрофию.

Соответственно, настоящее изобретение относится к способу лечения, профилактики, индукции защитного иммунного ответа или облегчения симптомов, связанных с агрегатами альфа-синуклеина, у субъекта, причем способ предусматривает введение субъекту вакцинной композиции согласно настоящему изобретению.

Такие способы также могут быть выражены в форме медицинского применения вакцинных композиций согласно настоящему изобретению. Соответственно, настоящее изобретение также относится к вакцинной композиции согласно настоящему изобретению для применения для лечения, профилактики, индукции защитного иммунного ответа или облегчения симптомов, связанных с заболеванием, нарушением или аномалией, связанными с агрегатами альфа-синуклеина, у субъекта.

Таким образом, настоящее изобретение, кроме того, охватывает введение субъекту липосомальной вакцинной композиции или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для индукции иммунного ответа против агрегатов альфа-синуклеина. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение, кроме того, охватывает введение субъекту липосомальной вакцинной композиции или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению для индукции иммунного ответа против белка альфа-синуклеина. Согласно некоторым вариантам осуществления введение субъекту липосомальной вакцинной композиции или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению индуцирует защитный иммунный ответ против агрегатов альфа-синуклеина. Согласно некоторым вариантам осуществления введение субъекту липосомальной вакцинной композиции или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению индуцирует иммунный ответ против белка альфа-синуклеина, предпочтительно белка альфа-синуклеина человека.

Подобным образом, настоящее изобретение относится к применению вакцинных композиций согласно настоящему изобретению для получения лекарственного средства для лечения, профилактики, индукции защитного иммунного ответа или облегчения симптомов, связанных с заболеванием, нарушением или аномалией, связанными с агрегатами альфа-синуклеина, у субъекта.

Задачей настоящего изобретения является создание лекарственного средства в форме вакцины для профилактики и лечения синуклеинопатий. Еще одной задачей является создание пептидов для вакцинации, пригодных для использования человеком.

Задачей настоящего изобретения является создание липосомальной композиции в форме вакцины для применения для профилактики и лечения синуклеинопатий. Еще одной задачей является создание антигенных пептидов, пригодных для использования человеком.

Все варианты осуществления в настоящем документе применимы к таким способам или медицинским применениям, как бы они не были выражены. Введение вакцинной композиции согласно настоящему изобретению субъекту приводит к продукции обычно поликлональных антител IgG, которые связываются с патологическими и/или агрегированными формами альфа-синуклеина. Как уже пояснено, эти патологические и/или агрегированные формы альфа-синуклеина содержат мультимеры. Таким образом, полученные антитела можно назвать «специфическими к альфа-синуклеин-мультимеру» антителами.

Настоящее изобретение относится к липосомальным вакцинным композициям, содержащим антигенный пептид в терапевтически эффективном количестве. Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству антигенной/иммуногенной композиции, которое при введении человеку или животному вызывает иммунный ответ. Эффективное количество может быть легко определено специалистом в данной области техники с помощью обычных процедур.

В абсолютных количествах предпочтительно использовать количество антигенного пептида в дозе по меньшей мере 10 мкг, например, по меньшей мере 50 мкг. В этой связи важно отметить, что «мкг пептида», упомянутые в настоящем документе, относятся к количеству антигенного пептида в дозе и не включают другие компоненты липосомальной вакцинной композиции.

Настоящее изобретение, кроме того, относится к наборам, содержащим вакцинные композиции согласно настоящему изобретению. Соответственно, настоящее изобретение относится к набору для лечения, профилактики, индукции защитного иммунного ответа или облегчения симптомов, связанных с заболеванием, нарушением или аномалией, связанными с агрегатами альфа-синуклеина, у субъекта, содержащему липосомальную

вакцинную композицию согласно настоящему изобретению, как описано в настоящем документе. Такие наборы могут быть снабжены подходящими инструкциями по использованию. Инструкции по применению могут пояснять схему введения композиций. Таким образом, наборы могут содержать несколько (отдельных) доз вакцинных композиций согласно настоящему изобретению. Инструкции по применению могут дополнительно объяснять условия хранения композиций, особенно в течение периода времени между введением доз вакцинных композиций. Эти наборы могут быть применены ко всем соответствующим способам настоящего изобретения, раскрытым в настоящем документе.

Способы получения липосомальных вакцинных композиций согласно настоящему изобретению могут основываться на перекрестной инъекции, как проиллюстрировано в настоящем документе. Такие способы могут предусматривать следующие стадии:

- a) растворение липидов (и адъюванта, если он основан на липидах), образующих липосому, в растворе,
- b) растворение пептида, содержащего (универсальный) Т-клеточный эпитоп, в растворе,
- c) смешивание растворов, полученных на стадии a. и b., использование модуля инъекции поперечного потока для формирования промежуточных липосом, которые инкапсулируют пептид, содержащий универсальный Т-клеточный эпитоп,
- d) экструдирование промежуточных липосом через мембрану для уменьшения их размера и полидисперсности,
- e) Смешивание раствора, содержащего пептидный антиген, как описано в настоящем документе, с раствором, полученным на стадии d, с использованием модуля для инъекции с перекрестным потоком, что приводит к внедрению пептидного антигена в липидный бислой липосом.

Такие способы проиллюстрированы в настоящем документе, и их признаки могут быть применены к этим аспектам настоящего изобретения. В общих чертах, в способах используется перекрестная инъекция для инкапсуляции пептида, содержащего универсальный Т-клеточный эпитоп, и для вставки пептидного антигена, происходящего из альфа-синуклеина, в липидный бислой липосом.

Определения

Под «Т-клеточным эпитопом» подразумевают эпитоп, специфический для Т-клеток, которые присутствуют у большей части человеческой популяции. Обычно они происходят из антигенов, воздействию которых человек обычно подвергается в течение своей жизни.

Примеры включают антигены, включенные в рутинно вводимые вакцины. Конкретные примеры Т-клеточный эпитопов включают без ограничения столбнячный токсин, токсин вируса гриппа и дифтерийный токсин (включая их нетоксичные мутанты, такие как CRM197), гемоцианин лимфы улитки (KLH), вирус Эпштейна-Барра (EBV) и PaDre (ран HLA DR-связывающий эпитоп). Способность Т-клеточного эпитопа активировать Т-клетки является результатом по меньшей мере двух взаимодополняющих свойств: i) аффинности связывания с бороздкой HLA, что означает силу связывания, а также ii) его способности связывать различные гаплотипы HLA неупорядоченным образом, что означает способность охватывать очень разнообразные человеческие популяции с точки зрения различий в экспрессии молекул HLA. Т-клеточные эпитопы могут связываться с большинством аллелей MHC класса II, присутствующих у человеческой популяции. Таким образом, Т-клеточные эпитопы, включенные в вакцинные композиции согласно настоящему изобретению, могут быть способны стимулировать Т-клеточный ответ CD4. Таким образом, Т-клеточные эпитопы, включенные в вакцинные композиции согласно настоящему изобретению, могут быть способны стимулировать ответ хелперных Т-клеток, который усиливает продукцию антител, связанных с альфа-синуклеином, В-клетками. В настоящем документе они могут упоминаться как «универсальные» Т-клеточные эпитопы, термин, обычно используемый в данной области техники.

Таким образом, Т-клеточный эпитоп в настоящем документе следует понимать, как эпитоп, способный стимулировать хелперную Т-клетку или ответ хелперных Т-клеток.

«Близкий аналог последовательности» согласно настоящему изобретению может включать одну или несколько модификаций, таких как без ограничения аминокислотные замены, посттрансляционная модификация, удлинение (добавление дополнительных аминокислот), укорачивание длины (удаление некоторых аминокислот) последовательности, описанной в настоящем документе. Согласно предпочтительному варианту осуществления близкий аналог последовательности Т-клеточных эпитопов согласно настоящему изобретению включает от одной до пяти аминокислотных модификаций, предпочтительно одну, две или три модификации.

Термин «агонист толл-подобного рецептора 4» или «TLR4» относится к любому соединению, которое действует как агонист TLR4. Любой подходящий агонист TLR4, известный или открытый специалистами в данной области техники, может быть использован согласно настоящему изобретению. Примеры лигандов TLR4, полезных согласно настоящему изобретению, включают агонисты TLR4, включая без ограничения монофосфорилированный липид А (MPLA).

Термин «агонист толл-подобного рецептора 9» или «TLR9» относится к любому соединению, которое действует как агонист TLR9. Любой подходящий агонист TLR9, известный или открытый специалистами в данной области техники, может быть использован в настоящем изобретении. Примеры лигандов TLR9, полезных согласно настоящему изобретению, включают агонисты TLR9, включая без ограничения олигонуклеотиды CpG.

Фармацевтически приемлемые носители, разбавители, адъюванты и вспомогательные вещества хорошо известны в фармацевтической области и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990), Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed. (Lippincott, Williams & Wilkins, 1995), Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed., Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999), Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed., Pharmaceutical Press, London, 1994), The United States Pharmacopeia: The National Formulary (United States Pharmacopeial Convention), Fiedler's "Lexikon der Hilfsstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002, "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed., American Pharmaceuticals Association, 2003, и Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds., McGraw Hill, 1992), раскрытия которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

Носители, разбавители, адъюванты и фармацевтические вспомогательные вещества можно выбрать с учетом предполагаемого пути введения и стандартной фармацевтической практики. Эти соединения должны быть приемлемыми в том смысле, что они не вредны для их реципиента. См. Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990), Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed. (Lippincott, Williams & Wilkins, 1995), Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed., Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999), Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed., Pharmaceutical Press, London, 1994), The United States Pharmacopeia: The National Formulary (United States Pharmacopeial Convention), Fiedler's "Lexikon der Hilfsstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002, "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed., American Pharmaceuticals Association, 2003, и Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds., McGraw Hill, 1992), раскрытия которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

Термин «липосомальная вакцинная композиция» может использоваться в настоящем документе взаимозаменяемо с «липосомальной иммуногенной композицией».

«Близкий аналог последовательности» согласно настоящему изобретению может включать одну или несколько модификаций, таких как без ограничения аминокислотные замены, посттрансляционная модификация, удлинение (добавление дополнительных аминокислот), укорачивание длины (удаление некоторых аминокислот) последовательности, описанной в настоящем документе.

Когда в настоящем документе упоминается аминокислота, обычно это природная аминокислота. Однако ссылка на аминокислоту также означает неприродные аминокислоты (например, бета-аминокислоты, гамма-аминокислоты, D-аминокислоты) и, в контексте пептида в целом, комбинацию природных и неприродных аминокислот.

Нативная последовательность альфа-синуклеина человека:

MDVFMKGLSKAKEGVVAAAЕКТКQGVAEAAГКТКЕГVLYVGSKTКЕГVVHG
VATVAЕКТКЕQVTNVGGAVVTGVTAVAQKTVEGAGSIAAATGFVKKDQLGKNEEGAP
QEGILEDMPVDPDNEAYEMPSEEGYQDYEPЕA (SEQ ID NO: 28).

«Иммунный ответ» включает продукцию анти-аSyn антител, т.е. предпочтительно антител, которые специфически связываются с альфа-синуклеином. Продукцию таких антител можно проверить любым подходящим методом, например, иммуноанализом и, в частности, ELISA.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показан график, показывающий титры IgG против пептида SEQ ID NO:2 у мышей, иммунизированных липосомальной вакциной SEQ ID NO:2 или конъюгированной вакциной SEQ ID NO:2. На оси Y показаны титры анти-SEQ ID NO: 2 IgG (Ед/мл), а на оси X показано время, измеренное в днях после иммунизации. Группу, получавшую липосомальную вакцину (черные кружки), сравнивали с группой, получавшей конъюгированную вакцину (черные квадраты).

На фиг. 2 показан график, показывающий титры IgG против белка а-syn у мышей, иммунизированных липосомальной вакциной SEQ ID NO:2 или конъюгированной вакциной SEQ ID NO:2. На оси Y показаны титры анти-а-syn-белок IgG (Ед/мл), а на оси X показано время, измеренное в днях после иммунизации. Группу, получавшую липосомальную вакцину (черные кружки), сравнивали с группой, получавшей конъюгированную вакцину (черные квадраты).

На фиг. 3 показан график, показывающий титры IgG против агрегатов а-syn у мышей, иммунизированных липосомальной вакциной SEQ ID NO:2 или конъюгированной вакциной SEQ ID NO:2. На оси Y показаны титры анти-а-syn-агрегаты IgG (Ед/мл), а на оси X показано время, измеренное в днях после иммунизации. Группу, получавшую

липосомальную вакцину (черные кружки), сравнивали с группой, получавшей конъюгированную вакцину (черные квадраты).

Примеры

Настоящее изобретение будет далее понято со ссылками на следующие неограничивающие примеры.

Пример 1. Синтез и получение вакцины

Вакцину получали следующим образом, используя трехстадийный подход, т.е. приготовление промежуточной липосомы с последующей интеграцией CpG-Chol для получения липосом с полным адъювантом и, наконец, вставки антигенного пептида.

Промежуточные липосомы: сначала липиды (DMPG, DMPC, холестерин и монофосфорилгексаациллипид А, 3-деацил, первый адъювант) растворяли в этаноле при 60°C. После полного растворения раствор липид/этанол фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм в систему инъекции, предварительно нагретую до 60°C. В отдельном сосуде пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп (например, SAT47 или близкий аналог последовательности), растворяли в 10 mM гистидине, 250 mM сахарозе. Этот раствор фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм и нагревали до 40°C. Раствор липид/этанол и раствор пептида, содержащего Т-клеточный эпитоп, (например, SAT47 или близкий аналог последовательности) затем смешивали с использованием модуля для инъекции с перекрестным потоком с образованием промежуточных липосом, которые затем подвергали активному охлаждению с последующим уменьшением размера с помощью повторных циклов экструзии. Наконец, проводили ультра-/диафильтрацию (UDF) для удаления этанола. Промежуточные липосомы фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм и хранили при 4°C до использования.

Интеграция CpG-Chol: Промежуточные липосомы разбавляли до концентрации липидов 1 мг/мл и нагревали до 60°C. К липосомам по каплям добавляли второй адъювант CpG-Chol. Липосомальную дисперсию инкубировали при 60°C еще 30 минут при перемешивании. Липосомы с полным адъювантом очищали UDF, затем фильтровали через фильтр с размером пор 0,45 мкм, а затем через фильтр с размером пор 0,2 мкм и хранили при 4°C.

Вставка антигенного пептида, происходящего из альфа-синуклеина (Asyn): полностью адъювантные липосомы разбавляли до желаемой концентрации липидов. Одновременно пальмитоилированный антигенный пептид (такой как пептид, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 4)

растворяли до конечной концентрации пептида от 0,1 до 10 мг/мл. Липосомы и раствор пептида окончательно смешивали с использованием модуля поперечного потока и липосомальную дисперсию инкубировали при температуре от 30°C до 60°C при перемешивании. Стадию UDF выполняли для замены буфера на систему состава. Продукт концентрировали до конечного объема, фильтровали через фильтр с размером пор 0,45 мкм, а затем через фильтр с размером пор 0,2 мкм. Нерасфасованный лекарственный препарат хранили при температуре 4°C.

Пример 2. Исследования иммуногенности на мышах

Исследования иммуногенности вакцин, демонстрирующих различные антигенные пептиды, происходящие из альфа-синуклеина, конъюгированные с CRM197 через цистеин, включая нативную последовательность альфа-синуклеина и ее производные (VARIOTOPES), проводили на мышах BALB/c. Мыши получили в общей сложности три подкожных (s.c.) иммунизации (10 мкг чистого пептида на инъекцию) в дни 0, 14 и 28. Для этой цели 200 мкл отдельных вакцин вводили в бок мышей с помощью инсулинового шприца 20 с иглой калибра G30. Кровь брали через две недели после последней инъекции для измерения титров альфа-синуклеин-специфического IgG с помощью ELISA. Для этого 96-луночные планшеты (Nunc-Maxisorp) покрывали рекомбинантным альфа-синуклеином человека (1 мкг/мл), а титры рассчитывали как значения EC50 с помощью PRISM® 5.04 (GraphPad Inc, San Diego, CA) методом нелинейного регрессионного анализа (четырепараметрическая логистическая эмпирическая функция).

Иммуногенность вакцин, содержащих пептиды с заменами на серин по нативной последовательности альфа-синуклеина 113–124, оценивали на мышах BALB/c и сравнивали с иммуногенностью вакцины, содержащей нативную последовательность, для прямого сравнения (таблица 2).

Таблица 2. Показаны группы лечения и пептидные последовательности, присутствующие в отдельных вакцинах. Первую группу иммунизировали вакциной, содержащей нативную последовательность, для прямого сравнения.

Группа	Последовательность
1	LEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 38)
2	LESMPVDPDNES (SEQ ID NO:4)

3	SESMPVDPDNEA (SEQ ID NO:9)
4	LESSPVDPDNEA (SEQ ID NO: 39)
5	SEDMPVDPDNES (SEQ ID NO: 40)
6	LEDSPVDPDNES (SEQ ID NO: 41)
7	SEDSPVDPDNEA (SEQ ID NO: 42)

Вакцины, содержащие пептиды с заменами на серин либо в положениях 1 и 3 (группа 3), либо в положениях 3 и 12 (группа 2), индуцировали в 4–6 раз более высокие ответы альфа-синуклеин-специфического IgG, чем вакцина, содержащая нативную пептидную последовательность (группа 1). Вакцины, содержащие пептиды с заменами на серин в положении 4 (группы 4, 6 и 7), не повышали иммуногенность столь же существенно по сравнению с вакциной, содержащей нативную последовательность (таблица 3). Вакцина, содержащая пептиды с заменами на серин в положениях 1 и 12 (группа 5), повышала иммуногенность менее чем в два раза относительно вакцины, содержащей нативную последовательность (таблица 3).

Таблица 3. Титры альфа-синуклеина оценивали на отдельных мышах, и значения представляют собой медианы относительно медианы, полученной с нативной последовательностью.

Группа	Титры относительно группы 1 в %
1	100
2	622
3	397
4	146
5	189
6	110
7	101

Поскольку было показано, что вакцины, содержащие пептиды с аминокислотными заменами на серин в положениях 1, 3 и 12, индуцируют высокие титры альфа-синуклеин-специфических IgG, дальнейшее исследование иммуногенности проводили с использованием вакцин, содержащих пептиды с заменой на серин или лизин в положении 1, 3 и 12. Некоторые протестированные пептиды были удлинены на N-конце путем добавления двух остатков глицина (таблица 4). Кроме того, эти вакцины сравнивали с вакциной, содержащей ранее выбранную антигенную пептидную последовательность DQPVLDP (SEQ ID NO: 43) для прямого сравнения.

Таблица 4. Показаны группы лечения и пептидные последовательности, присутствующие в отдельных вакцинах. Первую группу иммунизировали вакциной, содержащей пептидную последовательность LESMPVDPDNES (группа 2, таблица 2), для объединения этого эксперимента с предыдущим экспериментом.

Группа	Последовательность
1	LESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 4)
2	GG-KEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 3)
3	LEKMPVDPDNES (SEQ ID NO: 15)
4	SEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 14)
5	LEKMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 17)
6	GG-KESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2)
7	GG-KESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 19)
8	DQPVLDP SEQ ID NO: 43

Все вновь разработанные вакцины индуцировали более высокие титры IgG, специфических к альфа-синуклеину, (до в три раза – группа 6), по сравнению с уже высокоиммуногенной вакциной, содержащей антигенный пептид LESMPVDPDNES. Кроме

того, все вакцины групп 1-7, описанные в Таблице 4, вызывали существенно более высокие титры, специфические для альфа-синуклеина, чем вакцина, содержащая антигенный пептид DQPVLDP (SEQ ID NO: 43) (Таблица 5).

Таблица 5. Титры альфа-синуклеина оценивали на отдельных мышах, и значения представляют собой медианы относительно медианы, полученной с вакциной, содержащей антигенный пептид LESMPVDPDNES.

Группа	Титры относительно группы 1 в %
1	100
2	160
3	142
4	143
5	258
6	295
7	205
8	37

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют те же значения, которые обычно понимаются специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Все публикации и патенты, специально упомянутые в настоящем документе, полностью включены посредством ссылки для всех целей в связи с настоящим изобретением.

Пример 3. Исследование иммуногенности липосомальной вакцины SEQ ID NO: 2 и конъюгированной вакцины SEQ ID NO: 2 на мышах

Иммуногенность липосомальной вакцины, содержащей SEQ ID NO: 2 в качестве антигенного пептида (называемой «липосомальной вакциной SEQ ID NO: 2»), и белок-конъюгированной вакцины, содержащей SEQ ID NO: 2 в качестве антигенного пептида, связанного с белком-носителем CRM197 (называемой «конъюгированной вакциной SEQ ID NO: 2») оценивали на самках мышей C57BL/6J.

а) Состав и синтез липосомальной вакцины SEQ ID NO: 2

Вакцину получали согласно трехстадийному подходу согласно примеру 1.

Промежуточные липосомы: сначала липиды (DMPG, DMPC, холестерин и монофосфорилгексаациллипид А, (3D-(6-ацил)PHAD™ (Avanti Polar Lipids, USA)), первый адъювант) растворяли в этаноле при 60°C. После полного растворения раствор липид/этанол фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм в систему инъекции, предварительно нагретую до 60°C. В отдельном сосуде пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп SAT58, диспергировали в этаноле при комнатной температуре с помощью обработки ультразвуком и растворяли путем разведения 10 мМ гистидина, 250 мМ сахарозы. Раствор SAT58 фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм и нагревали до 40°C. Затем раствор липид/этанол и раствор SAT58 смешивали с использованием модуля для инъекции с перекрестным потоком для образования промежуточных липосом, которые впоследствии подвергали активному охлаждению с последующим уменьшением размера с использованием повторяющихся циклов экструзии. Наконец, проводили ультра/диафильтрацию (UDF) для удаления этанола. Промежуточные липосомы SAT58 фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм и хранили при 4°C до использования.

Интеграция CpG-Chol: Промежуточные липосомы разводили до концентрации липида 1 мг/мл в 20 мМ гистидине, 145 мМ NaCl и нагревали до 60°C. Второй адъювант, CpG-холестерин, добавляли к липосомам по каплям. Липосомальную дисперсию инкубировали при 60°C в течение дополнительных 30 минут при перемешивании. Липосомы с полным адъювантом очищали UDF, а затем фильтровали через фильтр с размером пор 0,45 мкм, а затем через фильтр с размером пор 0,2 мкм и хранили при 4°C.

Вставка антигенного пептида, происходящего из альфа-синуклеина (Asyn): Липосомы с полным адъювантом разводили до концентрации общего содержания липидов 1 мг/мл в 20 мМ гистидине, 145 мМ NaCl. Одновременно N-концевой дипальмитоилированный пептид SEQ ID NO:2 растворяли до конечной концентрации 1 мг/мл в 20 мМ гистидина, 145 мМ NaCl при 60°C и раствор фильтровали через фильтр с размером пор 0,2 мкм. Липосомы и раствор пептида окончательно смешивали с использованием модуля поперечного потока и липосомальную дисперсию инкубировали при температуре 60°C при перемешивании в течение 30 минут. Стадию UDF осуществляли для замены буфера на конечную систему состава, т.е. на буфер 10 мМ гистидина и 250 мМ сахарозы. Продукт концентрировали до конечного объема, фильтровали через фильтр с размером пор 0,45 мкм, а затем через фильтр с размером пор 0,2 мкм. Нерасфасованный лекарственный продукт хранили при температуре 4°C.

b) Состав и синтез конъюгированной вакцины SEQ ID NO: 2:

SEQ ID NO: 2 представляет собой конъюгат антигенного пептида SEQ ID NO: 2 с белком-носителем CRM197. Антигенный пептид модифицирован таким образом, что он содержит остаток цистеина. Антигенный пептид связан с белком-носителем CRM197 через остаток цистеина. Конъюгация представляет собой направленную процедуру с использованием аминок групп боковой цепи остатков лизина в CRM197 и свободной тиоловой группы аминок(N)-концевого цистеина в пептиде. Для активации CRM197 водный раствор CRM197 доводили до 10 мМ фосфатно-солевого буфера (PBS) и затем осторожно встряхивали с бифункциональным линкером N-гидроксисукцинимидным сложным эфиром 4-малеимидомасляной кислоты (GMBS). Затем избыток непрореагировавшего GMBS удаляли либо диализом, либо ультрафильтрацией. Полученный активированный раствор CRM197 затем инкубировали с антигенным пептидом (SEQ ID NO: 2), растворенным в фосфатном буфере. Свободная тиоловая группа цистеина в составе пептида реагировала с малеимидной группой, образуя конечный антигенный пептид (SEQ ID NO: 2) - продукт CRM197.

с) Дизайн исследования

Всего 20 самок мышей C57BL/6J в возрасте приблизительно 10 недель на момент первой иммунизации распределяли на две группы (10 мышей в группе 1 и 10 мышей в группе 2), как указано в Таблице 6.

Обе группы иммунизировали три раза путем подкожной (s.c) инъекции в подкожную клетчатку спины в дни 1, 15 и 29 либо конъюгированной вакциной SEQ ID NO:2 (группа 1), либо липосомальной вакциной SEQ ID NO:2 (группа 2).

Таблица 6. Дизайн исследования

Номер группы	Вакцина	Целевой уровень дозы пептида (мкг/инъекция)	Объем дозы (мл/животное)	Путь введения	Животные/группа
1	SEQ ID NO:2 конъюгированная вакцина	10	0,2	s.c	10
2	SEQ ID NO: 2 липосомальная вакцина	80	0,2	s.c	10

s.c: подкожно

Выбор дозы липосомальной вакцины SEQ ID NO: 2 и конъюгированной вакцины SEQ ID NO: 2 для данного исследования на мышах C57BL/6J основан на пиковых уровнях антител у мышей.

d) Результаты по иммуногенности в плазме:

Иммуногенность против пептида SEQ ID NO:2, белка a-syn человека полной длины и агрегатов a-syn оценивали в образцах плазмы, собранных в день 1 (перед введением дозы перед первым введением) и через неделю после каждой иммунизации (в дни 8, 22 и 36). Агрегаты a-syn получали в соответствии с протоколом, описанным Kumar et al. 2020.

Титры анти-SEQ ID NO: 2, анти-a-syn белок или анти-a-syn агрегаты IgG анализировали в каждый момент времени с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Кратко, конъюгированный с BSA пептид SEQ ID NO: 2 или белок a-syn или агрегаты a-syn иммобилизовали на 96-луночных титровальных микропланшетах в течение ночи. После промывки и блокировки планшеты инкубировали с образцами плазмы в течение двух часов при 37°C, позволяя антителам, присутствующим в плазме, связываться с пептидом или белками. После инкубации планшеты промывали для удаления неактивных компонентов плазмы. Комплекс антитело/антиген выявляли с помощью вторичного анти-мышиный IgG антитела, конъюгированного с щелочной фосфатазой. В лунки добавляли субстрат pNPP (п-нитрофенилфосфат) и определяли оптическую плотность при 405 нМ в планшет-ридере ELISA. Титры анти-SEQ ID NO: 2 пептида, анти-a-syn белка или анти-a-syn агрегата IgG рассчитывали обратным образом по калибровочной кривой в восьми двукратных серийных разведениях с использованием невзвешенной четырехпараметрической модели логистической регрессии с использованием программного обеспечения Gen5 (BioTek, Switzerland). Результаты выражены в ЕД/мл.

Данные выражены в виде среднего геометрического $\pm 95\%$ доверительного интервала (CI) с течением времени, с n=10 на группу (n=9 для группы 2 на день 22 и 36). Для статистического анализа использовали двухфакторный дисперсионный анализ с нескорректированным тестом множественного сравнения LSD Фишера. *= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, ***= $p < 0,001$, ****= $p < 0,0001$.

Результаты (фиг. 1, 2, 3) показали, что у животных, иммунизированных липосомальной вакциной SEQ ID NO:2, после одной иммунизации развивался устойчивый ответ против белка SEQ ID NO:2, против белка a-syn и против агрегата a-syn, тогда как для мышей, иммунизированных конъюгированной вакциной SEQ ID NO:2, требовались две иммунизации. Во все моменты времени липосомальная вакцина SEQ ID NO:2

индуцировала статистически значительно более высокие титры, чем конъюгированная вакцина SEQ ID NO:2, для всех протестированных показателей.

В заключение, результаты подтверждают потенциал липосомальной вакцины SEQ ID NO: 2 индуцировать сильный иммунный ответ *in vivo* против белков альфа-синуклеина и агрегированного альфа-синуклеина. Кроме того, результаты показывают, что липосомальная вакцина SEQ ID NO: 2 обеспечивает неожиданно повышенный иммунный ответ *in vivo* против пептида анти-SEQ ID NO: 2, белков альфа-синуклеина и агрегированного альфа-синуклеина по сравнению с конъюгированной вакциной SEQ ID NO: 2.

Объем настоящего изобретения не ограничивается конкретными вариантами осуществления, описанными в настоящем документе. Действительно, из приведенного выше описания и сопровождающих чертежей специалистам в данной области техники станут очевидными различные модификации настоящего изобретения в дополнение к описанным в настоящем документе. Предполагается, что такие модификации попадают в объем прилагаемой формулы изобретения. Более того, все аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в настоящем документе, считаются широко применимыми и совместимыми с любыми и всеми другими соответствующими вариантами осуществления, включая те, которые взяты из других аспектов настоящего изобретения (в том числе выделенным образом), как является подходящим.

Ссылочные источники

Alexander J, Sidney J, Southwood S, Ruppert J, Oseroff C, Maewal A, Snoke K, Serra HM, Kubo RT, Sette A, et al. Development of high potency universal DR-restricted helper epitopes by modification of high affinity DR-blocking peptides. *Immunity*

Andreas Puschmann, Roongroj Bhidayasiri, William J. Weiner, Synucleinopathies from bench to bedside, *Parkinsonism & Related Disorders*, Volume 18, Supplement 1, 2012, Pages S24-S27, ISSN 1353-8020

Askanas V, Engel WK, Alvarez RB, McFerrin J, Broccolini A. Novel immunolocalization of alpha-synuclein in human muscle of inclusion-body myositis, regenerating and necrotic muscle fibers, and at neuromuscular junctions. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2000 Jul;59(7):592-8.

Bassil F, Fernagut PO, Bezar E, Pruvost A, Leste-Lasserre T, Hoang QQ, Ringe D, Petsko GA, Meissner WG. Reducing C-terminal truncation mitigates synucleinopathy and neurodegeneration in a transgenic model of multiple system atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Aug 23;113(34):9593-8

Braak H, Sastre M, Del Tredici K. Development of alpha-synuclein immunoreactive astrocytes in the forebrain parallels stages of intraneuronal pathology in sporadic Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 2007 Sep;114(3):231-41.

Bengoa-Vergniory N, Roberts RF, Wade-Martins R, Alegre-Abarrategui J. Alpha-synuclein oligomers: a new hope. *Acta Neuropathol.* 2017 Dec;134(6):819-838.

Bernis ME, Babila JT, Breid S, Wüsten KA, Wüllner U, Tamgüney G. Prion-like propagation of human brain-derived alpha-synuclein in transgenic mice expressing human wild-type alpha-synuclein. *Acta Neuropathol Commun.* 2015 Nov 26;3:75

Charles V., Mezey E., Reddy P.H., Dehejia A., Young T.A., Polymeropoulos M.H., Brownstein M.J., Tagle D.A. (2000). Alpha-synuclein immunoreactivity of huntingtin polyglutamine aggregates in striatum and cortex of Huntington's disease patients and transgenic mouse models. *Neurosci. Lett.* 289, 29-32

Dickson DW, Crystal H, Mattiace LA, Kress Y, Schwagerl A, Ksiezak-Reding H, Davies P, Yen SH. Diffuse Lewy body disease: light and electron microscopic immunocytochemistry of senile plaques. *Acta Neuropathol.* 1989;78(6):572-84.

Del Guercio M.F, Jeff Alexander, Ralph T. Kubo, Thomas Arrhenius, Ajesh Maewal, Ettore Appella, Stephen L. Hoffman, Trevor Jones, Danila Valmori, Kazuyasu Sakaguchi, Howard M. Grey, Alessandro Sette, Potent immunogenic short linear peptide constructs composed of B cell epitopes and Pan DR T Helper Epitopes (PADRE) for antibody responses in vivo, *Vaccine*, Volume 15, Issue 4, 1997, Pages 441-448.

Dufty BM, Warner LR, Hou ST, Jiang SX, Gomez-Isla T, Leenhouts KM, Oxford JT, Feany MB, Masliah E, Rohn TT. Calpain-cleavage of alpha-synuclein: connecting proteolytic processing to disease-linked aggregation. *Am J Pathol.* 2007 May;170(5):1725-38

FERMAN, T., BOEVE, B., SMITH, G., SILBER, M., LUCAS, J., GRAFF-RADFORD, N., IVNIK, R. (2002). Dementia with Lewy bodies may present as dementia and REM sleep behavior disorder without parkinsonism or hallucinations. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 8(7), 907-914. doi:10.1017/S1355617702870047

Fleming S.M., Ashley Davis, Emily Simons, Targeting alpha-synuclein via the immune system in Parkinson's disease: Current vaccine therapies, *Neuropharmacology*, Volume 202, 2022, 108870, ISSN 0028-3908

Galvin JE, Lee VM, Trojanowski JQ. Synucleinopathies: Clinical and Pathological Implications. *Arch Neurol.* 2001;58(2):186–190. doi:10.1001/archneur.58.2.186

Jellinger KA. Neuropathological spectrum of synucleinopathies. *Mov Disord.* 2003 Sep;18 Suppl 6:S2-12. doi: 10.1002/mds.10557. PMID: 14502650.

Kosaka K. Diffuse Lewy body disease in Japan. *J Neurol.* 1990 Jun;237(3):197-204.

Kövari E, Burkhardt K, Lobrinus JA, Bouras C. Lewy body dysphagia. *Acta Neuropathol.* 2007 Sep;114(3):295-8. doi: 10.1007/s00401-007-0233-6. Epub 2007 Jun 19. PMID: 17576582

Lashuel HA, Overk CR, Oueslati A, Masliah E. The many faces of α -synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target. *Nat Rev Neurosci.* 2013 Jan;14(1):38-48.

Lee HJ, Suk JE, Bae EJ, Lee JH, Paik SR, Lee SJ. Assembly-dependent endocytosis and clearance of extracellular alpha-synuclein. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(9):1835-49

Lippa CF, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ. Antibodies to alpha-synuclein detect Lewy bodies in many Down's syndrome brains with Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1999;45:353-7

Mandler M, Valera E, Rockenstein E, Weninger H, Patrick C, Adame A, Santic R, Meindl S, Vigl B, Smrzka O, Schneeberger A, Mattner F, Masliah E. Next-generation active immunization approach for synucleinopathies: implications for Parkinson's disease clinical trials. *Acta Neuropathol.* 2014;127(6):861-79.

Nimmo JT, Smith H, Wang CY, Teeling JL, Nicoll JAR, Verma A, Dodart JC, Liu Z, Lin F, Carare RO. Immunisation with UB-312 in the Thy1SNCA mouse prevents motor performance deficits and oligomeric α -synuclein accumulation in the brain and gut. *Acta Neuropathol.* 2022 Jan;143(1):55-73

McKee AC, Stern RA, Nowinski CJ, Stein TD, Alvarez VE, Daneshvar DH, Lee HS, Wojtowicz SM, Hall G, Baugh CM, Riley DO, Kubilus CA, Cormier KA, Jacobs MA, Martin BR, Abraham CR, Ikezu T, Reichard RR, Wolozin BL, Budson AE, Goldstein LE, Kowall NW, Cantu RC. The spectrum of disease in chronic traumatic encephalopathy. *Brain.* 2013 Jan;136(Pt 1):43-64. doi: 10.1093/brain/aws307. Epub 2012 Dec 2. Erratum in: *Brain.* 2013 Oct;136(Pt 10):e255. PMID: 23208308; PMCID: PMC3624697.

Panina-Bordignon P, Tan A, Termijtelen A, Demotz S, Corradin G, Lanzavecchia A. Universally immunogenic T cell epitopes: promiscuous binding to human MHC class II and promiscuous recognition by T cells. *Eur J Immunol.* 1989 Dec;19(12):2237-42.

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

Schmitz, M., Villar-Piqué, A., Llorens, F. et al. Cerebrospinal Fluid Total and Phosphorylated α -Synuclein in Patients with Creutzfeldt–Jakob Disease and Synucleinopathy. *Mol Neurobiol* 56, 3476–3483 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1313-4>

Smith BR, Santos MB, Marshall MS, Cantuti-Castelvetri L, Lopez-Rosas A, Li G, van Breemen R, Claycomb KI, Gallea JJ, Celej MS, Crocker SJ, Givogri MI, Bongarzone ER. Neuronal inclusions of alpha-synuclein contribute to the pathogenesis of Krabbe disease. *J Pathol.* 2014;232:509–521. doi: 10.1002/path.4328.

Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature.* 1997 Aug 28;388(6645):839-40.

Usenovic M, Tresse E, Mazzulli JR, Taylor JP, Krainc D. Deficiency of ATP13A2 leads to lysosomal dysfunction, α -synuclein accumulation, and neurotoxicity. *J Neurosci.* 2012 Mar 21;32(12):4240-6. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5575-11.2012. PMID: 22442086; PMCID: PMC3462811.

Volc D, Poewe W, Kutzelnigg A, Lühns P, Thun-Hohenstein C, Schneeberger A, Galabova G, Majbour N, Vaikath N, El-Agnaf O, Winter D, Mihailovska E, Mairhofer A, Schwenke C, Staffler G, Medori R. Safety and immunogenicity of the α -synuclein active immunotherapeutic PD01A in patients with Parkinson's disease: a randomised, single-blinded, phase 1 trial. *Lancet Neurol.* 2020 Jul;19(7):591-600.

Wilhelmsen KC, Forman MS, Rosen HJ, Alving LI, Goldman J, Feiger J, et al. 17q-linked frontotemporal dementia-amyotrophic lateral sclerosis without tau mutations with tau and alpha-synuclein inclusions. *Arch Neurol.* 2004;61(3):398–406

Winder-Rhodes SE, Garcia-Reitböck P, Ban M, et al. Genetic and pathological links between Parkinson's disease and the lysosomal disorder Sanfilippo syndrome. *Mov Disord* 2012;27(2):312–315

Yamaguchi et al., *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004, 80th annual meeting, vol.63

Yuko Saito, MD, PHD, Kinuko Suzuki, MD, Christine M. Hulette, MD, Shigeo Murayama, MD, PHD, Aberrant Phosphorylation of α -Synuclein in Human Niemann-Pick Type C1 Disease, *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, Volume 63, Issue 4, April 2004.

American Pharmaceuticals Association, 2003; and Goodman and Gilman's: the Pharmacological Basis of Therapeutics (Louis S. Goodman and Lee E. Limbird, eds.; McGraw Hill, 1992)

Fiedler's "Lexikon der Hilfsstoffe" 5th Ed., Edition Cantor Verlag Aulendorf 2002; "The Handbook of Pharmaceutical Excipients", 4th Ed

Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed. (Arthur H. Kibbe, ed.; Amer. Pharmaceutical Assoc, 1999)

Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics 12th Ed. (Walter Lund ed.; Pharmaceutical Press, London, 1994)

Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th or 18th Ed. (Alfonso R. Gennaro, ed.; Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990)

Remington: the Science and Practice of Pharmacy 19th Ed.(Lippincott, Williams & Wilkins, 1995)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:

- a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы,
- b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, и
- c. адъювант,

где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из структуры:

$X_1-X_2-X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$,

где:

E представляет собой глутаминовую кислоту, P представляет собой пролин, V представляет собой валин, D представляет собой аспарагиновую кислоту, N представляет собой аспарагин,

X_1 присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G представляет собой глицин,

X_2 , присутствует или не присутствует и, если присутствует, представляет собой G, где G имеет значения, как определено выше,

X_3 представляет собой L, K или S, где L представляет собой лейцин, K представляет собой лизин, и S представляет собой серин,

X_4 представляет собой D, K или S, где D, K и S имеют значения, как определено выше,

X_5 представляет собой M, где M представляет собой метионин или сульфоксид метионина,

X_6 представляет собой A, K или S, где A представляет собой аланин, и K и S имеют значения, как определено выше,

при условии, что $X_3-E-X_4-X_5-P-V-D-P-D-N-E-X_6$ не представляет собой L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A,

и который содержит от 1 до 5 аминокислотных отличий по сравнению с аминокислотной последовательностью G-I-L-E-D-M-P-V-D-P-D-N-E-A,

и где пептидный антиген не содержит дипептид Y-E, непосредственно следующий за X_6 , где Y представляет собой тирозин, и E имеет значения, как определено выше.

2. Липосомальная композиция по п. 1 где X_1 и X_2 присутствуют.

3. Липосомальная композиция по п. 1 где X_1 и X_2 отсутствуют.

4. Липосомальная композиция по любому из пп. 1 - 3, где X_5 представляет собой сульфоксид метионина.

5. Липосомальная композиция по любому из пп. 1 - 4, где X_6 представляет собой А или S.

6. Липосомальная композиция по любому из пп. 1 - 5, где X_3 представляет собой L или K.

7. Липосомальная композиция по любому из пп. 1 - 6, где X_4 представляет собой D или S.

8. Липосомальная композиция по п. 1, где пептидный антиген выбран из группы, состоящей из GGKESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2), GGKEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 3), LESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 4), LEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 5), GGSESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 6), GGSESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 7), KEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 8), SESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 9), LESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 10), GGKESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 11), KESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 12), KESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 13), SEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 14), LEKMPVDPDNES (SEQ ID NO: 15), GGSESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 16), LEKMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 17), GGKEKMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 18), GGKESMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 19) и GGKEKMPVDPDNEK (SEQ ID NO: 20).

9. Липосомальная вакцинная композиция по п. 1, где пептидный антиген выбран из группы, состоящей из GGKESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2), GGKEDMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 3), LESMPVDPDNES (SEQ ID NO: 4) и KESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 12).

10. Липосомальная вакцинная композиция по п. 1, где пептидный антиген состоит из GGKESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 2).

11. Липосомальная вакцинная композиция по п. 1, где пептидный антиген состоит из KESMPVDPDNEA (SEQ ID NO: 12).

12. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептидный антиген дополнительно содержит по меньшей мере одну химическую модификацию.

13. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, содержит по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 35 (PaDre), SEQ ID NO: 36 (P2), SEQ ID NO: 37 (P30), SEQ ID NO: 21 (SAT13), SEQ ID NO: 22 (SAT15), SEQ ID NO: 23 (SAT17), SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 и/или любой их комбинации.

14. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ

ID NO: 29 (SAT42), SEQ ID NO: 30 (SAT43), SEQ ID NO: 31 (SAT44), SEQ ID NO: 32 (SAT47), SEQ ID NO: 35 (PaDre), SEQ ID NO: 36 (P2) и SEQ ID NO: 37 (P30) или их близкого аналога.

15. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или ее близкого аналога.

16. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 33 (SAT58).

17. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4 и/или лиганд толл-подобного рецептора 9.

18. Липосомальная вакцинная композиция по п. 17, где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA) и/или где лиганд толл-подобного рецептора 9 содержит CpG.

19. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где адъювант содержит монофосфорилированный липид А (MPLA).

20. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где адъювант дополнительно содержит CpG.

21. Липосомальная вакцинная композиция по любому из предшествующих пунктов, где пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, инкапсулирован в липосому.

22. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5 или SEQ ID NO:12,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 24, и/или SEQ ID NO: 25, и/или SEQ ID NO: 27, и

c. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, предпочтительно монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, предпочтительно CpG.

23. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO 3, SEQ ID NO 4, SEQ ID NO 5 или SEQ ID NO:12,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 46, и/или SEQ ID NO: 25, и/или SEQ ID NO: 27, и

c. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, предпочтительно монофосфорилированный липид А (MPLA), и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, предпочтительно CpG.

24. Липосомальная вакцина по п. 22 или 23, где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

25. Липосомальная вакцина по п. 22 или 23, где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12.

26. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 12, и

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или ее близкого аналога, и

c. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, и где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA).

27. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 12, и

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 33 (SAT58), и

c. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4, и где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA).

28. Липосомальная вакцинная композиция по п. 26 или 27, где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 12.

29. Липосомальная вакцинная композиция по п. 26 или 27, где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2.

30. Липосомальная вакцинная композиция по п. 26 или 27, где пептидный антиген содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12.

31. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 32 (SAT47) или ее близкого аналога, и

c. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4 и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, и где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA), где лиганд толл-подобного рецептора 9 содержит CpG.

32. Липосомальная вакцинная композиция, содержащая:

a. пептидный антиген, экспонированный на поверхности липосомы, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2,

b. пептид, содержащий Т-клеточный эпитоп, который содержит, состоит по существу из или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 33 (SAT58), и

c. адъювант, где адъювант содержит лиганд толл-подобного рецептора 4 и/или лиганд толл-подобного рецептора 9, и где лиганд толл-подобного рецептора 4 содержит монофосфорилированный липид А (MPLA), где лиганд толл-подобного рецептора 9 содержит CpG.

33. Фармацевтическая композиция, содержащая липосомальную вакцинную композицию по любому из пп. 1 - 32 и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество.

34. Набор, содержащий липосомальную вакцинную композицию, как определено в любом из пп. 1 – 32, или фармацевтическую композицию по п. 33 и контейнер.

35. Липосомальная вакцинная композиция, как определено в любом из пп. 1 - 32, или фармацевтическая композиция, как определено в п. 33, или набор, как определено в п. 34, для применения для лечения или профилактики заболеваний, нарушений или аномалий, связанных с агрегатами альфа-синуклеина.

36. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по п. 35, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, представляют собой синуклеинопатию.

37. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по п. 35 или 36, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия выбраны из группы, состоящей из болезни Паркинсона (спорадической, семейной с мутациями альфа-синуклеина, семейной с мутациями, отличными от альфа-синуклеина, истинной вегетативной недостаточности и дисфагии с тельцами Леви), деменции с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона (PDD)), болезни диффузных телец Леви (DLBD), спорадической болезни Альцгеймера, семейной болезни Альцгеймера с мутациями APP, семейной болезни Альцгеймера с PS-1, PS-2 или другими мутациями, семейной британской деменции, варианта болезни Альцгеймера с тельцами Леви и синдрома Дауна, множественной системной атрофии (синдром Шая-Дрейджера, стриатонигральная дегенерация и оливопонтocerebellарная атрофия), черепно-мозговой травмы, хронической травматической энцефалопатии, деменции боксеров, таупатий (болезнь Пика, лобно-височная деменция, прогрессирующий надъядерный паралич, кортико-базальная дегенерация и болезнь Ниманна-Пика типа C1, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17), болезни двигательных нейронов, болезни Хантингтона, бокового амиотрофического склероза (спорадический, семейный и Гуам-комплекс ALS-деменции), нейроаксональной дистрофии, нейродегенерации с накоплением железа в головном мозге 1 типа (синдром Галлервордена-Шпатца), прионных болезней, болезни Крейцфельда-Якоба, атаксии-телеангиэктазии, синдрома Мейжа, подострого склерозирующего панэнцефалита, синдрома Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, миозита с включенными тельцами, болезни Гоше, болезни Краббе, а также других лизосомальных нарушений накопления (включая синдром Куфора-Ракеба и синдром Санфилиппо) и нарушения поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (REM).

38. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по любому из пп. 35 - 37, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия выбраны из группы, состоящей из связанных с тельцами Леви, и/или нейритами Леви, и/или глиальными цитоплазматическими включениями, таких как болезнь Паркинсона, множественная системная атрофия, деменция с тельцами Леви (LBD, деменция с тельцами Леви (DLB) («чистая» деменция с тельцами Леви), деменция, обусловленная болезнью Паркинсона, (PDD)) или болезнь диффузных телец Леви.

39. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по любому из пп. 35 - 37, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия представляют собой множественную системную атрофию.

40. Липосомальная вакцинная композиция, фармацевтическая композиция или набор для применения по любому из пп. 35 - 37, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, или синуклеинопатия представляют собой болезнь Паркинсона.

41. Способ профилактики, лечения и облегчения заболеваний, связанных с заболеванием, нарушением или аномалией, связанными с агрегатами альфа-синуклеина, где способ предусматривает введение субъекту липосомальной вакцинной композиции по любому из пп. 1 - 32 или фармацевтической композиции по п. 33.

42. Способ по п. 41, где заболевание, нарушение или аномалия, связанные с агрегатами альфа-синуклеина, представляют собой синуклеинопатию.

43. Способ по п. 41 или 42, где введение субъекту липосомальной вакцинной композиции по любому из пп. 1-32 или фармацевтической композиции по п. 33 индуцирует иммунный ответ против агрегатов альфа-синуклеина.

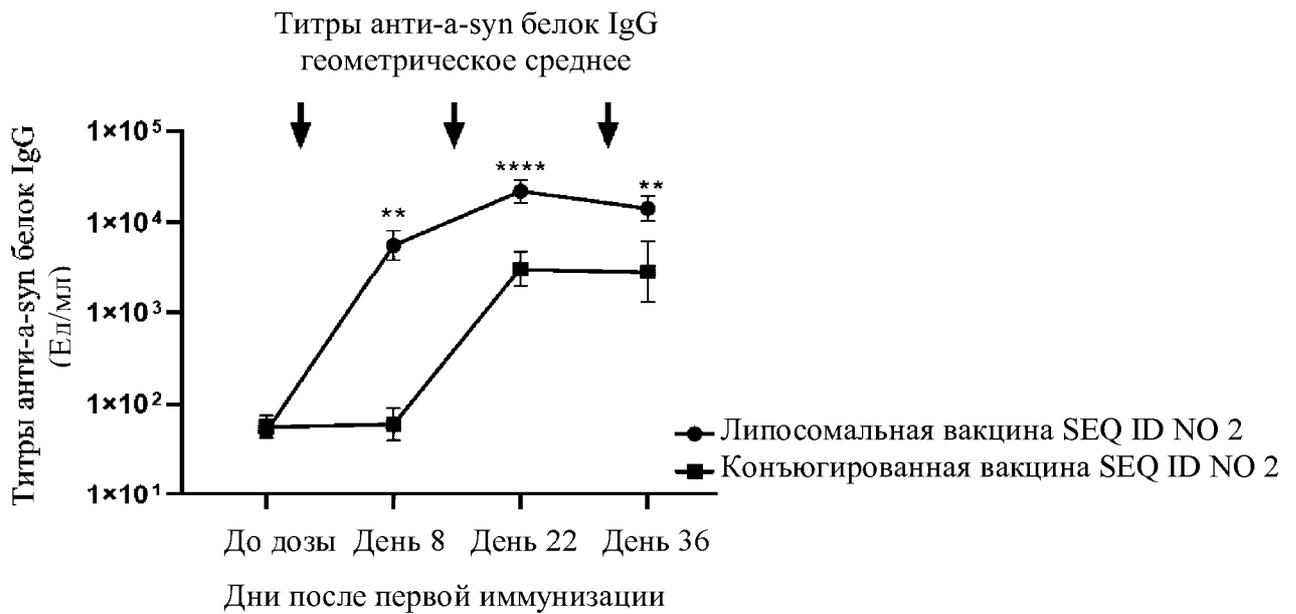
44. Способ по п. 41 или 42, где введение субъекту липосомальной вакцинной композиции по любому из пп. 1-32 или фармацевтической композиции по п. 33 индуцирует защитный иммунный ответ против агрегатов альфа-синуклеина.

45. Способ по п. 41 или 42, где введение субъекту липосомальной вакцинной композиции по любому из пп. 1-32 или фармацевтической композиции по п. 33 индуцирует иммунный ответ против белка альфа-синуклеина, предпочтительно белка альфа-синуклеина человека.

Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

