

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРОМ О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (PCT)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(10) Номер международной публикации
WO 2017/204688 A2

(43) Дата международной публикации
30 ноября 2017 (30.11.2017)

- (51) Международная патентная классификация:
Неклассифицировано
- (21) Номер международной заявки: PCT/RU2017/000330
- (22) Дата международной подачи:
22 мая 2017 (22.05.2017)
- (25) Язык подачи: Русский
- (26) Язык публикации: Русский
- (30) Данные о приоритете:
2016120010 24 мая 2016 (24.05.2016) RU
- (72) Изобретатель; и
- (71) Заявитель: ДЫДЫКИН, Артем Витальевич
(DYIDYIKIN, Artem Vitalevich) [RU/RU]; квартал Б,
д.8, кв.3, Ангарск, Иркутская обл., 665824, Angarsk,
Irkutskaya obl. (RU).
- (72) Изобретатель: ЗУЕВА, Янина Иозавна (ZUEVA,
Yanina Iozavna); ул.Пискунова, 147А, Иркутск, Иркут-
ская обл., 664023, Irkutsk, Irkutskaya obl. (RU).
- (74) Агент: КУПЦОВА, Елена Вячеславовна
(KUPTSOVA, Elena Vyacheslavovna); ООО "ФЕДЕ-
РАЛЬНОЕ ПАТЕНТНОЕ БЮРО "ГАРДИУМ" Рязан-
ский проспект, 75, корп.4, 1-я башня, 7 этаж, Москва,
109456, Moscow (RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR,
KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована:

— без отчёта о международном поиске и с повторной
публикацией по получении отчёта (правило 48.2(g))

(54) Title: SYSTEM FOR PRODUCING AUTOLOGOUS SERUM

(54) Название изобретения: СИСТЕМА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ АУТОЛОГИЧНОЙ СЫВОРОТКИ

(57) Abstract: The invention relates to medicine, and more particularly to a system for producing autologous serum containing a high level of IL-1RA and growth factors and a low level of a proinflammatory cytokine and other proinflammatory factors, and can be used for producing autologous plasma preparations in different variations, which are actively used in medicine for treating a wide range of diseases. The technical result of the proposed invention is a significant reduction in the concentration of the proinflammatory cytokine IL-1 β , and consequently an increase in the therapeutic effectiveness of a concentrated autologous serum. The present system for producing autologous serum containing a high level of IL-1RA includes: a first syringe, the inside walls of which are coated with a solid-phase polymer sorbent having monoclonal IL-1 β antibodies immobilized thereon, said syringe containing glass beads with a diameter of from 2.5 to 3.5 mm, which occupy up to 40% of the total volume of the syringe; at least one syringe, the inside walls of which are coated with a solid-phase polymer sorbent with human IL-1 β immobilized thereon; and a sterile adapter, designed for the transfer of autologous serum from the syringe which contains antibodies to the syringe which contains human IL-1 β .

(57) Реферат: Изобретение относится к медицине, а именно к системе для получения аутологичной сыворотки с повышенным содержанием IL-1 RA, факторов роста и со сниженным содержанием провоспалительного цитокина и других провоспалительных факторов и может быть использовано для получения препаратов аутологичной плазмы в различных вариантах, активно использующихся в медицине для лечения широкого спектра заболеваний. Техническим результатом предлагаемого технического решения является значительное снижение концентрации провоспалительного цитокина ИЛ-1 β , как следствие, повышение эффективности лечебного действия аутологичной концентрированной сыворотки. Система для получения аутологичной сыворотки с повышенным содержанием IL-1RA включает первый шприц, внутренние стенки которого покрыты твердофазным полимерным сорбентом с фиксированными на нем моноклональными антителами к ИЛ-1 β , содержащий стеклянные шарики диаметром от 2,5 до 3,5 мм мм, занимающие до 40% от общего объема шприца, и по меньшей мере один шприц, внутренние стенки которого покрыты твердофазным полимерным сорбентом с фиксированными на нем человеческими ИЛ-1 β , и стерильный переходник, выполненный с возможностью перемещения аутологичной сыворотки из шприца с антителами в шприц с человеческим ИЛ-1 β .



WO 2017/204688 A2

СИСТЕМА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ АУТОЛОГИЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Изобретение относится к медицине, а именно к системе для получения аутологичной сыворотки с повышенным содержанием IL-1RA, факторов роста и со сниженным содержанием провоспалительных цитокинов и других
5 провоспалительных факторов и может быть использовано для получения препаратов аутологичной плазмы в различных вариантах, активно используемых в медицине для лечения широкого спектра заболеваний.

Среди провоспалительных цитокинов наиболее значимыми в настоящее время считаются IL-1 и TNF-а.

10 К сожалению, применение лекарственных препаратов, блокирующих данные цитокины (ремикейд, адалимумаб) не может осуществляться рутинно для лечения дегенеративных заболеваний из-за большого числа ограничений и стоимости. Однако, применение биотехнологии по увеличению IL-1RA (антагониста интерлейкина 1 IL-1) в сыворотке крови (аутологичная
15 концентрированной сыворотка - ACS), и введение данного препарата внутрисуставно (паравертебрально, парасухожильно и т.п.) дает в эксперименте и клинике положительные результаты.

Основной целью исследования является поиск способов стимуляции высвобождения из клеток крови противовоспалительных цитокинов в высоких
20 концентрациях и удаления образующихся провоспалительных цитокинов (и других факторов). При этом предполагается стимулировать выделение цитокинов инертными, легкоудаляемыми компонентами или средами.

Препараты аутологичной плазмы служат ценным дополнением и альтернативой существующим подходам к лечению. Ни один другой вид
25 инъекционной терапии (например, введение кортикостероидов или гиалуроновой кислоты) не обладает выраженностью и продолжительностью эффекта, характерных для данного метода.

Терапия препаратами аутологичной плазмы предполагает введение в пораженный сустав, места энтезопатий или в воспаленное сухожилие
30 аутологичной кондиционированной сыворотки (АКС) с повышенным содержанием антагониста рецепторов к интерлейкину 1 (IL-1RA).

Исследование по болям в спине, проведённое Бохумским университетом (Becker et al., 2007), сравнивало терапию препаратами аутологичной плазмы с кортикостероидами при эпидуральном перинеуральном введении. Никаких специфических побочных эффектов не наблюдалось.

- 5 Терапия препаратами аутологичной плазмы признана на международном уровне, как высоко эффективный, инновационный метод локальной терапии; преимущества данного метода описаны в специализированных медицинских изданиях.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

- 10 Из уровня техники известны технические решения.

Известен аппарат для получения терапевтически активных белков в крови (международная заявка №2015085348, 18.06.2015), включающий пробирку, содержащую гранулы с силикатным покрытием. После сбора крови пробирку инкубируют в асептических условиях при 37 ° С в течение 24 ч. После инкубации в
15 каждую пробирку центрифугируют (3500 оборотов в минуту, 10 мин) и верхний слой, будучи плазмы или сыворотки, переводят в стерильный шприц и вводят обратно пациенту.

Также известна система для получения антагониста рецептора интерлейкина-1 или терапевтически эффективного белка, выбранная в качестве
20 ближайшего аналога патентуемому решению (США №2010125236, 20.05.2010). Кровь получают от пациента с помощью обычного шприца, а затем вводят в двойную люэровскую центрифужную пробирку. Центрифужная пробирка снабжена шариками с силанизированным покрытием. Пробирку затем инкубируют и центрифугируют. После инкубации и центрифугирования сыворотки, содержащей
25 терапевтически активные аутологичные белки, такие как IL-1RA, получившуюся плазму вводят обратно в организм пациента.

Однако исследования последних лет показали, что известные методики приводят к увеличению в сыворотке крови как противовоспалительных, так и прововоспалительных цитокинов одновременно. А этот факт ставит под сомнение
30 однозначную эффективность применения полученных продуктов при лечении хронических и острых артритов.

РАСКРЫТИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Техническим результатом предлагаемого технического решения является значительное снижение концентрации провоспалительного цитокина ИЛ-1 β (возможно дополнительно ФНО- α , ИЛ-6, ММП), как следствие, повышение
5 эффективности лечебного действия аутологичной концентрированной сыворотки.

Заявленный технический результат достигается за счет применения конструкции многокомпонентной системы для получения аутологичной сыворотки с повышенным содержанием ИЛ-1RA и со сниженным содержанием провоспалительных цитокинов, включающей один шприц (шприц 1), внутренние
10 стенки которого покрыты твердофазным полимерным сорбентом с фиксированным на нем моноклональными антителами к ИЛ-1 β (возможно дополнительно к ФНО- α , ИЛ-6), кроме стенок твердофазный полимерный сорбент может быть расположен на дополнительной структуре (губке, сетке, системе трубочек) внутри шприца, содержащего стеклянные шарики диаметром от 2,5 до
15 3,5 мм мм, занимающие до 40% от общего объема шприца, и 3-6 шприцов (шприц 2), внутренние стенки которых покрыты твердофазным полимерным сорбентом с фиксированными на нем человеческими ИЛ-1 β (возможно дополнительно ФНО- α , ИЛ-6), и стерильный переходник для перемещения аутологичной сыворотки из шприца с антителами в шприц с человеческим ИЛ-1 β .

20 Также может применяться один трехкомпонентный шприц для получения аутологичной сыворотки с повышенным содержанием ИЛ-1RA и со сниженным содержанием провоспалительных цитокинов, что также обеспечивает указанный результат.

Технический результат достигается за счет реакции антиген-антитело,
25 при которой ИЛ-1 (возможно ИЛ-6, ФНО- α), образующийся при получении аутологичной сыворотки или находящийся изначально в крови человека в повышенной концентрации, связывается со специфическим белком (моноклональным антителом), в ходе этой реакции на твердофазном сорбенте остается фиксированным комплекс моноклональное антитело - ИЛ-1 (возможно
30 дополнительно моноклональное антитело – ФНО- α , моноклональное антитело – ИЛ-6), а находящаяся в шприце свободно аутологичная сыворотка содержит значительно сниженное количество ИЛ-1 β (возможно ИЛ-6, ФНО- α).

Шприц 1 по сути является пробиркой, выполняющей функцию шприца за счет вакуума и двухсторонней иглы.

Использование дополнительной пористой структуры или различных вариантов ребристости стенки пробирки (шприца 1) увеличивает площадь соприкосновения плазмы и фиксированных на твердой фазе антител, в большей степени обеспечивая фиксацию провоспалительных цитокинов, и меньшую их концентрацию в получаемой плазме.

Объем шприца, стенки которого покрыты антителом к IL-1b (возможно дополнительно к ИЛ-6, ФНО- α), составляет от 20 до 60 мл. Наиболее вероятно использование моноклональных мышинных антител, полученных путем гибридомной технологии, также возможно использование других видов генно-инженерных моноклональных антител.

Объем шприца, стенки которого покрыты изнутри человеческим IL-1 β (возможно дополнительно ИЛ-6, ФНО- α), пригодного для употребления *in vivo*, для элиминации мышинных моноклональных антител, составляет 5-10 мл.

Стерильный переходник представляет собой полимерную трубку диаметром до 4 мм и длиной от 40 до 100 мм, которая также изнутри может быть покрыта или моноклональными антителами или человеческим IL-1, в зависимости от необходимости. Переходник дает возможность делать многократные пассажи плазмы, таким образом стимулируя связывание провоспалительных цитокинов с фиксированными антителами.

ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Далее решение поясняется ссылками на фигуры, на которых представлено следующее.

25 Фиг. 1 – варианты выполнения первого шприца.

Фиг. 2 – вид шприца с фиг.1 сверху.

Фиг. 3 – варианты выполнения шприца с дополнительной пористой структурой.

30 Фиг. 4 – вид сектора шприца с дополнительной пористой структурой сверху.

Фиг. 5 - схема выполнения процесса получения плазмы с помощью двух шприцев.

Фиг. 6 – схема выполнения процесса получения плазмы с помощью переходника и двух шприцев.

5 Фиг. 7 – схема выполнения процесса получения плазмы с использованием трехкомпонентного шприца.

ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Система включает шприц 1 (поз. 1), внутренние стенки которого покрыты твердофазным полимерным сорбентом (поз.2) с фиксированным на нем
10 моноклональными антителами к IL-1 β (возможно дополнительно к ФНО- α , ИЛ-6). Кроме стенок твердофазный полимерный сорбент может быть расположен на дополнительной структуре (губке, сетке, системе трубочек) (поз.4) внутри шприца 1. Шприц 1 содержит стеклянные шарики (поз.3) диаметром от 2,5 до 3,5 мм, занимающие до 40% от общего объема шприца, и 3-6 шприцов (шприц 2),
15 внутренние стенки которых покрыты твердофазным полимерным сорбентом с фиксированными на нем человеческими IL-1 β (возможно дополнительно ФНО- α , ИЛ-6), и стерильный переходник (поз.5, 7) для перемещения аутологичной сыворотки из шприца с антителами в шприц с человеческим IL-1 β .

Получение аутологичной сыворотки посредством предлагаемой
20 системы осуществляется следующим образом. Кровь получают от пациента с помощью обычного шприца и вводят в шприц 1 (поз.1), возможно введение в шприц 1 не только крови, но и других аутологичных жидкостей, плазмы, плазмы, обогащенной тромбоцитами. Шприц 1 затем инкубируют. Инкубация осуществляется на специально предназначенной для этих целей стойке (с
25 возможностью придания шприцу 1 дополнительно качательных движений или определенных циклов пространственного положения с изменением угла наклона к горизонту от 90 до 30 градусов), при температуре 36,5 – 37 градусов С в течение 2-24 часов. Для инкубации могут быть использованы, например, стойки фирм LABMEDIX ([http://labmedix.ru/preanalitika/miksery/programmiruemyj-rotator-](http://labmedix.ru/preanalitika/miksery/programmiruemyj-rotator-vstryaxivatel-rm-1.html)
30 [vstryaxivatel-rm-1.html](http://labmedix.ru/preanalitika/miksery/programmiruemyj-rotator-vstryaxivatel-rm-1.html)), ВИЛИТЕК (<http://vilitek.ru/products/173/868/>), GFL (<http://deltaanalytics.ru/3025.php>) и другие стойки с подобными характеристиками. Центрифугирование может быть осуществлено как до инкубации, так и после,

возможно добавление дополнительного цикла инкубации. При окончании этого этапа в шприце в верхней части образуется, в зависимости от объема взятой крови, 5-25 мл аутологичной сыворотки.

В шприц 1 после асептической обработки вставляют стерильный
5 переходник (поз.5, 7), по которому полученная сыворотка перемещается из шприца 1 в шприц 2 (поз.6). Перемещение может быть осуществлено в нескольких режимах, с изменением параметров скорости и возможной сменой направления потока. Наиболее вероятно использование режима с малой скоростью, обеспечивающей переход сыворотки из шприца 1 в шприц 2 в течение 5-15 минут.

10 Система, состоящая из шприцев 3 (поз 8). Система совмещает в одном шприце все принципиальные детали процесса получения плазмы, с повышенным содержанием IL-1RA, с низким содержанием провоспалительных цитокинов. Система состоит из вакуумной пробирки, преобразующейся в шприц, объёмом 5-10мл, содержащего стеклянные шарики диаметром от 2,5 до 3,5 мм мм,
15 занимающие до 30-40% от общего объема шприца и поршня, состоящего из множества капилляров, покрытых изнутри твердофазным сорбентом с фиксированными на нем антителами к ил-1 (возможно, дополнительно к ил-6, фно а). В шприце предусмотрен фиксатор поршня в положении 2 (поз.10).

Заявленная система может быть реализована в следующих процессах
20 получения аутологичной сыворотки.

Процесс 1.

Процесс получения плазмы с помощью двух шприцев: шприц 1 (поз.1) и шприц 2 (поз.6). Кровь центрифугируется в шприце 1 (возможна любая модификация), затем полученная плазма набирается в шприц 2 с помощью
25 универсального переходника с двухсторонними иглами (поз.5). В процессе провоспалительные цитокины связываются с антителами и фиксируются на полимере (шприц 1), а остатки антител удаляются в шприце 2 с помощью ИЛ-1.

Процесс 2.

Кровь центрифугируется в шприце 1 (возможна любая модификация),
30 затем полученная плазма набирается в шприц 2 с помощью универсального переходника с двухсторонними иглами (поз.5). В процессе провоспалительные

цитокины связываются с антителами и фиксируются на полимере (шприц 1), а остатки антител удаляются в шприце 2 с помощью ИЛ-1. Процесс может быть интенсифицирован с помощью прохождения крови через переходник (поз.7), который изнутри покрыт антителами к провоспалительным цитокинам (ИЛ-1)
5 (возможен вариант размещения на внутренней поверхности переходника фиксированного ил-1).

Процесс 3.

Кровь центрифугируется в шприце 3 (поз.8) (поршень находится в положении 1 (поз.9)). Затем поршень переводится из положения 1 (поз.9) в
10 положение 2 (поз.10) с помощью иглы, которая вводится в пробирку. Полученная плазма медленно проходит сквозь капилляры поршня, внутренняя поверхность которых покрыта моноклональными антителами к ИЛ-1 (возможно к ФНО, ИЛ-6). Провоспалительные цитокины (ИЛ-1, возможно ФНО, ИЛ-6) связываются с антителами и фиксируются на полимере. Поршень смещается иглой до
15 фиксатора. Этой же иглой плазма набирается в шприц (универсальный), которым осуществляется инъекция.

20

25

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Система для получения аутологичной сыворотки с повышенным содержанием IL-1RA и со сниженным содержанием провоспалительного цитокина, включающая шприц, внутренние стенки которого покрыты твердофазным полимерным сорбентом с фиксированным на нем моноклональными антителами к IL-1 β , содержащий стеклянные шарики диаметром от 2,5 до 3,5 мм мм, занимающие до 40% от общего объема шприца, и по меньшей мере один шприц, внутренние стенки которого покрыты твердофазным полимерным сорбентом с фиксированными на нем человеческими IL-1 β , и стерильный переходник, выполненный с возможностью перемещения аутологичной сыворотки из шприца с антителами в шприц с человеческим IL-1 β .

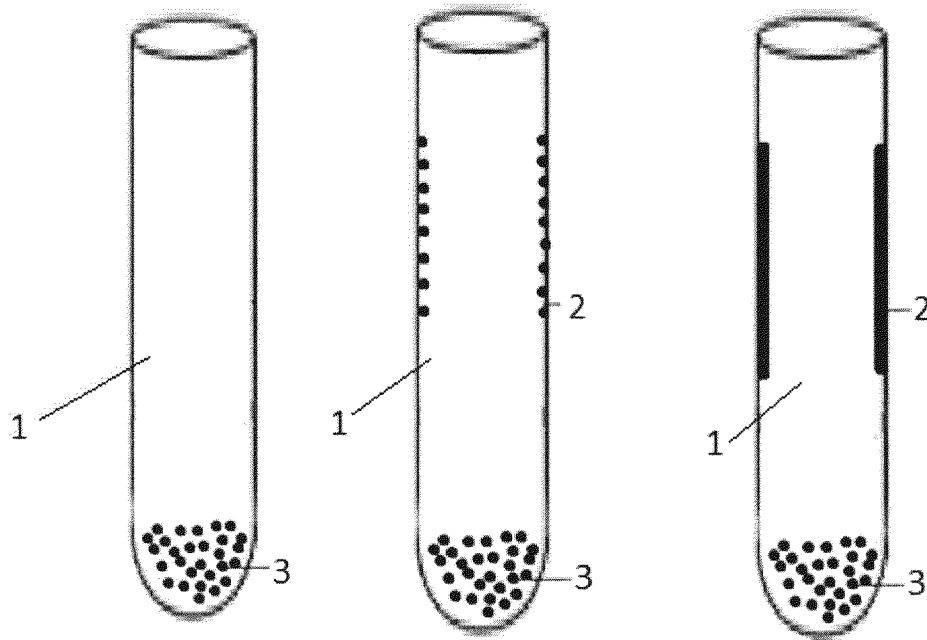
2. Система по п.1, в которой дополнительно используются моноклональные антитела к ФНО- α и/или ИЛ-6.

3. Система по п.1, в которой дополнительно используются человеческие ФНО- α и/или ИЛ-6.

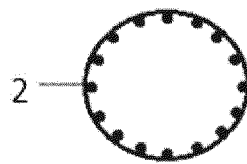
4. Система по п.1, в которой твердофазный полимерный сорбент расположен на дополнительной структуре, представляющей собой губку и/или сетку и/или систему трубочек внутри первого шприца.

20

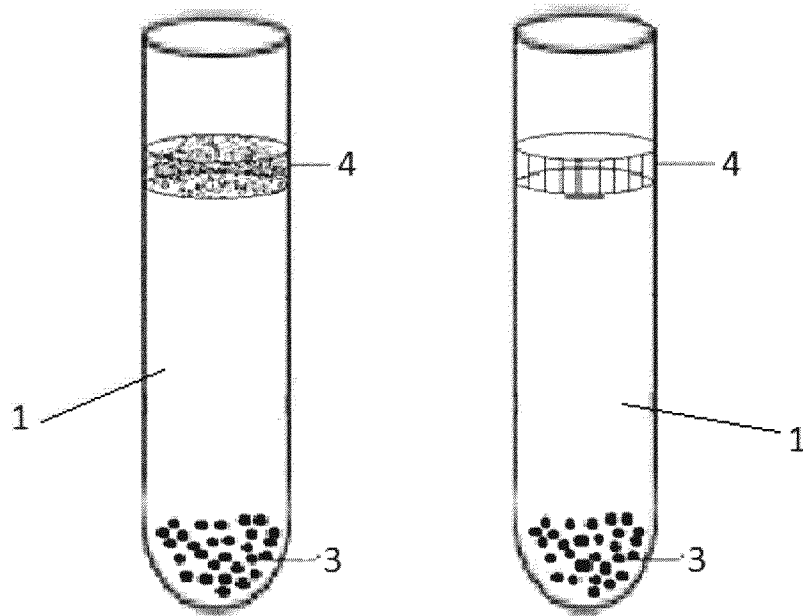
25



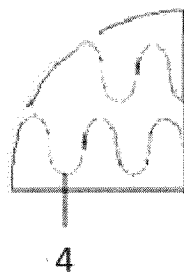
Фиг. 1



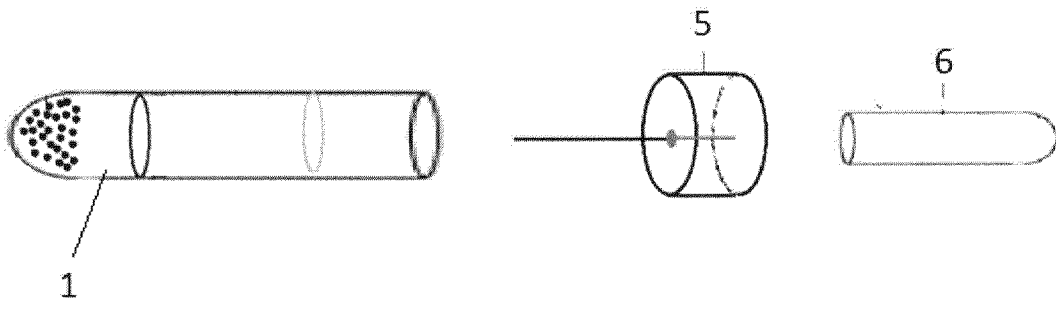
Фиг. 2



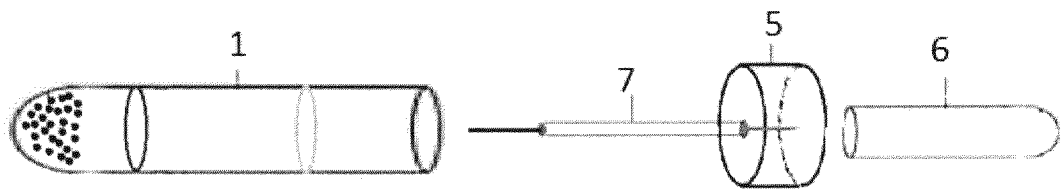
Фиг. 3



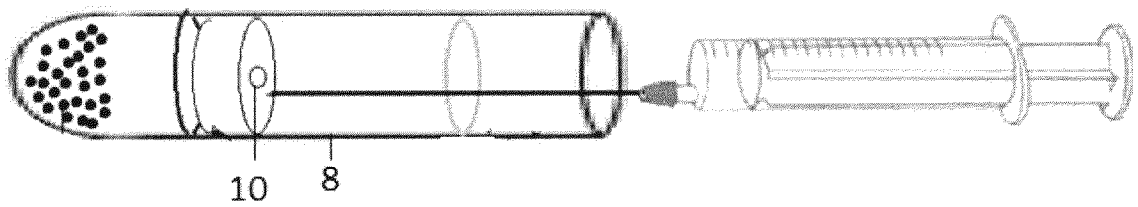
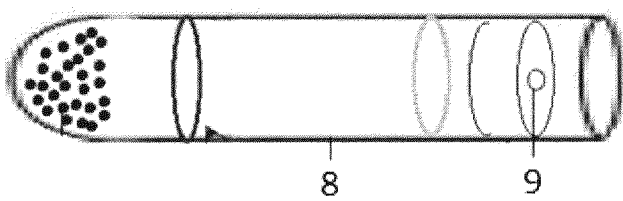
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7