

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2020112990, 06.09.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
07.09.2017 GB 1714430.4;
19.02.2018 US 62/632,056

(43) Дата публикации заявки: 07.10.2021 Бюл. № 28

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 07.04.2020(86) Заявка РСТ:
US 2018/049772 (06.09.2018)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2019/051100 (14.03.2019)Адрес для переписки:
119019, Москва, Гоголевский бульвар, 11,
Гизатуллина Евгения Михайловна(71) Заявитель(и):
КОМБАЙНД ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)(72) Автор(ы):
МИКОЛ, Ромэн (GB),
АНТОШЖИК, Славомир (US)

RU 2020112990 A

(54) КОМПОЗИЦИИ И ПРОЦЕССЫ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ, ЭКСПРЕССИИ И
МОДУЛЯЦИИ КОДИРУЮЩИХ РИБОНУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ТКАНИ

(57) Формула изобретения

1. Композиция для экспрессии полипептида в органе-мишени, содержащая частицу для доставки; и по меньшей мере одну последовательность мРНК, находящуюся в комплексе с частицей для доставки, инкапсулированную ей или иным образом связанную с ней, где последовательность мРНК содержит кодирующую последовательность, которая кодирует полипептид; по меньшей мере первую последовательность нетранслируемой области (UTR); по меньшей мере одну последовательность сайта связывания микроРНК (мкРНК); где последовательность сайта связывания мкРНК находится внутри первой последовательности UTR, непосредственно примыкает к ней с 5'-конца или непосредственно примыкает к ней с 3'-конца; и где последовательность сайта связывания мкРНК обеспечивает дифференциальную экспрессию кодирующей последовательности в первом и втором типах клеток, содержащихся в органе-мишени.

2. Композиция по п. 1, где частица для доставки содержит аминоспиртовые липидоиды.

3. Композиция по п. 1 или 2, где последовательность мРНК инкапсулирована частицей для доставки.

4. Композиция по любому из пп. 1-3, где частица для доставки нацелена на орган-мишень.

5. Композиция по любому из п. 4, где частица для доставки содержит нацеливающий

RU 2020112990 A

A
R U 2 0 2 0 1 1 2 9 9 0 A

агент, выбранный из белков, пептидов, углеводов, гликопротеинов, липидов, малых молекул и нуклеиновых кислот; и где указанные нацеливающие агенты избирательно связываются с клетками в органе-мишени.

6. Композиция по любому из пп. 1-5, где последовательность сайта связывания мкРНК содержит множество последовательностей сайтов связывания мкРНК, необязательно более двух, в соответствующих случаях более трех, обычно более четырех последовательностей сайтов связывания.

7. Композиция по п. 6, где множество последовательностей сайтов связывания мкРНК состоит из повторов по существу одной и той же последовательности.

8. Композиция по п. 6, где множество последовательностей сайтов связывания мкРНК состоит из множества по существу различных последовательностей.

9. Композиция по любому из пп. 1-8, где первый и второй типы клеток представляют собой разных представителей группы, состоящей из ненеопластического клеточного фенотипа, предракового клеточного фенотипа и неопластического фенотипа.

10. Композиция по любому из пп. 1-8, где орган-мишень содержит первый и второй типы клеток, демонстрирующие разные профили экспрессии мкРНК.

11. Композиция по любому из пп. 1-10, где орган-мишень выбран из группы, состоящей из печени, головного мозга, легкого, молочной железы и поджелудочной железы.

12. Композиция по пп. 1-11, где по меньшей мере одна последовательность сайта связывания микроРНК (мкРНК) содержит одну или более последовательностей сайтов связывания мкРНК-122, включая их варианты и гомологи.

13. Композиция по любому из пп. 1-12, где первая последовательность UTR является 3'-концевой относительно кодирующей последовательности.

14. Композиция по любому из пп. 1-12, где первая последовательность UTR является 5'-концевой относительно кодирующей последовательности.

15. Композиция по любому из пп. 1-14, где последовательность мРНК дополнительно содержит вторую последовательность UTR, обладающую по меньшей мере 90% сходством с последовательностью UTR, экспрессируемой в одном из по меньшей мере первого и второго типов клеток в органе-мишени.

16. Композиция по любому из пп. 1-15, где полипептид содержит терапевтический усиливающий фактор.

17. Композиция по п. 16, где терапевтический усиливающий фактор выбран из белка-супрессора опухоли, белка программируемой клеточной смерти, ингибитора сигнального пути программируемой клеточной смерти, моноклонального антитела или его фрагмента или производного, сиквенс-специфической нуклеазы, фактора вирулентности онколитического вируса, цитокина, хемокина, флуоресцентного маркерного белка и их комбинаций.

18. Композиция по любому из пп. 16-17, где терапевтический усиливающий фактор представляет собой иммуномодулирующую молекулу, выбранную из группы, состоящей из (i) цитокинов, участвующих в иммунном ответе и воспалении, выбранных из одного или более из: TNF- α , TNF- β , IFN- α , IFN- β , IFN-гамма, IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL11, IL12, CCL 2, CCL3, CCL4, CCL5 CXCL 9 и CXCL10; (ii) активаторов дендритных клеток, выбранных из одного или более из: GM-CSF, TLR7 и TLR9; (iii) молекул, нацеленных на следующие клеточные рецепторы и их лиганды, выбранные из одного или более из: CD40, CD40L, CD160, 2B4, Tim-3, GP-2, B7H3 и B7H4; (iv) ингибиторов TGF- β ; (v) ингибиторов белка 3 Т-клеточной мембранны; (vi) ингибиторов белка программируемой клеточной смерти 1 (PD1), лиганда 1 рецептора программируемой клеточной смерти (PDL1), лиганда 2 рецептора программируемой клеточной смерти (PDL2), цитотоксического Т-лимфоцитарного антигена 4 (CTLA4) и

гена активации лимфоцитов 3 (LAG3); и (vii) ингибиторов NF-кВ.

19. Композиция по любому из пп. 1-18, дополнительно содержащая онколитический вирус, в соответствующих случаях вирус, выбранный из любой из групп I-VII классификации вирусов по Балтимору.

20. Композиция по п. 19, где онколитический вирус выбран из группы, содержащей один или более из следующих: вирус везикулярного стоматита, вирус Мараба, вирус полиомиелита, реовирус, вирус кори, вирус болезни Ньюкасла, вирус Коксаки A21, парвовирус, вирус простого герпеса 1 типа и аденоовирус.

21. Выделенная последовательность мРНК для экспрессии полипептида в органе-мишени, содержащая по меньшей мере одну кодирующую последовательность, которая кодирует указанный полипептид; по меньшей мере первую последовательность нетранслируемой области (UTR); по меньшей мере одну последовательность сайта связывания микроРНК (мкРНК); где последовательность сайта связывания мкРНК находится внутри первой последовательности UTR, непосредственно примыкает к ней с 5'-конца или непосредственно примыкает к ней с 3'-конца; и

где последовательность сайта связывания мкРНК обеспечивает дифференциальную экспрессию кодирующей последовательности в разных типах клеток в органе-мишени.

22. Выделенная последовательность мРНК по п. 21, содержащая множество последовательностей сайтов связывания микроРНК (мкРНК).

23. Выделенная последовательность мРНК по п. 22, содержащая более двух, в соответствующих случаях более трех, обычно более четырех последовательностей сайтов связывания.

24. Выделенная последовательность мРНК по п. 22, где множество последовательностей сайтов связывания мкРНК состоит из множества по существу различных последовательностей.

25. Выделенная последовательность мРНК по любому из пп. 21-24, где первый и второй типы клеток могут представлять собой разных представителей группы, содержащей ненеклостические клетки, трансформированный клеточный фенотип, предраковый фенотип и неопластический фенотип.

26. Выделенная последовательность мРНК по пп. 21-25, где орган-мишень выбран из группы, состоящей из печени, головного мозга, легкого, молочной железы и поджелудочной железы.

27. Выделенная последовательность мРНК по пп. 21-26, где полипептид содержит терапевтический усиливающий фактор.

28. Выделенная последовательность мРНК по п. 27, где терапевтический усиливающий фактор представляет собой иммуномодулирующую молекулу, выбранную из группы, состоящей из (i) цитокинов, участвующих в иммунном ответе и воспалении, выбранных из одного или более из: TNF- α , TNF- β , IFN- α , IFN- β , IFN-гамма, IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL11, IL12, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5 CXCL9 и CXCL10; (ii) активаторов дендритных клеток, выбранных из одного или более из: GM-CSF, TLR7 и TLR9; (iii) молекул, нацеленных на следующие клеточные рецепторы и их лиганды, выбранные из одного или более из: CD40, CD40L, CD160, 2B4, Tim-3, GP-2, B7H3 и B7H4; (iv) ингибиторов TGF- β ; (v) ингибиторов белка 3 Т-клеточной мембраны; (vi) ингибиторов белка программируемой клеточной смерти 1 (PD1), лиганда 1 рецептора программируемой клеточной смерти (PDL1), лиганда 2 рецептора программируемой клеточной смерти (PDL2), цитотоксического Т-лимфоцитарного антигена 4 (CTLA4) и гена активации лимфоцитов 3 (LAG3); и (vii) ингибиторов NF-кВ.

29. Выделенная последовательность мРНК по п. 21-28, где мРНК содержит множество кодирующих последовательностей.

30. Выделенная последовательность мРНК по п. 21, где мРНК выбрана из одной из

R U
2 0 2 0 1 1 2 9 9 0 A

группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 5.

31. Полинуклеотидная экспрессирующая векторная конструкция, кодирующая последовательность мРНК по любому из пп. 21-30.

32. Способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту композиции по любому из пп. 1-20.

33. Способ по п. 32, дополнительно включающий введение субъекту терапии или терапевтического агента.

34. Способ по п. 33, где терапия или терапевтический агент выбраны из химиотерапии, радиационной терапии, биологического агента, онколитического вируса, низкомолекулярного лекарственного средства, CAR-T или адоптивной клеточной терапии и их комбинаций.

35. Способ по любому из пп. 32-34, где субъект представляет собой человека.

36. Способ по любому из пп. 32-34, где субъект представляет собой животное, не являющееся человеком.

37. Способ по любому из пп. 32-36, где рак выбран из группы, состоящей из рака печени, головного мозга, легкого, молочной железы и поджелудочной железы.

38. Способ по п. 37, где рак представляет собой рак печени.

39. Способ по п. 38, где рак печени представляет собой первичный рак печени или вторичный рак печени.

40. Способ по п. 38 или п. 39, где рак печени представляет собой первичный рак печени.

41. Способ по п. 38 или п. 39, где рак печени представляет собой вторичный рак печени.

42. Способ по п. 40, где первичный рак печени выбран из группы, состоящей из гепатокарциномы, гепатобластомы, холангикарциномы и ангиосаркомы.

43. Способ по п. 41, где вторичный рак печени представляет собой метастатический рак печени из известной или неизвестной первичной солидной опухоли.

44. Композиция по любому из пп. 1-20 или выделенная мРНК по любому из пп. 21-30 для применения в медицине.

45. Композиция по любому из пп. 1-20 или выделенная мРНК по любому из пп. 21-30 для применения для лечения рака, в соответствующих случаях, где рак выбран из группы, состоящей из рака печени, головного мозга, легкого, молочной железы и поджелудочной железы.

46. Способ изготовления композиции, содержащей множество частиц для доставки, по п. 1, включающий (i) обеспечение инкапсулирующей композиции; (ii) обеспечение раствора, содержащего последовательность мРНК, где последовательность мРНК предназначена для экспрессии полипептида в органе-мишени, причем последовательность мРНК содержит по меньшей мере одну кодирующую последовательность, которая кодирует указанный полипептид; по меньшей мере первую последовательность нетранслируемой области (UTR); по меньшей мере одну последовательность сайта связывания микроРНК (мкРНК); где последовательность сайта связывания мкРНК находится внутри первой последовательности UTR или непосредственно примыкает к ней с 5'-конца; и где последовательность сайта связывания мкРНК обеспечивает дифференциальную экспрессию кодирующей последовательности в разных типах клеток в органе-мишени;

(iii) объединение инкапсулирующей композиции с раствором, содержащим последовательность мРНК, для образования комплекса между инкапсулирующей композицией и последовательностью мРНК; и

(iv) диспергирование комплекса (iii) для создания множества частиц для доставки.

47. Способ по п. 46, где инкапсулирующая композиция состоит из аминоспиртового

A
2020112990A
RU

R U
2020112990 A

липидоида.

48. Способ по п. 47, где инкапсулирующая композиция содержит аминоспиртовой липидоид, включающий С12-200.

49. Способ по любому из пп. 46-48, где множество частиц для доставки содержит частицы для доставки, имеющие средний диаметр по меньшей мере приблизительно 1 нм и не более приблизительно 150 нм.

50. Способ лечения органа-мишени в организме субъекта, где указанный орган-мишень содержит не пораженные заболеванием клетки и пораженные заболеванием клетки, где способ включает обеспечение композиции, содержащей частицу для доставки; и последовательность мРНК, находящуюся в комплексе с частицей для доставки, инкапсулированную ей или иным образом связанную с ней, где последовательность мРНК содержит по меньшей мере одну кодирующую последовательность, которая кодирует полипептид; по меньшей мере первую последовательность нетранслируемой области (UTR); по меньшей мере одну последовательность сайта связывания микроРНК (мкРНК); где по меньшей мере одна последовательность сайта связывания мкРНК находится внутри первой последовательности UTR, непосредственно примыкает к ней с 5'-конца или непосредственно примыкает к ней с 3'-конца; и где последовательность сайта связывания мкРНК обеспечивает дифференциальную экспрессию кодирующей последовательности в не пораженных заболеванием и пораженных заболеванием клетках; где способ дополнительно включает введение композиции и онколитического вируса указанному субъекту.

51. Способ по п. 50, где последовательность мРНК кодирует терапевтический агент, повышающий эффективность онколитического вируса.

52. Способ по п. 50 или 51, где онколитический вирус был ослаблен посредством мутации одного или более генов вирулентности.

53. Способ по п. 52, где последовательность мРНК кодирует один или более генов вирулентности или их эквивалент или гомолог.

54. Способ по любому из пп. 50-53, где последовательность мРНК кодирует одну или более иммуномодулирующих молекул, выбранных из группы, состоящей из (i) цитокинов, участвующих в иммунном ответе и воспалении, выбранных из одного или более из: TNF- α , TNF- β , IFN- α , IFN- β , IFN-гамма, IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL11, IL12, CCL 2, CCL3, CCL4, CCL5 CXCL 9 и CXCL10; (ii) активаторов дендритных клеток, выбранных из одного или более из: GM-CSF, TLR7 и TLR9; (iii) молекул, нацеленных на следующие клеточные рецепторы и их лиганды, выбранные из одного или более из: CD40, CD40L, CD160, 2B4, Tim-3, GP-2, B7H3 и B7H4; (iv) ингибиторов TGF- β ; (v) ингибиторов белка 3 Т-клеточной мембранны; (vi) ингибиторов белка программируемой клеточной смерти 1 (PD1), лиганда 1 рецептора программируемой клеточной смерти (PDL1), лиганда 2 рецептора программируемой клеточной смерти (PDL2), цитотоксического Т-лимфоцитарного антигена 4 (CTLA4) и гена активации лимфоцитов 3 (LAG3); и (vii) ингибиторов NF- κ B.

55. Способ по любому из пп. 50-54, где последовательность мРНК экспрессируется на более высоком уровне в пораженных заболеванием клетках в органе-мишени по сравнению с не пораженными заболеванием клетками в органе-мишени.

56. Способ по любому из пп. 50-55, где онколитический вирус выбран из любой из групп I-VII классификации вирусов по Балтимору.

57. Способ по любому из пп. 50-56, где онколитический вирус выбран из группы, содержащей один или более из следующих: вирус везикулярного стоматита, вирус Мараба, вирус полиомиелита, реовирус, вирус кори, вирус болезни Ньюкасла, вирус Коксаки А21, парвовирус, вирус простого герпеса 1 типа и аденоовирус.

58. Способ по любому из пп. 50-57, где онколитический вирус представляет собой

вирус простого герпеса.

59. Способ по п. 58, где кодирующая последовательность кодирует US3.

60. Способ по п. 59, где последовательность мРНК содержит SEQ ID NO: 4.

61. Способ по любому из пп. 58-60, где кодирующая последовательность кодирует ICP6.

62. Способ по п. 61, где последовательность мРНК содержит SEQ ID NO: 5.

63. Способ по любому из пп. 50-62, где пораженные заболеванием клетки содержат неопластические клетки.

64. Способ по любому из пп. 50-63, где орган-мишень выбран из группы, состоящей из печени, головного мозга, легкого, молочной железы и поджелудочной железы.