

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 47/69 (2022.05); A61F 2/00 (2022.05); A61K 35/17 (2022.05)

(21)(22) Заявка: 2021134525, 25.11.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
25.11.2021Дата регистрации:  
04.10.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.11.2021

(45) Опубликовано: 04.10.2022 Бюл. № 28

Адрес для переписки:

115522, Москва, Каширское ш., 24, Федеральное  
государственное бюджетное учреждение  
"Национальный медицинский  
исследовательский центр онкологии имени  
Н.Н. Блохина" Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, отдел патентной и  
изобретательской работы

(72) Автор(ы):

Анисимова Наталья Юрьевна (RU),  
Мартыненко Наталья Сергеевна (RU),  
Рыбальченко Ольга Владиславовна (RU),  
Киселевский Михаил Валентинович (RU),  
Маншарипова Алмагуль Тулеуловна (KZ),  
Кабиева Айгуль Одаковна (KZ),  
Добаткин Сергей Владимирович (RU),  
Эстрин Юрий Захарович (AU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
учреждение "Национальный медицинский  
исследовательский центр онкологии имени  
Н.Н. Блохина" Министерства  
здравоохранения Российской Федерации  
"ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н.  
Блохина" Минздрава России) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: JP 2015134766 A, 27.07.2015. WO  
2019104449 A1, 06.06.2019. CA 2872643 A1,  
14.11.2013. RU 2756551 C2, 01.10.2021. RU  
2019103382 A, 11.08.2020. RU 2757812 C2,  
21.10.2021. RU 2653434 C1, 08.05.2018.

(54) Биodeградируемый металлический имплантат для локальной иммунотерапии пациентов с солидными опухолями

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии, медицине и ветеринарии, а именно к онкологии, разработке погружных медицинских изделий для персонализированной терапии, в частности для местной циторедуктивной терапии пациентов с солидными опухолями. Биodeградируемый металлический имплантат для локальной иммунотерапии пациентов с солидными опухолями представляет собой скаффолд из биodeградируемого сплава на основе магния после интенсивной пластической деформации, изготовленный в виде полого стержня с продольной прорезью, формирующей резервуар

для действующей композиции, заполненный мобилизирующей клетки средой на основе гидрогеля, биомедицинским клеточным продуктом на основе аутологических или аллогенных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, активированных ex vivo. Изобретение обеспечивает направленную транспортировку и длительное выживание клеток, депонированных в гидрогеле в области введения, а также обеспечивает реализацию ими пролонгированного местного цитотоксического воздействия клеток-эффекторов на опухолевые клетки путем непосредственного цитотоксического воздействия

и активацию специфического и неспецифического

звеньев иммунитета пациента. 3 ил., 2 пр.

R U 2 7 8 0 9 2 7 C 1

R U 2 7 8 0 9 2 7 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*A61K 47/69* (2017.01)  
*A61F 2/00* (2006.01)  
*A61K 35/17* (2015.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 47/69 (2022.05); A61F 2/00 (2022.05); A61K 35/17 (2022.05)*(21)(22) Application: **2021134525, 25.11.2021**(24) Effective date for property rights:  
**25.11.2021**Registration date:  
**04.10.2022**

Priority:

(22) Date of filing: **25.11.2021**(45) Date of publication: **04.10.2022** Bull. № 28

Mail address:

115522, Moskva, Kashirskoe sh., 24, Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij issledovatel'skij tsentr onkologii imeni N.N. Blokhina" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii, otdel patentnoj i izobretatel'skoj raboty

(72) Inventor(s):

Anisimova Natalya Yurevna (RU),  
Martynenko Natalya Sergeevna (RU),  
Rybalchenko Olga Vladislavovna (RU),  
Kiselevskij Mikhail Valentinovich (RU),  
Mansharipova Almagul Tuleulovna (KZ),  
Kabieva Ajgul Odakovna (KZ),  
Dobatkin Sergej Vladimirovich (RU),  
Estrin Yuriy Zakharovich (AU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij issledovatel'skij tsentr onkologii imeni N.N. Blokhina" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii "FGBU "NMITS onkologii im. N.N. Blokhina" Minzdrava Rossii) (RU)

**(54) BIODEGRADABLE METAL IMPLANT FOR LOCAL IMMUNOTHERAPY OF PATIENTS WITH SOLID TUMORS**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology, medicine and veterinary medicine, namely to oncology, the development of submersible medical devices for personalized therapy, in particular for local cytoreductive therapy of patients with solid tumors. A biodegradable metal implant for local immunotherapy of patients with solid tumors is a scaffold made of a biodegradable magnesium-based alloy after intensive plastic deformation, made in the form of a hollow rod with a longitudinal slit forming a reservoir for the active composition filled with a cell-mobilizing medium based

on hydrogel, a biomedical cell product based on autologous or allogeneic T-lymphocytes and natural killers activated ex vivo.

EFFECT: invention provides targeted transportation and long-term survival of cells deposited in the hydrogel in the area of administration, and also ensures the implementation of prolonged local cytotoxic effects of effector cells on tumor cells by direct cytotoxic effects and activation of specific and non-specific links of the patient's immunity.

1 cl, 3 dwg, 2 ex

RU 2 780 927 C1

RU 2 780 927 C1

Изобретение относится к биотехнологии, медицине и ветеринарии, а именно к онкологии и разработке погружных медицинских изделий для адьювантной клеточной иммунотерапии. Может быть использовано для местной циторедуктивной терапии пациентов с солидными опухолями.

5 Для лечения больных с онкологическими заболеваниями разработано значительное количество медицинских продуктов на основе иммунокомпетентных клеток и их белков для системного и местного введения больным. Известно, что для лечения меланомы предложено интратуморально вводить дендритные клетки [Yao W, Li Y, Zeng L, Zhang X, Zhou Z, Zheng M, Wan H. Intratumoral injection of dendritic cells overexpressing interleukin-12 inhibits melanoma growth. *Oncol Rep.* 2019 Jul; 42(1):370-376. doi: 10.3892/or.2019.7165. Epub 2019 May 21. PMID: 31115558.]. Предложено интратуморальное введение рекомбинантных цитокинов: препарата интерферона для лечения базально-клеточного рака кожи [https://rsmu.ru/fileadmin/templates/DOC/Disser/10/d\_abdulla\_ibragim.pdf], а также фактора некроза опухоли - альфа для лечения внутриглазной и конъюнктивальной меланомы [RU 2175242 C1]. Известен биомедицинский клеточный продукт с анти-HER2 специфической противоопухолевой активностью, представленный популяциями анти HER2 CAR-T-НК клеток [RU 2728361]. Известна композиция на основе аллогенных лимфоцитов в качестве экзогенного источника CD4 + Т-клеток, призванных способствовать активности эндогенных, опухолево-реактивных CD8 + Т-клеток пациента [CA 2872643]. Предложено использовать аллостимулированные клетки в двухэтапной последовательной стратегии имплантации непосредственно в солидную опухоль для инициации иммунного противоопухолевого ответа организмом пациента [EP 1037643]. Предложено использовать комбинацию аллогенных клеток для терапии злокачественных опухолей для паратуморальной имплантации [CA 2346769].

25 Клеточные продукты или цитостатики предложено вводить не только в виде суспензии, но и с использованием специальной мобилизирующей среды депонирования. Известна композиция для интратуморального введения ДНК вектора, инкапсулированного в наночастицы из хитозана [WO 2019104449]. Известен противоопухолевый агент с системой замедленного высвобождения препаратов ингибиторов ангиогенеза и/или протеолитических ферментов в микросферах или суспензии на основе карбоксиметилцеллюлозы [CN 101396341]. Известен имплантат для терапии солидных опухолей кармустином с замедленным высвобождением, что достигается использованием в качестве вспомогательного вещества растворимого биологического полимера [CN 101204365]. Также в качестве вспомогательного агента в аналогичном продукте предложено использовать сополимер лактида и гликолида для замедления высвобождения цитостатика [WO 2016095592]. Известно изобретение, предполагающее имплантацию в непосредственной близости от опухоли депо на основе гидрогеля, способного длительно обеспечивать градиент хемокинов иммунных клеток и ингибиторов иммунных контрольных чекпойнтов (checkpoints) [WO 2020176790].

40 Известна противоопухолевая фармацевтическая система с чипом для *in vivo* инъекции клеток, которая содержит пористый трехмерный криогелевый каркас, заключающий в себе производные гиалуроновой кислоты различной химической структуры и клетки, культивируемые в камерах каркаса. [WO 2020116989].

В качестве средства доставки клеточных продуктов и композиций на их основе в область опухолевого узла предложено использовать инъекционные иглы, зонды, а также имплантируемые скаффолды. Известно изобретение, где предложено использовать закрытые емкости для интратуморального введения лекарственных веществ в опухолевые узлы при раке молочной железы с целью замены или дополнения

стандартной радиотерапии [WO 2018114989]. Известно подобное устройство для адресной доставки химического агента, дистальный конец которого проникает в ткань-мишень и имеет порты доставки, расположенные вдоль всего устройства; баллон на конце обеспечивает контакт между целевой тканью и портами доставки [WO 2016014750 A1]. Это изобретение включает систему доставки, содержащую инъекционное средство доставки, имеющее просвет, при этом просвет образует гидравлическую связь между дальним концом и проксимальным концом средства доставки; имеется резервуар для хранения композиции. Действующая композиция составлена таким образом, чтобы ограничить миграцию активного агента из резервуара доставки. Изобретение предложено использовать для лечения широкого спектра заболеваний, в том числе рака различной этиологии. Датчики на наконечнике позволяют осуществлять внутрипроцедурный мониторинг путем измерения температуры, физиологических и/или электрофизиологических изменений, связанных с процессом доставки. Описан катетер с внутренними каналами для доставки в ткани композиций на основе гидрогелей [WO 2012012772]. Известна система доставки лекарственного средства или системы гипертермии с использованием иглы для акупунктуры из сплава Co-Cr-Mo [WO 2013183791 A1].

Известен персонализированный имплантат против рака, который включает аутоантигенпредставляющие клетки, активированные *ex vivo* на твердом, не поддающемся биологическому разложению, нетоксичном материале, который вводится подкожно в соответствующий участок на теле пациента [GR 1009868]. Известна композиция на основе дендритных клеток, генерированных *ex vivo*, которая доставляется в опухоль путем инъекции, биосовместимого скаффолда или имплантата путем внутрикожного, подкожного, внутримышечного, внутриопухолевого или интранодального введения [IN2876/MUM/2013]. В качестве носителя также предложено использовать биоразлагаемый пористый полимерный имплантат для длительного высвобождения действующего терапевтического агента [US 6013853]. Известно изобретение для химиотерапии рака, предполагающее пролонгированное высвобождение из биоразлагаемых полимерных имплантатов (например, миллицилиндров и микросфер, а также *in situ* образующихся гелей) соединений (в том числе, блокирующих активность интерлейкина-6) в области иссечения злокачественной опухоли, или для предотвращения прогрессирования предракового состояния [WO 2017147169]. Предложено использовать полимеры на основе поли(фосфоэфира), для доставки противоопухолевого агента в солидную опухоль [MXPA/A/2001/009668]. Также было предложено использовать цилиндрические имплантаты из магниевых сплавов с гадолинием, введенные интратуморально, для локальной циторедуктивной терапии узлов меланомы [DOI: 10.1016/j.msec.2021.112464]. Было предложено использование для иммунореабилитации онкологических больных имплантируемых пористых титановых носителей-инкубаторов с депонированной в их поры суспензией лимфокин-активированных киллеров на основе натуральных киллеров субпопуляции аутологичных лимфоцитов, модифицированных рекомбинантными цитокинами *ex vivo* (RU 2400238) или электромагнитным полем [RU 2377994].

Наиболее близким к заявляемому изобретению (прототипом) является имплантируемое устройство с противоопухолевой активностью для потокового программирования клеток, содержащее следующие три компонента: скаффолд, который имеет отверстия в виде макропор (400-500 мкм), соединяющихся друг с другом; мобилизационную композицию, которая обеспечивает мобилизацию и выживание дендритных клеток в условиях каркаса; композиция для развития иммунной

реактивности, содержащая иммуномодулятор, который активирует дендритные клетки, и цитозин-гуанозинный олигонуклеотид (CpG-ODN) [JP 2015134766]. Недостатки прототипа: 1) ограниченность объема резервуара для противоопухолевых агентов объемом пор в скаффолде, 2) необходимость проведения дополнительных хирургических вмешательств для удаления скаффолда из небиodeградируемого материала после окончания лечения, 3) высокий риск развития у пациентов иммуносупрессии, обусловленный повышенной экспрессией дендритными клетками интерлейкина-12 [doi: 10.3892/or.2019.7165], 4) необходимость предварительной идентификации экспрессии на клетках опухоли специфического антигена для примирования дендритных клеток, что значительно ограничивает спектр чувствительных к данному подходу опухолей, 5) повышенный риск развития аллергических реакций или реакций отторжения на введение в организм пациента иммуномодуляторов на основе олигонуклеотида.

Задачей изобретения является создание биodeградируемого имплантата, обеспечивающего доставку, локализованную мобилизацию и депонированное высвобождение композиции с противоопухолевой активностью непосредственно в ткань солидной опухоли.

Задача решается тем, что заявляемый имплантат представляет собой скаффолд из биodeградируемого сплава на основе магния после интенсивной пластической деформации, формирующий резервуар для действующей композиции, изготовленный в виде полого стержня с продольной прорезью для контакта композиции с тканью опухоли, заполненный мобилизующей клетки средой на основе гидрогеля для обеспечения выживаемости и замедленного высвобождения клеток, биомедицинским клеточным продуктом на основе аутологичных или аллогенных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, активированных *ex vivo*. Размер скаффолда зависит от конфигурации, локализации и объема опухолевого узла конкретного пациента.

Технический результат.

Заявляемое изобретение обеспечивает локализованную доставку непосредственно в ткани опухоли биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных или аллогенных биомедицинских клеточных продуктов на основе Т-лимфоцитов и натуральных киллеров крови (CAR-клетки, CAR-T-НК клетки, лимфокинактивированные киллеры), депонированных в гидрогеле, в составе биodeградируемого скаффолда на основе магниевых сплава. Цитотоксическое воздействие внесенных *in vivo* иммуноактивированных клеток на клетки опухоли опосредовано как непосредственной рецептор-зависимой контактной реакцией с формированием неспецифических пор в мембране клеток-мишеней, противоопухолевым эффектом клеточных цитокинов, так и опосредованной активацией клеточного и гуморального иммунитета пациента. Дополнительный цитотоксический эффект реализуется за счет воздействия на опухолевые клетки продуктов биodeградации магниевых сплава. Использование предложенного подхода способно обеспечить направленную транспортировку и длительное выживание клеток, депонированных в гидрогеле в область введения, а также обеспечить реализацию ими пролонгированного местного цитотоксического воздействия клеток-эффекторов на опухолевые клетки путем непосредственного цитотоксического воздействия, и активации звеньев врожденного и адаптивного иммунитета пациента.

Изобретение иллюстрируется фигурами 1а, 1б и 2.

На фиг. 1а - схематическое изображение скаффолда, вид сбоку;

На фиг. 1б - поперечный срез скаффолда;

На фиг. 2 - фотография скаффолда, увеличение в 3 раза.

Получение образцов заявляемого изделия осуществляют следующим способом. В качестве механического каркаса имплантата используют скаффолд, изготовленный из сплава на основе магния, который обрабатывают механическими методами интенсивной пластической деформации, например, методами равноканального углового прессования, мультиосевой деформации или ротационной ковки для модификации скорости биокоррозии скаффолда. Скаффолд изготавливают в виде полого стержня (1) диаметром 3-10 мм. Затем готовят композицию из гидрогеля (2), разрешенного для применения в клинической практике и аллогенных донорских или аутологичных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, генерированных *ex vivo* (3), при температуре 4-10°C. Заполняют клеточно-гелевой композицией емкость скаффолда и инкубируют изделие при 37°C не менее 30 минут. Введение имплантата интратуморально может быть произведено с помощью направляющей иглы или троакара.

Изобретение иллюстрировано двумя примерами.

Пример №1. Биodeградируемый металлический имплантат для локальной иммунотерапии пациентов, нагруженный аллогенными активированными лимфоцитами, состоит из трех компонентов: 1) полого стержня со стенками толщиной 1 мм, высотой 5 мм, диаметром 3 мм, изготовленного из магниевых сплава We43 после ротационной ковки, с продольной прорезью; 2) гидрогеля на основе коллагена; 3) аллогенного биомедицинского клеточного продукта на основе Т-лимфоцитов и натуральных киллеров здоровых мышей линии Balb/c, активированных *ex vivo*, в концентрации 5 млн клеток в 0,1 мл. Аллогенный клеточный продукт смешивали с гелем при температуре 10°C в соотношении 1:1. Полученной гелево-клеточной композицией наполняли внутренний объем скаффолда. Полученное изделие инкубировали при 37°C 30 минут с соблюдением условий стерильности. Изделие вводили с помощью троакара в ткани опухолевого узла мышам линии C57Black/c с привитой меланомой B16. Эффект торможения роста опухоли, зафиксированный на 11 сутки наблюдения составил 74±10%.

Пример №2. Биodeградируемый металлический имплантат для локальной иммунотерапии пациентов, нагруженный аутологичным клеточным продуктом, содержащим лимфокинактивированные киллеры, состоит из трех компонентов: 1) полого стержня со стенками толщиной 1 мм, высотой 5 мм, диаметром 5 мм, изготовленного из магниевых сплава We43 после равноканального углового прессования, с продольной прорезью; 2) гидрогеля на основе коллагена; 3) аутологичного клеточного продукта, содержащего лимфокинактивированные киллеры на основе натуральных киллеров крови мышцы линии C57 Black/c с привитой карциномой легких Льюиса в концентрации 6 млн клеток в 0,1 мл. Аутологичный клеточный продукт смешивали с гелем при температуре 4°C в соотношении 1:1. Полученной гелево-клеточной композицией наполняли внутренний объем скаффолда. Изделие инкубировали при 37°C 35 минут с соблюдением условий стерильности. Полученное изделие для локальной противоопухолевой иммунотерапии испытывали *in vitro* в цитотоксическом тесте. С этой целью культуру клеток карциномы легких Льюиса пассировали в лунки 12-луночного планшета по 500 тысяч клеток на лунку. После придонной адгезии клеток карциномы легких Льюиса в лунки планшета вносили образцы описываемых изделий и инкубировали в полной питательной среде объемом 4 мл при температуре 37°C в атмосфере с 5% углекислого газа в течение 3 суток. После удаления образцов изделия оценивали выживаемость опухолевых клеток по результатам активности лактатдегидрогеназы. Цитотоксический эффект составил 54±10%.

(57) Формула изобретения

Биодеградируемый металлический имплантат для локальной иммунотерапии пациентов с солидными опухолями, отличающийся тем, что представляет собой скаффолд из биодеградируемого сплава на основе магния после интенсивной пластической деформации, изготовленный в виде полого стержня с продольной прорезью, формирующей резервуар для действующей композиции, заполненный мобилизирующей клетки средой на основе гидрогеля, биомедицинским клеточным продуктом на основе аутологических или аллогенных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, активированных *ex vivo*.

10

15

20

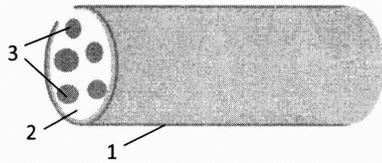
25

30

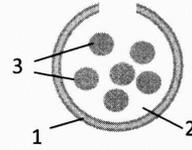
35

40

45



Фиг. 1а



Фиг. 1б



Фиг. 2