



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 85377

(13) C2

(51) МПК (2009)

A61K 39/12

A61K 35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ КОМПОЗИЦІЇ, ЯКА МІСТИТЬ ВІРУСОПОДІБНІ ЧАСТИНКИ HPV16 І HPV18 У ПРИГОТУВАННІ МЕДИКАМЕНТУ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ІНФЕКЦІЇ І/АБО ХВОРОБИ, СПРИЧИНЕНОЇ ГРУПОЮ HPV ОНКОГЕННИХ ТИПІВ, СПОСОБИ ІНДУКУВАННЯ ІМУННОЇ РЕАКЦІЇ, ПРОФІЛАКТИКИ ІНФЕКЦІЇ І/АБО ХВОРОБИ, ПРОФІЛАКТИКИ У ПОПУЛЯЦІЇ СУБ'ЄКТІВ ІНФЕКЦІЇ СПРИЧИНЕНИХ ОДНІЄЮ АБО КІЛЬКОМА ГРУПАМИ ОНКОГЕННИХ ТИПІВ HPV, ВАКЦИННА КОМПОЗИЦІЯ, ЯКА ВКЛЮЧАЄ HPV16 І HPV18

1

2

(21) а200505919

(22) 18.12.2003

(24) 26.01.2009

(86) РСТ/ЕР2003/014562, 18.12.2003

(31) 60/435,035

(32) 20.12.2002

(33) US

(31) 60/496,653

(32) 20.08.2003

(33) US

(46) 26.01.2009, Бюл.№ 2, 2009 р.

(72) ДУБІН ГЕРІ, ІННІС БРЮС, СЛАУІ МОНСЕФ  
МОХАММЕД, ВЕТТЕНДОРФФ МАРТІН АНН СЕ-  
СІЛЬ

(73) ГЛАКСОСМІТКЛАЙН БАЙОЛОДЖІКАЛЗ СА

(56) BALSLEY JF ET AL: "Progress in the  
development of human papillomavirus vaccines for  
HPV-11 and HPV-16/18 and mapping of a critical  
neutralizing epitope." 18TH INTERNATIONAL  
PAPILLOMAVIRUS CONFERENCE 2000, [Online]  
2000, Піднято з Internet: [retrieved on 2004-05-03].HPV Clinical Workshop & 20th International  
Papillomavirus Conference 2002, October 4-9, Paris,  
Institut Pasteur. Villa-L et al., A dose-ranging safety  
and immunogenicity study of a quadrivalent HPV  
(type 6/11/16/18) L1 VLP vaccine in women.BASS E: "Progress in the Search of a vaccine against  
human papilloma virus" IAVI REPORT  
OCTOBER/NOVEMBER 2002, [Online] 10 October  
2002 (2002-10-10. Піднято з Internet: [retrieved on  
2004-04-21].Brown-DR et al., A dose-ranging study of the safety  
and immunogenicity profiles of a quadrivalent HPV  
(types 6, 11, 16, and 18) L1 VLP candidate vaccine in  
young healthy women. ABstr O-51 19th International  
Papillomavirus Conference, Sept-2001, Florianopolis,  
Brazil.COMBITA ALBA-LUCIA ET AL: "Identification of two  
cross-neutralizing linear epitopes within the L1 major  
capsid protein of human papillomaviruses."  
JOURNAL OF VIROLOGY. UNITED STATES JUL2002, vol. 76, no. 13, July 2002 (2002-07), pages  
6480-6486.SCHILLER J T ET AL: "PAPILLOMAVIRUS-LIKE  
PARTICLE BASED VACCINES: CERVICAL  
CANCER AND BEYOND" EXPERT OPINION ON  
BIOLOGICAL THERAPY, ASHLEY, LONDON, GB,  
vol. 1, no. 4, July 2001 (2001-07), pages 571-581.STELLER MICHAEL A: "Cervical cancer vaccines:  
progress and prospects." JOURNAL OF THE  
SOCIETY FOR GYNECOLOGIC INVESTIGATION.  
UNITED STATES 2002 SEP-OCT, vol. 9, no. 5,  
September 2002 (2002-09), pages 254-264.BACHTIARY BARBARA ET AL: "Impact of multiple  
HPV infection on response to treatment and survival  
in patients receiving radical radiotherapy for cervical  
cancer." INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER.  
JOURNAL INTERNATIONAL DU CANCER. UNITED  
STATES 20 NOV 2002, vol. 102, no. 3, 20 November  
2002 (2002-11-20), pages 237-243.

WO A0117551, 15.03.2001.

WO A0197840, 27.12.2001.

UA B1 6251678, 29.06.2001.

DE A4332596, 30.03.1995.

(57) 1. Застосування композиції, яка містить віру-  
соподібні частинки (ВПЧ) HPV16 і ВПЧ HPV18 у  
приготуванні медикаменту для профілактики інфе-  
кції і/або хвороби, спричиненої групою HPV онко-  
генних типів, вибраних з наступного переліку:а. група типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59,  
66, 68;

б. група HPV31, HPV33, HPV35, HPV52 та HPV58;

с. група HPV31, HPV35 і HPV58;

д. HPV31;

е. HPV45; та

ф. HPV52.

2. Застосування за п. 1, яке відрізняється тим,  
що ВПЧ HPV комбінують з ад'ювантом.3. Застосування за п. 2, яке відрізняється тим,  
що ад'ювантом є комбінація солі алюмінію і 3D  
MPL.

(13) C2

(11) 85377

(19) UA

4. Застосування за п. 3, яке **відрізняється** тим, що ад'ювантом є комбінація гідроксиду алюмінію і 3D MPL.

5. Застосування за будь-яким з попередніх пунктів, яке **відрізняється** тим, що ВПЧ є L1 ВПЧ.

6. Застосування за п. 5, яке **відрізняється** тим, що композиція містить в 0,5 мл дозі 20 мкг ВПЧ HPV16 L1 та 20 мкг ВПЧ HPV18 L1 та ад'ювант, який складається з 500 мкг гідроксиду алюмінію та 50 мкг 3D MPL.

7. Спосіб індукування імунної реакції проти однієї або кількох груп онкогенних типів HPV за п. 1, який включає введення пацієнту композиції, що містить ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18.

8. Спосіб профілактики інфекції і/або хвороби, спричиненої однією або кількома групами онкогенних типів HPV за п. 1, який включає введення пацієнту композиції, що містить ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18.

9. Спосіб за будь-яким з пп. 7-8, який **відрізняється** тим, що композиція додатково містить ад'ювант.

10. Спосіб за п. 9, який **відрізняється** тим, що ад'ювант включає сіль алюмінію і 3D MPL.

11. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що сіллю алюмінію є гідроксид алюмінію.

12. Спосіб профілактики у популяції суб'єктів інфекції, спричиненої однією або більше групами онкогенних типів HPV за п. 1, який включає введення пацієнту композиції, що містить ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18, причому введення цієї композиції забезпечує профілактику інфекції та/або хвороби щонайменше на 15 % кращу, ніж введення плацебо.

13. Вакцинна композиція, яка включає ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 і забезпечує перехресний захист проти інфекції і/або хвороби, спричиненої групою онкогенних типів HPV, за винятком типів HPV16 і HPV18.

Винахід стосується вірусоподібних часток (ВПЧ) вірусу папіломи людини (HPV) і його використання у медицині, зокрема, у захисті проти інфекції і/або захворювання, викликаних гетеролопним вірусом типу HPV.

Папіловіруси є малими ДНК-вірусами пухлини, які є високоспецифічними за типом. На сьогодні були описані більше 100 індивідуальних генотипів папіловірусу людини. Віруси HPV є звичайно специфічними до шкіри (наприклад, HPV1 і HPV2) або слизових поверхонь (наприклад, HPV6 і HPV11) і звичайно викликають доброякісні пухлини (бородавки), які залишаються на декілька місяців або років. Такі злоякісні пухлини можуть бути неприємними для особи, але, за незначними винятками, не загрожують життю.

Деякі віруси HPV, відомі як онкогенні типи HPV, пов'язані з раком. Найсильніший позитивний зв'язок між HPV і раком у людини існує між HPV16 і HPV18 і раком ший матки, який є найчастішою злоякісною у країнах, що розвиваються, з приблизно 500000 нових випадків у світі кожного року.

Іншими вірусами HPV, які викликають інтерес, пов'язаний з раком, є віруси типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 і 68.

Вірус HPV, як і його частки (ВПЧ), були запропоновані як потенційні вакцини для лікування від HPV. Досліди на тваринах показали, що ВПЧ не дає перехресного захисту проти інфікування іншими типами HPV [див, наприклад, Suzich J.A., et al. Proc Natl Acad Sci, 92 11553-11557, 1995, і Breitburd, Seminars in Cancer Biology, vol.9, 1999, pp.431-445].

Отже, існує потреба у вакцині для захисту від багатьох типів HPV.

Задачею винаходу є задовольнити цю вимогу.

Згідно з першим аспектом, винахід стосується використання суміші ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 для профілактики інфекції або хвороби, спричиненої

одним або більше вірусами групи онкогенних HPV, виключаючи типи 16 і 18.

Винахід також стосується використання суміші ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 у приготування медикаменту для профілактики інфекції або хвороби, спричиненої одним або більше вірусами групи онкогенних HPV, виключаючи типи 16 і 18.

Згідно з другим аспектом, винахід стосується використання суміші ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 для профілактики інфекції або хвороби, спричиненої одним або більше HPV з групи типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

Винахід також стосується використання суміші ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 у приготуванні медикаменту для профілактики інфекції або хвороби, спричиненої одним або більше вірусами HPV з групи типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

Згідно з третім аспектом, винахід стосується використання ВПЧ HPV16 у профілактиці інфекції або хвороби, спричиненої одним або більше HPV з групи типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

Винахід також стосується використання ВПЧ HPV16 у приготуванні медикаменту для профілактики інфекції або хвороби, спричиненої одним або більше HPV з групи типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

Згідно з четвертим аспектом, винахід стосується використання ВПЧ HPV18 у профілактиці інфекції або хвороби, спричиненої одним або більше HPV з групи типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

Винахід також стосується використання ВПЧ HPV18 у приготуванні медикаменту для профілактики інфекції або хвороби, спричиненої одним або більше HPV з групи типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

Зокрема, винахід стосується способу індукування імунної реакції проти одного або більше типів HPV, вибраних з групи, що складається з усіх онкогенних ракових типів, виключаючи типи 16 і 18, який включає введення пацієнту композиції, що містить ВПЧ HPV16. Бажаним є спосіб індукування імунної реакції проти одного або більше типів HPV, вибраних з групи, що складається з HPV31, HPV33, HPV35, HPV52 і HPV58. Найбільш бажаним є спосіб індукування імунної реакції проти одного або більше типів HPV, вибраних з групи, що складається з HPV31, HPV35 і HPV58. В іншому втіленні композиція, що використовується у способі, містить ВПЧ HPV18 і/або ад'ювант. У ще одному втіленні індукована імунна реакція забезпечує профілактику інфекції переліченими вище типами HPV.

У ще одному втіленні винахід стосується способу індукування імунної реакції проти одного або більше типів HPV, вибраних з групи, що складається з усіх онкогенних ракових типів, виключаючи типи 16 і 18, який включає введення пацієнту композиції, що містить ВПЧ HPV16. Бажаним є спосіб індукування імунної реакції проти одного або більше типів HPV, вибраних з групи, що складається з типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 і 68. Бажаним є також спосіб індукування імунної реакції проти одного або більше типів HPV, вибраних з групи, що складається з HPV45 і HPV58. В іншому втіленні композиція, що використовується згідно з цим способом, містить ВПЧ HPV18 і/або ад'ювант. У ще одному втіленні композиція, що використовується згідно з цим способом, містить ВПЧ HPV18 і/або ад'ювант. В іншому втіленні індукована імунна реакція забезпечує профілактику інфекції переліченими вище типами HPV.

Бажаним є описаний вище спосіб, згідно з яким імунна реакція індукується проти будь-якого з вірусів типів 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 або 12 визначених індивідуальних груп (згідно з розміром бажаної групи).

Було несподівано виявлено, що застосування ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 дає перехресний захист проти інфекції однією або більше HPV з груп онкогенного типу, включаючи типи 16 і 18 (до онкогенного типу належать віруси, здатні спричинити рак). Група онкогенних типів включає типи або складається з типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82, 26, 53 і 66. Зокрема, застосування ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 забезпечує перехресний захист проти інфекції і/або хвороби, спричиненої HPV з групи типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 і 68, які дали називатимемо групою "типів високого ризику раку". Були визначені особливості захисту проти всієї групи типів високого ризику раку і проти певних конкретних типів і комбінацій типів. Ефект полягає у доданні до "гомологічного" захисного ефекту проти HPV16 і HPV18 дії ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18, відповідно. Як такі, ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 можуть бути використані проти HPV16, HPV18 і інших типів HPV.

Перехресний захист означає, що гострота інфекції для групи HPV онкогенних типів (інфекція може бути тимчасовою або стійкою) і/або онкогенної хвороби, спричиненої інфекцією HPV є ниж-

чою у групі осіб, вакцинованих HPV16 і/або 18 ВПЧ, бажано, типів 16 і 18, ніж у невакцинованій групі. Повний перехресний захист проти типу або групи типів не розглядається у винаході; будь-який рівень перехресного захисту є корисним. Бажаним рівнем перехресного захисту є такий, який дає у вакцинованій групі 5%-не зниження інфекції і/або хвороби порівняно з невакцинованою групою, більш бажано мати зниження інфекції і/або хвороби на 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 80%, 90% або навіть до 100%.

Перехресний захист можна оцінювати виявленням присутності нуклеїнової кислоти, специфічної до різних онкогенних типів у вакцинованих і контрольних групах. Таке виявлення можна здійснити, наприклад, використовуючи методи, описані у WO 03014402, і посилання у цьому документі стосовно, зокрема, неспецифічної ампліфікації ДНК HPV і подальшого виявлення типів ДНК з використанням системи LiPA, описаної у WO 99/14377 і у Kleter et al, [Journal of Clinical Microbiology (1999), 37 (8): 2508-2517], повний зміст яких включено у цей опис посиланням. Для виявлення ДНК HPV у зразку можна застосовувати будь-який метод, наприклад, використання затравки, специфічної до кожного типу HPV, що досліджується. Придатні затравки відомі фахівцям або можуть бути легко побудовані, якщо відомими є послідовності HPV онкогенних типів.

Перехресний захист зручно спостерігати у жіночих популяціях, бажано, у жінок, серонегативних до інфекції HPV або серонегативних до HPV16 і 18, бажано, спостерігаючи досексуальну активність дівчат-підлітків.

Перехресний захист (оцінений через захист, спостережений у вакцинованій групі порівняно з контрольною групою) бажано спостерігати, порівнюючи з будь-яким одним онкогенним типом, відмінним від типів 16 або 18, з будь-якою групою типів високого ризику раку, а саме, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 або 68, або, колективно з такими групами типів високого ризику раку, як будь-який з типів 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 або 11, або з усіма типами високого ризику раку. Всі можливі комбінації типів 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 і 11 високого ризику раку є вартими дослідження і, як такі, існують різні відмінні одна від одної "групи" індивідуалізованих тут типів ВПЧ, для яких рівень перехресного захисту може бути аналізований у порівнянні з групою плацебо. Бажано використовувати HPV16 і/або ВПЧ HPV18 для профілактики інфекції HPV будь-якою такою групою типів HPV.

Згідно з винаходом, перехресний захист проти інфекції і/або хвороби забезпечується такими бажаними групами типів HPV:

А - група, що включає один або більше типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

В - група згідно з А, яка включає HPV типу 31 і один або більше HPV типів 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

С - група згідно з В, яка включає HPV типу 31 і один або більше HPV типів 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

D - група згідно з A-C, яка включає HPV типу 35 і один або більше HPV типів 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

E - група згідно з A-D, яка включає HPV типу 39 і один або більше HPV типів 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

F - група згідно з A-U, яка включає HPV типу 45 і один або більше HPV типів 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

G - група згідно з A-F, яка включає HPV типу 51 і один або більше HPV типів 52, 56, 58, 59, 66, 68.

H - група згідно з A-G, яка включає HPV типу 52 і один або більше HPV типів 56, 58, 59, 66, 68.

I - група згідно з A-H, яка включає HPV типу 56 і один або більше HPV типів 58, 59, 66, 68.

J - група згідно з A-I, яка включає HPV типу 58 і один або більше HPV типів 59, 66, 68.

K - група згідно з A-J, яка включає HPV типу 59 і один або більше HPV типів 66, 68.

L - група згідно з A-K, яка включає HPV типу 66 і HPV типу 68.

Зокрема, було виявлено, що у популяції частота інфікування групи плацебо щонайменше однією з груп типів високого ризику раку була на 38% вищою, ніж у жінок, вакцинованих вакциною, що містила ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18. Отже, винахід стосується, зокрема, використання композиції, що містить ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18, для профілактики у популяції інфекції одним або більше типами високого ризику раку. Бажано, щоб композиція була щонайменше на 20% більш ефективною, ніж плацебо, у профілактиці у популяції інфекції групою, що складається з типів високого ризику раку, бажано, щонайменше на 25% більше ефективною, більш бажано, щонайменше на 30% більш ефективною, краще щонайменше на 34%, найкраще щонайменше на 38% більш ефективною у профілактиці інфекції.

Винахід стосується використання композиції, яка, бажано, включає ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18, у приготуванні медикаменту для профілактики інфекції одним або більше HPV типів 31, 33, 35, 52 і 58.

Було виявлено, що у популяції частота інфікування групи плацебо щонайменше однією з груп типів 31, 33, 35, 52 і 58 була на 43% вищою, ніж у жінок, вакцинованих вакциною, що містила ВПЧ HPV16 і 18. Отже, винахід стосується, зокрема, використання композиції, що містить ВПЧ HPV16 і 18, для профілактики у популяції інфекції одним або більше типами HPV31, 33, 35, 52 і 58. Бажано, щоб композиція була щонайменше на 10% більш ефективною, бажано, щонайменше на 15% більш ефективною, більш бажано, щонайменше на 20% більш ефективною, краще щонайменше на 25%, найкраще щонайменше на 30% або щонайменше на 37%, або щонайменше на 43% більш ефективною у профілактиці інфекції.

Винахід стосується використання композиції, яка, бажано, включає ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 у приготуванні медикаменту для профілактики інфекції одним або більше HPV типів 31, 35 і 58.

Було також виявлено, що у популяції частота інфікування групи плацебо щонайменше однією з груп типів 31, 35 і 58 була на 58% вищою, ніж у

жінок, вакцинованих вакциною, що містила ВПЧ HPV16 і 18. Отже, винахід стосується, зокрема, використання композиції, що містить ВПЧ HPV16 і 18, для профілактики у популяції інфекції одним або більше типами HPV 31, 35 і 58. Бажано, щоб композиція була щонайменше на 20% більш ефективною, ніж плацебо у профілактиці у популяції інфекції типами HPV 31, 35 і 58, більш бажано, щонайменше на 25% більше ефективною, краще щонайменше на 30%, найкраще щонайменше на 35% або щонайменше на 40%, або щонайменше на 45%, або щонайменше на 49%, або щонайменше на 55% або більше, більш ефективною у профілактиці інфекції.

Винахід стосується використання композиції, яка, бажано, включає ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 у приготуванні медикаменту для профілактики інфекції одним або більше HPV типів 45 і 49.

Було, зокрема, виявлено, що у популяції імовірність інфікування групи плацебо щонайменше однією з груп типів 45 і 49 була на 58% вищою, ніж у жінок, вакцинованих вакциною, що містила ВПЧ HPV16 і 18. Отже, винахід стосується, зокрема, використання композиції, що містить ВПЧ HPV16 і 18 для профілактики інфекції у популяції одним або більше типами HPV 45 і 49. Бажано, щоб композиція була щонайменше на 20% більш ефективною, ніж плацебо, у профілактиці інфекції у популяції типами HPV 45 і 49, більш бажано, щонайменше на 30% більше ефективною, найкраще щонайменше на 33% більш ефективною у профілактиці інфекції.

Винахід стосується також способу профілактики інфекції HPV у популяції, де вакцинація ВПЧ HPV16 ВПЧ HPV18 або їх сумішшю забезпечує перехресний захист проти інфекції такими групами типів HPV всі онкогенні типи HPV (виключаючи типи 16 і 18) будь-яка з груп, визначених у п.п. A-L вище, група типів високого ризику раку, група HPV31, 35, 58, група HPV31, 33, 35, 52, 58, група HPV 45 і 59. Захист проти всіх членів групи колективно перевищує захист, спостережений з плацебо.

Бажано, щоб композиція, що містить ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18, забезпечувала перехресний захист проти щонайменше однієї інфекції HPV 35 і HPV52.

Бажано, щоб композиція, що містить ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18, забезпечувала перехресний захист проти щонайменше однієї інфекції HPV16 і HPV18.

Винахід також стосується використання ВПЧ HPV16 у приготуванні медикаменту для профілактики інфекції однією або більше групами типів високого ризику раку, бажано, групою, яку складають HPV типів 31, 33, 35, 52, 58, або групою, яку складають HPV типів 31, 35, 58.

Винахід також стосується використання ВПЧ HPV16 у приготуванні медикаменту для профілактики інфекції однією або більше групами типів високого ризику раку, бажано, групою, яку складають HPV типів 31, 33, 35, 52, 58, або групою, яку складають HPV типів 31, 35 і 58.

Винахід також стосується використання ВПЧ HPV18 у профілактиці інфекції однією або більше

групами типів високого ризику раку, бажано, групою, яку складають HPV типів 45 і 59.

ВПЧ HPV16 винаходу можна використовувати без ВПЧ будь-яких інших типів HPV і використовувати у комбінації з ВПЧ будь-яких інших типів HPV. Бажано використовувати ВПЧ HPV16 у комбінації з ВПЧ HPV18.

Багато використовувати ВПЧ HPV16, ВПЧ HPV 18 і їх комбінації для забезпечення захисту проти індивідуальних онкогенних типів, бажано, проти типів високого ризику раку, зокрема, HPV типів 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

На додаток до забезпечення перехресного захисту бажано використовувати імуногенну композицію винаходу, найкраще комбінацію ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18, для активної імунізації дорослих жінок і дівчат-підлітків, починаючи з віку 10р., для профілактики однієї або більше інфекцій HPV16 і HPV18, стійкої інфекції HPV16 і HPV18 і асоційованої з HPV16 і HPV18 неоплазії шийки матки.

Багато використовувати імуногенну композицію згідно з винаходом для профілактики неоплазії шийки матки, асоційованої з інфекцією іншими (не HPV16, 18) онкогенними типами.

ВПЧ HPV і способи отримання ВПЧ є добре відомими ВПЧ звичайно будують з структурних протеїнів L1 і, як варіант, L2 вірусу [див, наприклад, WO 9420137 і WO 9405792]. Будь-яка ВПЧ HPV згідно з винаходом може бути використана для забезпечення перехресного захисту, наприклад, ВПЧ L1 або L1+L2.

Багато використовувати лише ВПЧ L1.

ВПЧ може включати протеїн L1 повної довжини.

Для формування ВПЧ бажано використовувати усічений протеїн L1. Бажано, щоб усіканням був видалений сигнал локалізації ядра. Бажано, щоб усіканням було усіканням С-терміналу. Бажано, щоб С-термінальне усікання видалило менше 50 амінокислот, більш бажано, менше 40 амінокислот. У випадку, коли ВПЧ є ВПЧ HPV16, бажано, щоб усіканням С-терміналу видалило 34 амінокислот з L1 HPV16. У випадку, коли ВПЧ є ВПЧ HPV18 бажано, щоб усіканням С-терміналу видалило 35 амінокислот з L1 HPV16.

Усічені протеїни L1 є зручними функціональними похідними протеїну L1. Функціональні похідні протеїну L1 здатні підвищувати імунну реакцію (якщо необхідно, з придатними ад'ювантами), причому така імунна реакція здатна розпізнавати ВПЧ, складену з протеїну L1 повної довжини і/або типу HPV, від якого походить протеїн L1.

ВПЧ згідно з винаходом можуть також включати інші типи функціональних похідних протеїну, включаючи таких мутантів протеїнів HPV, усічених або повної довжини, як мутанти стирання, заміщення або введення. Придатні похідні включають також оптимізовані послідовності кодонів. Протеїн L1 або його похідна може бути також злитим протеїном, наприклад, одержаними злиттям протеїнів L1 і L2 або раннім протеїном. Протеїн L1 або його функціональна похідна можуть утворювати ВПЧ, а утворення ВПЧ може бути оцінене стандартними методами, наприклад, електронною мікроскопією і динамічним лазерним розсіюванням світла.

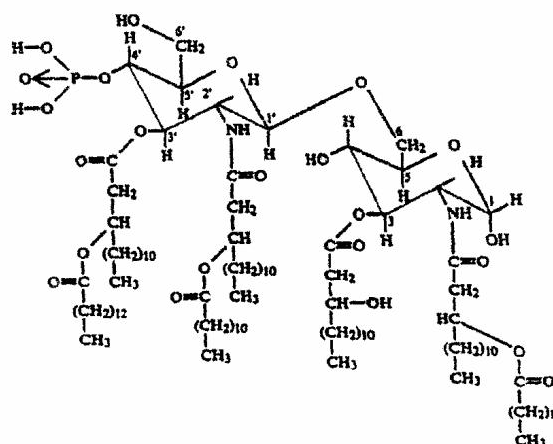
ВПЧ можна отримати у будь-якому клітинному субстраті, приготовленому, наприклад, з клітин дріжджів або комах, або, наприклад, з бакуловірусних клітин. Процедури приготування ВПЧ є добре відомими [див. WO 9913056 і US 6 245 568 і посилання у них, повний зміст яких включений посиланням].

ВПЧ бажано будувати методами демонтажу і повторного складання, які можуть дати більш стабільні і/або гомогенні ВПЧ папіловірусу [див., наприклад, McCarthy et al, 1998 "Quantitative Disassembly and Reassembly of Human Papillomavirus Type 11 Virus-like Particles in Vitro", J. Virology 72(1): 33-41], де описано демонтаж і повторне складання ВПЧ рекомбінантного L1 HPV11, отриманої з клітин комах для приготування ВПЧ. У WO 9913056 і US 6 245 568 також описано демонтаж і повторне складання для приготування ВПЧ HPV.

Багато приготувати ВПЧ HPV згідно з винаходом, як це описано у WO 9913056 або US 6 245 568.

ВПЧ винаходу можна комбінувати з ад'ювантом. Вакцини згідно з винаходом можуть містити придатний ад'ювант або імуностимулятор, наприклад (але без обмеження), детоксикований ліпід будь-якого походження, нетоксичні похідні ліпиду А, сапоніни, і інші реагенти, здатні стимулювати реакцію типу TH1.

Було відомо, що ентеробактеріальний ліпополісахарид (LPS) є потужним стимулятором імунної системи, хоча його використання в ад'ювантах було обмеженим внаслідок його токсичності. Нетоксична похідна LPS, монофосфорилліпід (MPL), який отримують видаленням карбогідратної групи ядра і фосфату з кінцевого глюкозаміну, була описана у Ribi et al. [1986, Immunology and Immunopharmacology of bacterial endotoxins, Plenum Publ Corp., NY, p.407-419] і, згідно з цим описом, має таку структуру:



Ще однією детоксикованою версією MPL, яку отримують видаленням ацильного ланцюга у позиції 3 дисахаридного стрижня, є 3-О-деацильований монофосфорилліпід (3D-MPL). Його можна очистити і приготувати методами, описаними у GB 2122204B, посилання в якому стосуються

приготування дифосфорилліпиду А і його 3-О-деацильованих варіантів.

Бажаною формою 3D-MPL є емульсія малих часток діаметром менше 0,2мкм; спосіб її виготовлення описаний у WO 94/21292. Водні композиції з монофосфорилліпідом і ПАВ були описані у WO 9843670 A2.

Ад'юванти з бактеріальними ліпополісахаридами для використання у композиціях згідно з винаходом можна очистити і обробити за допомогою бактеріальних джерел або синтезувати. Наприклад, очищений монофосфорилліпід був описаний у Ribí et al., 1986 (supra), а 3-О-деацильований монофосфорил- або дифосфорилліпід з *Salmonella* sp. були описані у GB 2220211 і US 4 912 094. Інші очищені і синтетичні ліпополісахариди були описані у Hilgers et al., 1986, Int.Arch.Allergy.Immunol, 79(4):392-6; Hilgers et al., 1987, Immunology, 60(1): 141-6; і EP 0 549 074 B1), зокрема, бажаним бактеріальним ліпополісахаридним ад'ювантом є 3D-MPL.

Відповідно, похідними LPS, які можуть бути використані згідно з винаходом, є імуностимулятори, подібні за структурою LPS або MPL або 3D-MPL. Згідно з іншим аспектом винаходу, похідними LPS можуть бути ацильовані моносахариди, які є частиною згаданої вище структури MPL.

Сапоніни були описані у Lacaille-Dubois, M. and Wagner H. [1996, review of the biological i pharmacological activities of saponins, Phytomedicine vol.2, pp.363-386]. Сапоніни є стероїдними або тригліцеридними глікозидами, широко розповсюдженими у рослинах і морських тваринах. Сапоніни можуть утворювати колоїдні розчини у воді, які піняться при струшуванні, і давати в осаді холестерол. Поблизу клітинних мембран сапоніни створюють пористі структури у мембрані, які викликають вибухання мембрани. Прикладом цього явища є гемоліз еритроцитів, який є властивістю сапонінів (не всіх).

Сапоніни є відомими як ад'юванти у вакцинах для системного введення. Ад'ювант і гемолітична активність сапонінів були детально вивчені у роботі Lacaille-Dubois and Wagner, supra). Наприклад, Quil A (отриманий з кори південноамериканського дерева Quil-laja *Saponaria Molina*) і його фракції були описані у US 5 057 540 і у "Saponins as vaccine adjuvants", Kensil, C R., Crit Rev TherDrug Carrier Syst, 1996, 12 (1-2): 1-55; і EP 0 362 279 B1. Часткові структури, відомі як імуностимулювальні комплекси (ISCOMS), які містять фракції Quil, є гемолітичними і були використані у приготування вакцин [Morein, B., EPO 109 942 B1; WO 96/11711; WO 96/33739]. Гемолітичні сапоніни QS21 і QS17 (фракції Quil A, очищені хроматографією) були описані як потужні системні ад'юванти, а способи їх виготовлення були описані у патенті США No 5 057540 і EP 0 362 279 B1. Інші сапоніни, що були використані при дослідженні системних вакцин, включають ті, що були отримані з інших видів рослин, наприклад, *Gypsophila* і *Saponaria* [Bomford et al., Vaccine, 10(9): 572-577, 1992].

Удосконалена система включає комбінацію нетоксичної похідної ліпиду і похідну сапоніну, зокрема, комбінацію QS21 і 3D-MPL [див. WO

94/00153] або менш реактогенну композицію, в якій QS21 гаситься холестеролом [WO 96/33739].

Особливо потужною бажаною ад'ювантною композицією з QS21 і 3D-MPL є масляно-водна емульсія, описана у WO 95/17210.

Відповідно, одним з втілень винаходу є вакцина з ад'ювантом детоксикованим ліпідом або нетоксичною похідною ліпиду А, бажано, з ад'ювантом монофосфорилліпідом або його похідною.

Бажано, щоб вакцина додатково містила сапонін, найкраще, QS21.

Бажано, щоб композиція додатково включала масляно-водну емульсію. Винахід також включає спосіб приготування вакцинової композиції з сумішшю пептиду L2 згідно з винаходом і фармацевтично прийнятним наповнювачем, наприклад, 3D-MPL.

Додатковими компонентами, які бажано включати у вакцинну композицію з ад'ювантом, можуть бути, наприклад, октоксисини і описані тут поліетиленові естери, зокрема, *t*-октилфеноксиполіетоксисетанол (Triton X-100) і моноолеат поліоксисетиленсорбітану (Tween 80); і похідні солей жовчної або холінової кислот, зокрема, деоксихолат або тауродаксихолат натрію. Отже, бажані композиції включають 3D-MPL, Triton X-100, Tween 80 і деоксихолат натрію, які можна комбінувати з препаратом антигену L2 для отримання бажаної вакцини.

В одному з бажаних втілень винаходу вакцина містить везикулярну ад'ювантну композицію, яка включає холестерол, сапонін і похідну LPS. Відповідно, бажана ад'ювантна композиція містить одношарову везикулу, яка включає холестерол з ліпідним подвійним шаром, який, бажано, містить діолеоїлфосфатидилхолін, а сапонін і похідна LPS зв'язані з ліпідним подвійним шаром або заглиблені у нього. Більше бажано, щоб ці ад'ювантні композиції включали QS21 як сапонін і 3D-MPL як похідну LPS, причому відношення ОБ21:холестерол має становити від 1:1 до 1:100 (маса/маса), найкраще, 1:5 (маса/маса). Такі композиції були описані у EP 0 822 831 B, включеному посиланням.

Вакцини згідно з винаходом доцільно використовувати у комбінації з алюмінієм, при цьому вони повністю або частково абсорбуються в алюмінієві ад'юванти. Бажаним ад'ювантом є алюмінієва сіль, бажано, у комбінації з 3D MPL, наприклад, фосфат алюмінію і 3D MPL. Можна також застосувати гідроксид алюмінію з 3D MPL.

Згідно з винаходом, найбільш бажаною є комбінація ВПЧ з алюмінієвою сіллю або з алюмінієвою сіллю + 3D MPL. Бажаною алюмінієвою сіллю є гідроксид алюмінію.

Вакцин може також містити алюміній або сполуку алюмінію як стабілізатор.

Вакцини винаходу можна вводити пацієнту різними шляхами, наприклад, орально, локально, підшкірно, через слизову (звичайно внутрішньовідально), внутрішньовенно, внутрішньом'язово, через ніс, під'язично, через шкіру і супозиторієм.

Як варіант, вакцину можна також компонувати або вводити сумісно з іншими антигенами HPV, наприклад, з раннім антигеном або антигенами не

HPV. Останні можуть забезпечити захист від інших хвороб, переважно таких, що передаються статевим шляхом, наприклад, симплекс-вірусу герпесу, EBV, хламідії і ВІЛ. Зокрема, бажано, щоб вакцина містила gD або її відрізок від HSV. Завдяки цьому вакцина надасть захист як проти HPV, так і проти HSV.

Дози компонентів вакцини залежать від стану, статі, віку і маси пацієнта, шляху введення пацієнту і типу HPV. Кількість також залежить від кількості типів ВПЧ. Доцільно вводити пацієнту вакцину у кількості, достатній для створення імунологічної захисної реакції. Доза вакцини має становити 1-100мкг, бажано, 5-80мкг, більше бажано, 5-30мкг, найбільш бажано, 5-20мкг, найкраще 5, 6, 10, 15 або 20мкг кожної ВПЧ.

Всі вакцини винаходу бажано використовувати для вакцинації дівчат-підлітків віком 10-15, бажано, 10-13р. Вакцини можна також вводити жінкам, в яких виявлено абнормальний мазок або після хірургічної операції видалення, спричиненого HPV, або таких, що є серонегативними і ДНК-негативними для ракових типів HPV.

Багато вводили вакцину у 2- або 3-дозовому режимі, наприклад, у 0-, 1-місячному режимі або у 0-, 1- і 6-місячному режимі, відповідно. Багато, щоб режим вакцинації включав підтримуючі ін'єкції через 5-10 років, бажано, 10 років.

Багатою формою вакцини є рідка композиція, хоча вакцину можна ліофілізувати і відновити перед введенням.

Багато, щоб імуноген згідно з винаходом (ВПЧ HPV16 і або HPV18) при використанні як вакцину застосовували у вигляді композиції вакцини з наповнювачем. Отже, винахід, зокрема, стосується використання вакцини HPV16 або HPV18, наприклад, такої, як вакцина лише L1 для профілактики інфекції HPV.

#### Приклад 1

Здорові жінки віком 15 і 25р. були імунізовані сумішшю ВПЧ L1 HPV16 і HPV18. Ці жінки були: 1) серонегативні для HPV16 і HPV18; 2) негативні для високого ризику інфекції HPV шийки матки (виявлено за допомогою PCR HPV); 3) мали протягом життя не більше 6 статевих партнерів і 4) нормальний мазок PAP.

Суміш містила на 0,5-мілілітрову дозу 20мкг ВПЧ L1 HPV16, 20мкг ВПЧ L1 HPV18 і була ад'ювантована 500мкг гідроксиду алюмінію і 50мкг 3D MPL. Група плацебо одержала ін'єкцію 500мкг гідроксиду алюмінію.

Ефективність вакцини (Е.В.) проти типів HPV високого ризику раку оцінювали як поліпшення Е.В. (%) захисту проти інфекції вакциною порівняно з групою плацебо.

Перехресний захист оцінювали через виявлення наявності нуклеїнової кислоти, специфічної

для різних онкогенних типів у вакцинованих і контрольних групах. Для виявлення використали процедури, описані у WO 03014402 і посиланнях у ньому, зокрема, для неспецифічного підсилення ДНК HPV з подальшим виявленням типів ДНК з використанням системи LiPA, описаної у WO 99/14377 і у Kleter et al., [Journal of Clinical Microbiology (1999), 37 (8): 2508-2517], зміст яких включено посиланням.

Для виявлення ДНК HPV, однак, можна застосувати будь-який метод, наприклад, специфічний до типу PCR, з використанням затравок, специфічних для кожного типу HPV, що досліджується. Придатні затравки відомі фахівцям і можуть бути легко отримані, якщо відомими є послідовності онкогенних типів HPV.

Ефективність вакцини оцінювали проти інфекцій всіма 12 типами високого ризику раку, філогенетично пов'язаними типами HPV16 (31, 35, і 58; 31, 33, 35, 52 і 58) і філогенетично пов'язаними типами HPV18 (45 і 59).

Початковий аналіз проводили на "ITT" (Намір обробляти гіпотетичну когорту, що репрезентує всіх осіб, що одержали щонайменше одну дозу вакцини). Ці дані наведені у табл.1.

Результати, наведені у табл.2, 3 стосуються "АТР" (Згідно з протоколом) групи для тих пацієнтів, що відповідали всім критеріям дослідження. Табл.2 містить дані проміжного аналізу, одержані від усіх пацієнтів тоді, коли для щонайменше 50% когорти пройшло 18 місяців після першої вакцинації. Табл.3 містить кінцеві результати від пацієнтів на 18-му місяці після першої вакцинації (місяць 0). У групі АТР всі пацієнти отримали 3 дози вакцини на 0-му, 1-му і 6-му місяцях і були серонегативними на 6-му місяці.

Дані табл.1 показують, що імунізація сумішшю ВПЧ HPV16 і ВПЧ HPV18 забезпечує перехресний захист проти інших типів HPV. На цій стадії розміри зразків є занадто малими для точного статистичного аналізу, однак дані показують позитивну тенденцію і дозволяють припустити, що імунізація HPV16 і ВПЧ HPV18s є ефективною проти інфекцій іншими типами HPV.

Все це було підтверджене у процесі дослідження.

Табл.2 показує, що HPV16 і HPV18 забезпечують статистично значущий перехресний захист проти групи типів високого ризику раку 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 і 68.

Табл. 3 показує, що, за винятком типів, прив'язаних з HPV18 (які показують дуже помітну тенденцію) існує статистично значущий перехресний захист проти групи HPV31, 35, 58; групи HPV31, 33, 35, 52, 58; і 12 типів високого ризику раку (відмінних від HPV16/18).

Таблиця 1

Аналізовані типи HPV	Кількість інфікованих жінок (група вакцини)	% інфікованих жінок (група вакцини) = A	Кількість інфікованих жінок (група плацебо)	% інфікованих жінок (група плацебо) = B	Ефективність вакцини (%): $1-(A/B) \times 100$ , з корекцією на відносний розмір груп вакцини і плацебо	95%-й довірчий інтервал (ниж. межа)	95%-й довірчий інтервал (верхня межа)	P
HPV31, 35, 58	5	1,1	11	2,4	55,1	-29,1	84,4	0,127
HPV31, 33, 35, 52, 58	17	3,8	24	5,4	30,3	-29,7	62,6	0,252
HPV45, 59	3	0,7	6	1,3	50,6	-97,7	87,6	0,309
HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	27	6,3	40	9,4	34,6	-6,5	59,9	0,086

Зразки були отримані від пацієнтів на 9-му, 12-му, 15-му і 18-му місяцях і випробувані на Інфікування типами HPV, визначеними вище.

Таблиця 2 - ефективність вакцини після трьох доз у профілактиці тимчасових гетеролопчних інфекцій

Таблиця 2

Ефективність вакцини проти інфекції типами, філогенетично пов'язаними з HPV16, типами, філогенетично пов'язаними з HPV18, типами, філогенетично пов'язаними з HPV16 і/або HPV18, і всіма типами високого ризику, виключаючи HPV16 і HPV18 - когорта АТР (місяць 6-18)

Тип інфекції	Швидкість нападу						Ефективність вакцини			
	Вакцина			Плацебо			%	95%	CI	p
	N	n	AR	N	n	AR				
пов'язаний з HPV16	433	12	2,8	438	24	5,5	49,4	0,2	74,4	0,060
пов'язаний з HPV16	423	29	6,9	423	46	10,9	37,0	1,6	59,6	0,052
пов'язаний з HPV16	442	9	2,0	449	16	3,6	42,9	-27,9	74,5	0,223
пов'язаний з HPV16/18	433	21	4,9	438	41	9,4	48,2	13,8	68,9	0,012
пов'язаний з HPV16/18*	423	34	8,0	423	56	13,2	39,3	9,0	59,5	0,019
високий ризик	385	53	13,8	386	88	11,8	39,6	17,7	55,7	0,001

N - кількість осіб певної когорти  
 n - кількість осіб тимчасово інфікованих HPV  
 AR - швидкість нападу (n/N)  
 95% CI - 95%-й довірчий інтервал  
 $\text{нижня межа} = 1 - \exp(\log(\text{arv}/\text{arp}) + 1,96 \cdot \sqrt{1/nv - 1/Nv + 1/nr - 1/(Nr + 0,5)})$   
 $\text{верхня межа} = 1 - \exp(\log(\text{arv}/\text{arp}) - 1,96 \cdot \sqrt{1/nv - 1/Nv + 1/nr - 1/(Nr + 0,5)})$   
 якщо кількість випадків у вакцині = 0:  
 $\text{нижня межа}^* = 1 - \exp(\log(\text{arv}^*/\text{arp}^*) + 1,96 \cdot \sqrt{1/nv - 1/Nv + 1/nr - 1/(Nr + 0,5)})$   
 $\text{верхня межа}^* = 1 - \exp(\log(\text{arv}^*/\text{arp}^*) - 1,96 \cdot \sqrt{1/nv - 1/Nv + 1/nr - 1/(Nr + 0,5)})$   
 де  
 arv - швидкість нападу у реципієнтів інфекції  
 arp - швидкість нападу у реципієнтів плацебо  
 nv - кількість випадків у реципієнтів інфекції  
 Nv - кількість випадків і їх відсутності у реципієнтів інфекції  
 nr - кількість випадків у реципієнтів плацебо

Nr - кількість випадків і їх відсутності у реципієнтів плацебо  
 пов'язані з HPV16: філогенетично пов'язані з HPV16 типи 35, 31, 58, без урахування інших типів HPV  
 пов'язані\* з HPV16: філогенетично пов'язані з HPV16 типи 35, 31, 58, 33, 52, без урахування інших типів HPV  
 пов'язані з HPV18: філогенетично пов'язані з HPV18 типи 45, 59, без урахування інших типів HPV  
 пов'язані з HPV16 і/або HPV18: філогенетично пов'язані з HPV16 і/або HPV18 типи 35, 31, 58, 45, 49, без урахування інших типів HPV  
 пов'язані\* з HPV16 і/або HPV18: філогенетично пов'язані з HPV16 і/або HPV18 типи 35, 31, 58, 33, 52, 45, 49, без урахування інших типів HPV  
 \*\* - типи високого ризику, виключаючи HPV16 і HPV18.

Таблиця 3

Аналізовані типи HPV	Повна кількість пацієнтів з наявною інформацією на групу	Кількість інфікованих жінок (група вакцини)	% інфікованих жінок (група вакцини) = A	Кількість інфікованих жінок (група плацебо)	% інфікованих жінок (група плацебо) = B	Ефективність вакцини (%): $1-(A/B) \times 100$ , з корекцією на відносний розмір груп вакцини і плацебо	95%-й довірчий інтервал (нижня межа)	95%-й довірчий інтервал (верхня межа)	P
HPV31, 35, 58	412	11	2,7	26	6,3	57,9	15,9	78,9	0,012
HPV31, 33, 35, 52	403	28	6,9	48	12,2	43,0	11,0	63,5	0,015
HPV45, 59	421	10	2,4	15	3,6	33,5	-46,3	69,8	0,319
HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,	368	58	15,8	90	25,3	37,7	16,2	53,6	0,002

Зразки були отримані від пацієнтів на 9-му, 12-му, 15-му і 18-му місяцях і випробувані на Інфекцію типами HPV, визначеними вище.