РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 780 932**(13) **C1**

(51) МПК
A61K 47/69 (2017.01)
A61F 2/00 (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)

(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: **2021134526, 25.11.2021**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
25.11.2021

Дата 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) Биодеградируемый имплантат для локальной иммунотерапии онкологических больных

(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 путем паратуморальной имплантации изделия. Биодеградируемый имплантат для локальной иммунотерапии онкологических больных представляет собой скаффолд из биодеградируемого сплава на основе железа и марганца, изготовленный в виде пластины с прорезями продолговатой формы, формирующими резервуары для действующей композиции, заполненные мобилизирующей клетки средой на основе гидрогеля и биомедицинским клеточным продуктом на основе аутологичных 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 реализацию ими пролонгированного местного цитотоксического воздействия клеток-эффекторов на опухолевые клетки путем непосредственного цитотоксического воздействия, а также активацию специфического и неспецифического звеньев иммунитета пациента. 2 ил., 2 пр.

RU 2780932 C1

RU 2780932 C1

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 780 932**(13) **C1**

(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: **2021134526, 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 byudzhetnoe uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij issledovatelskij tsentr onkologii imeni N.N. Blokhina" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii, otdel patentnoj i izobretatelskoj 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 Yurij Zakharovich (AU)

(73) Proprietor(s):
Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij issledovatelskij tsentr onkologii imeni N.N. Blokhina" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (FGBU "NMITS onkologii im. N.N. Blokhina" Minzdrava Rossii) (RU)

(54) BIODEGRADABLE IMPLANT FOR LOCAL IMMUNOTHERAPY OF CANCER PATIENTS

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology, medicine and veterinary medicine, namely oncology, the development of submersible medical devices for personalized therapy, in particular for local cytoreductive therapy of patients with solid tumors by paratumoral implantation of the product. A biodegradable implant for local immunotherapy of cancer patients is a scaffold made of a biodegradable alloy based on iron and manganese, made in the form of a plate with oblong slits forming reservoirs for the active composition filled with a cell-mobilizing medium based on hydrogel and 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, as well as the implementation of prolonged local cytotoxic effects of effector cells on tumor cells by direct cytotoxic effects, as well as activation of specific and non-specific links of the patient's immunity.

1 cl, 2 dwg, 2 ex

RU 2780932 C1

RU 2780932 C1

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

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(l):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 коньюнктивальной меланомы [RU 2175242 C1]. 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].

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 чекпоинтов (checkpoints) [WO 2020176790]. 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]. Описано изобретение подобного устройства 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].

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]. 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; композицию для развития иммунной реактивности, содержащую иммуномодулятор, который активирует дендритные клетки, и цитозин-гуанозиновый 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 небиодеградируемого 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 имплантируемого биодеградируемого медицинского имплантата, обеспечивающего доставку, локализованную мобилизацию и депонированное высвобождение композиции с противоопухолевой активностью в область рядом с опухолевым узлом.

Задача решается тем, что предлагаемый имплантат представляет собой скаффолд из биодеградируемого сплава на основе железа и марганца, формирующий несколько резервуаров для действующей композиции за счет изготовления в виде пластины с прорезями, заполненный мобилизирующей клетки средой на основе гидрогеля для обеспечения выживаемости и замедленного высвобождения клеток, и биомедицинским клеточным продуктом на основе аутологичных или аллогенных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров (НК), активированных ex vivo. Размер скаффолда зависит от конфигурации, локализации и объема опухолевого узла конкретного пациента.

Технический результат

Заявляемое изобретение обеспечивает локализованную доставку в область солидной опухоли биомедицинского клеточного продукта, генерированного ex vivo, на основе аутологичных или аллогенных лимфоцитов (CAR-клетки, CAR-T-НК клетки и/или лимфокин-активированные киллеры), депонированных в гидрогеле, в составе биодеградируемого скаффолда из сплава на основе железа и марганца, изготовленного в виде пластины с прорезями продолговатой формы. Цитотоксическое воздействие внесенного клеточного продукта 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. Использование предложенного подхода способно обеспечить направленную транспортировку и длительное выживание клеток, депонированных в гидрогеле, в области введения, а также обеспечить реализацию ими пролонгированного местного цитотоксического воздействия клеток-эффекторов на опухолевые клетки путем непосредственного цитотоксического воздействия, а также активации звеньев врожденного и адаптивного иммунитета пациента.

Изобретение иллюстрируется фиг. 1 и 2:

На фиг. 1 - схематическое изображение изделия, вид сбоку;

На фиг. 2 - фотография скаффолда, увеличение в 5 раз.

Получение образцов заявляемого изделия осуществляют следующим способом. В качестве механического каркаса имплантата используют скаффолд, изготовленный из сплава на основе железа и марганца. Скаффолд изготавливают в виде пластины толщиной примерно 3 мм (1) с прорезями (2) для паратуморального введения. Затем готовят композицию на основе гидрогеля, разрешенного для применения в клинической практике, при температуре 4-10°С (3) и аллогенных донорских или аутологичных CAR-T-НК клеток и/или лимфокин-активированных киллеров, генерированных ex vivo (4). Заполняют клеточно-гелевой композицией емкости скаффолда и инкубируют изделие при 37°С не менее 30 минут. Изделие вносят в паратуморальную область пинцетом.

Изобретение иллюстрировано двумя примерами.

Пример №1. Биодеградируемый имплантат для локальной иммунотерапии, состоящий из трех компонентов: 1) плоской пластины (длина стороны 3-6 мм, толщина 1±0,2 мм) с прорезями продолговатой формы, изготовленной из сплава системы Fe-30Mn-C; 2) гидрогеля на основе коллагена; 3) биомедицинского клеточного продукта на основе аллогенных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, полученных из крови здоровых мышей линии Balb/c в концентрации 7 млн клеток в 0,1 мл (Фиг. 2). Аллогенный

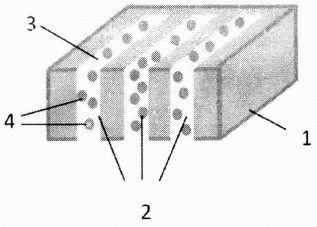
клеточный продукт смешивали с гелем при температуре 4°С в соотношении 1:1. Полученной гелево-клеточной композицией наполняли прорези скаффолда. Изделие инкубировали при 37°С 35 минут с соблюдением условий стерильности. Полученное изделие вводили с помощью пинцета паратуморольно рядом с капсулой опухолевого узла мышам линии C57Black/c. Эффект торможения роста опухоли, зафиксированный на 10 сутки наблюдения составил 52±9%.

Пример №2. Биодеградируемый имплантат для локальной иммунотерапии состоящий из трех компонентов: 1) плоской пластины (длина стороны 3-6 мм, толщина 1±0,2 мм), с прорезями продолговатой формы, изготовленной из сплава Fe-30Mn-C; 2) гидрогеля на основе коллагена; 3) аутологичных лимфокинактивированных киллеров, полученных из крови мыши линии C57Black/c с привитой меланомой линии B16 в концентрации 6,4 млн клеток в 0,2 мл (Фиг. 2). Аутологичный клеточный продукт смешивали с гелем при температуре 4°С в соотношении 1:1. Полученной гелево-клеточной композицией наполняли прорези скаффолда. Изделие инкубировали при 37°С 35 минут с соблюдением условий стерильности. Полученное изделие для локальной иммунотерапии испытывали in vitro в цитотоксическом тесте. С этой целью культуру клеток меланомы B16 пассировали в лунки 12-луночного планшета по 500 тысяч клеток на лунку. После придонной адгезии клеток меланомы в лунки планшета вносили образцы описываемых изделий и инкубировали в полной питательной среде объемом 4 мл при температуре 37°С 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 57±6%.

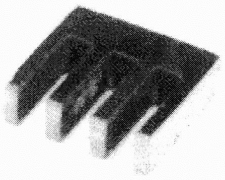
(57) Формула изобретения

Биодеградируемый имплантат для локальной иммунотерапии онкологических больных, отличающийся тем, что представляет собой скаффолд из биодеградируемого сплава на основе железа и марганца, изготовленный в виде пластины с прорезями продолговатой формы, формирующими резервуары для действующей композиции, заполненные мобилизирующей клетки средой на основе гидрогеля и биомедицинским клеточным продуктом на основе аутологичных или аллогенных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, активированных ex vivo.

1



Фиг. 1



Фиг. 2