

**СИСТЕМА ЛИГАНД-БАКТЕРИОФАГ ДЛЯ
НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ И
ТАРГЕТНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

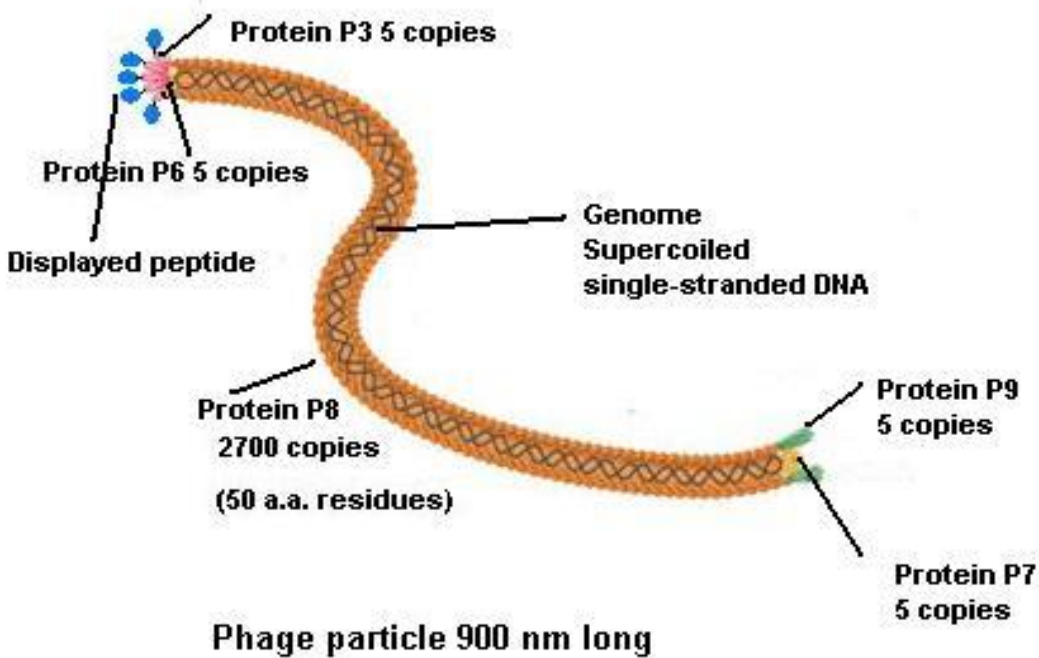
Колесанова Екатерина Федоровна

Зав. лабораторией пептидной инженерии ИБМХ

EKolesanova@yandex.ru

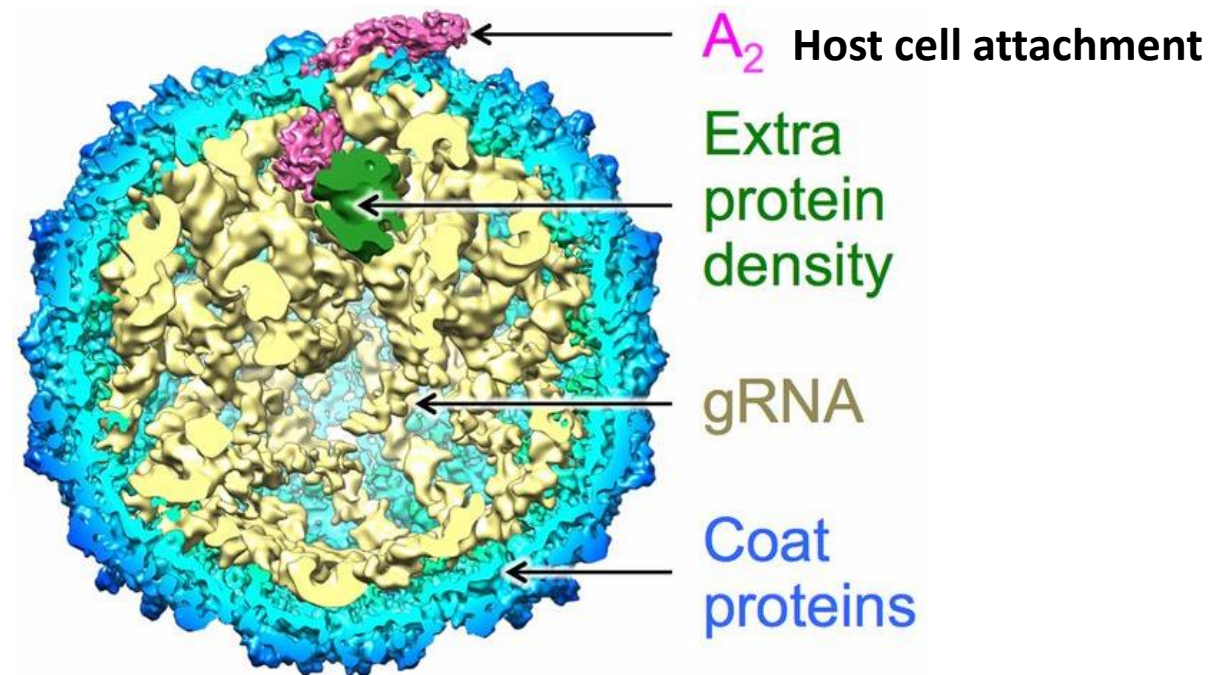
ФАГОВЫЙ ДИСПЛЕЙ ПЕПТИДОВ

Филаментный бактериофаг M13 (Fam. *Inoviridae*)



Малые икосаэдрические бактериофаги MS2, Q β (Fam. *Leviviridae*)

 Phage particle diameter 27 nm



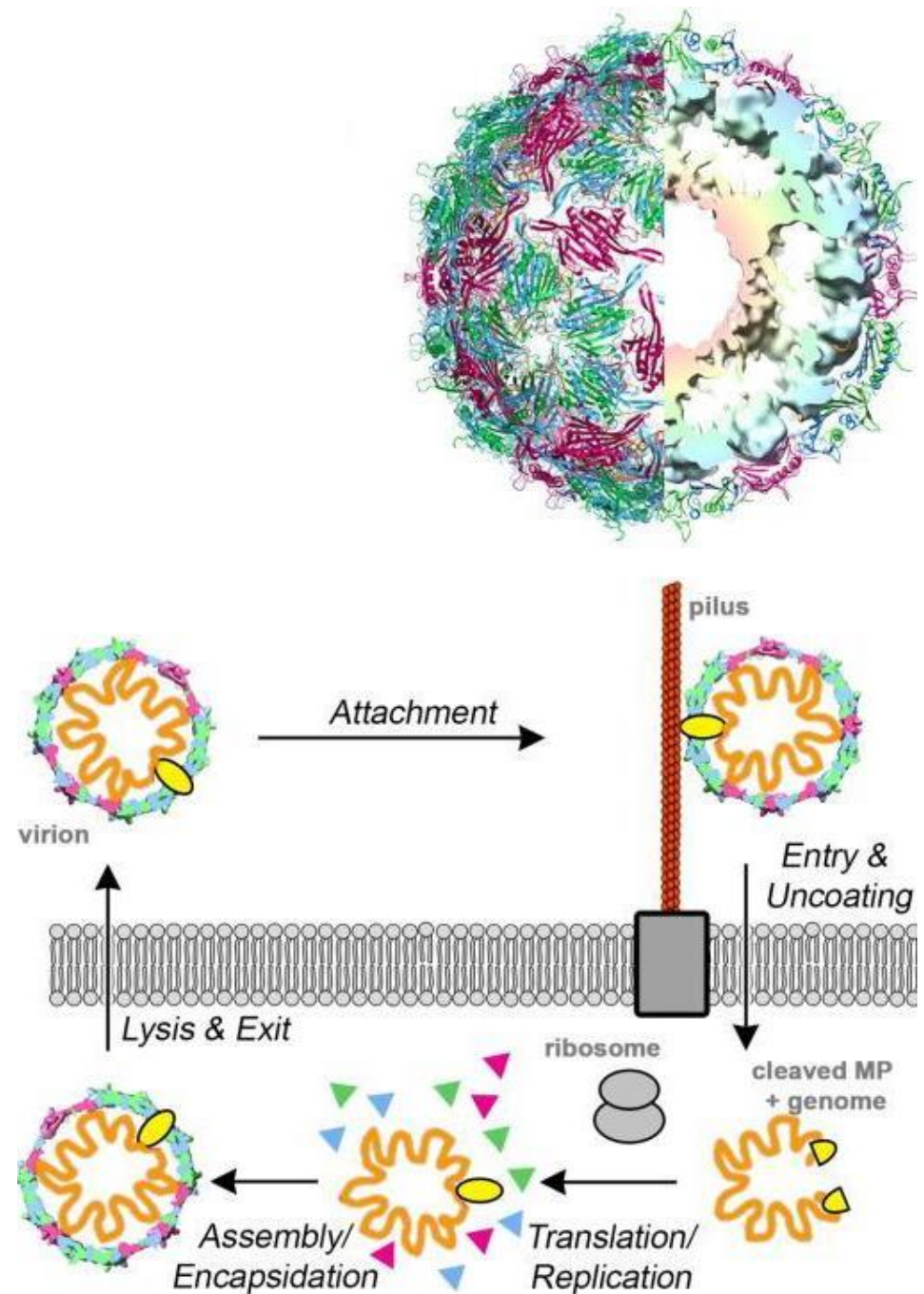
Taken from: Zhicheng Cui et al. PNAS 2017 114 (44) 11697-11702,
<https://doi.org/10.1073/pnas.1707102114>

Жизненный цикл MS2

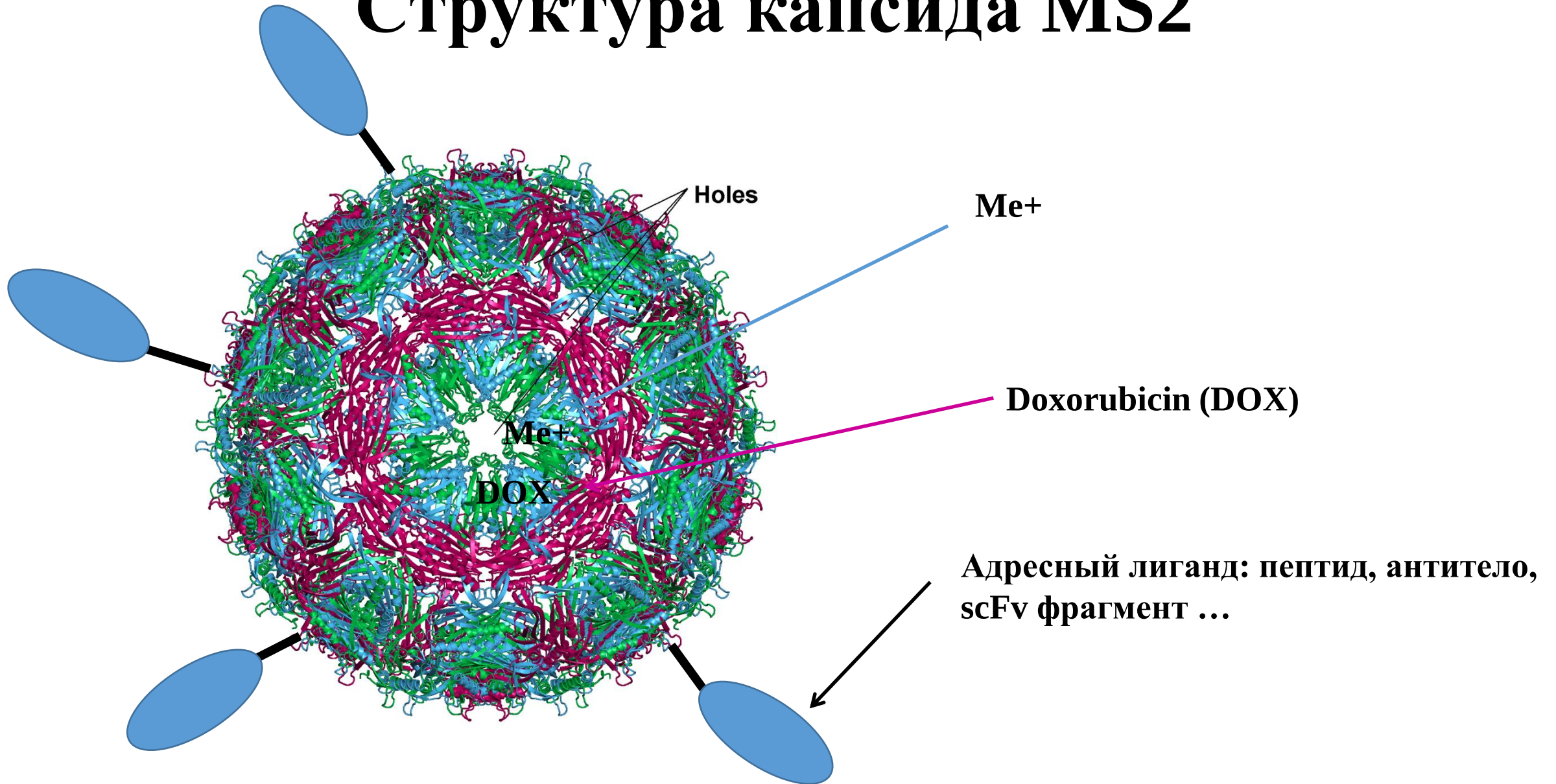
MS2 инфицирует только штаммы *E.coli*, несущие F-пили.

Эти штаммы – не симбионты и не патогены человека .

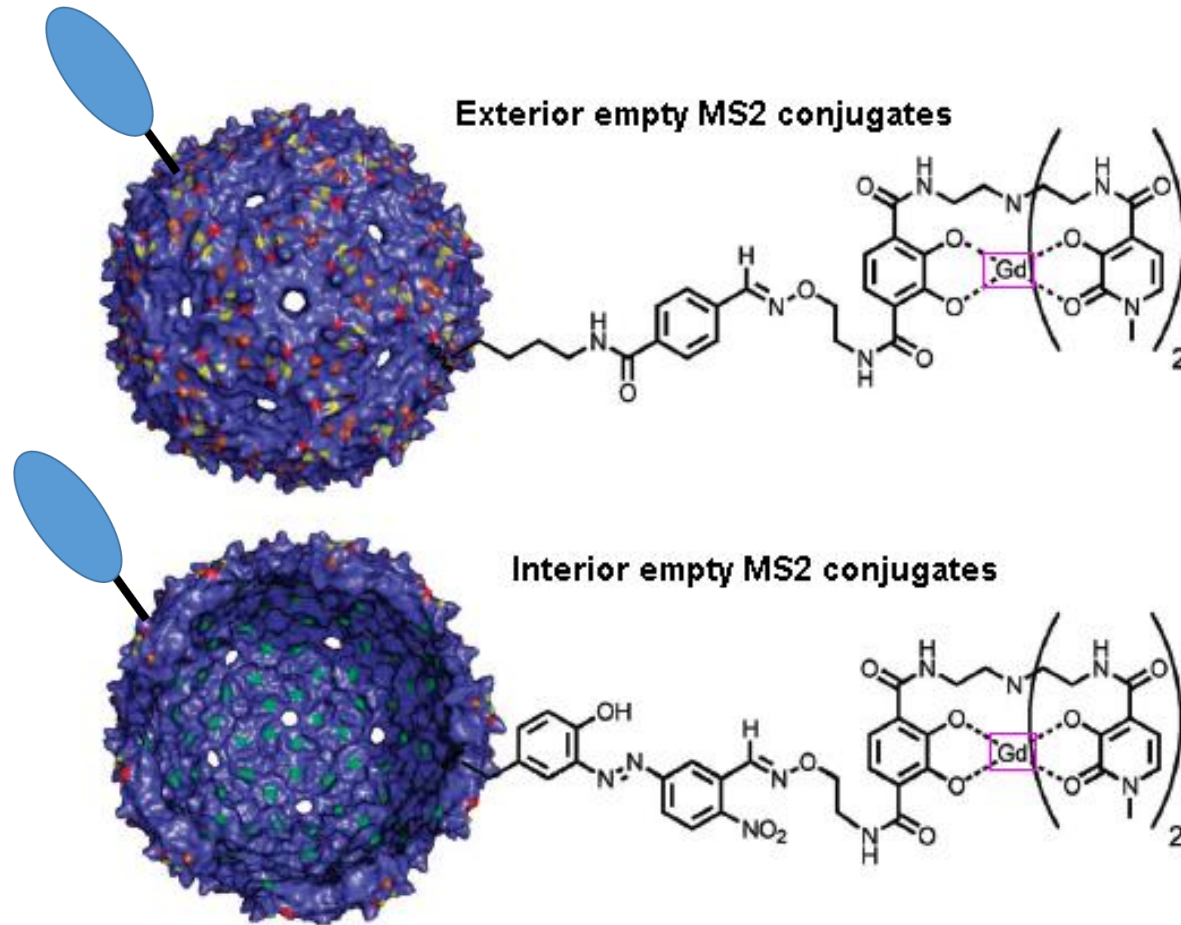
Бактериофаги отличается высокая стабильность в смесях вода-органический растворитель и в широком интервале pH (5-9.5).



Структура капсида MS2



Модификация капсида MS2 для тераностики

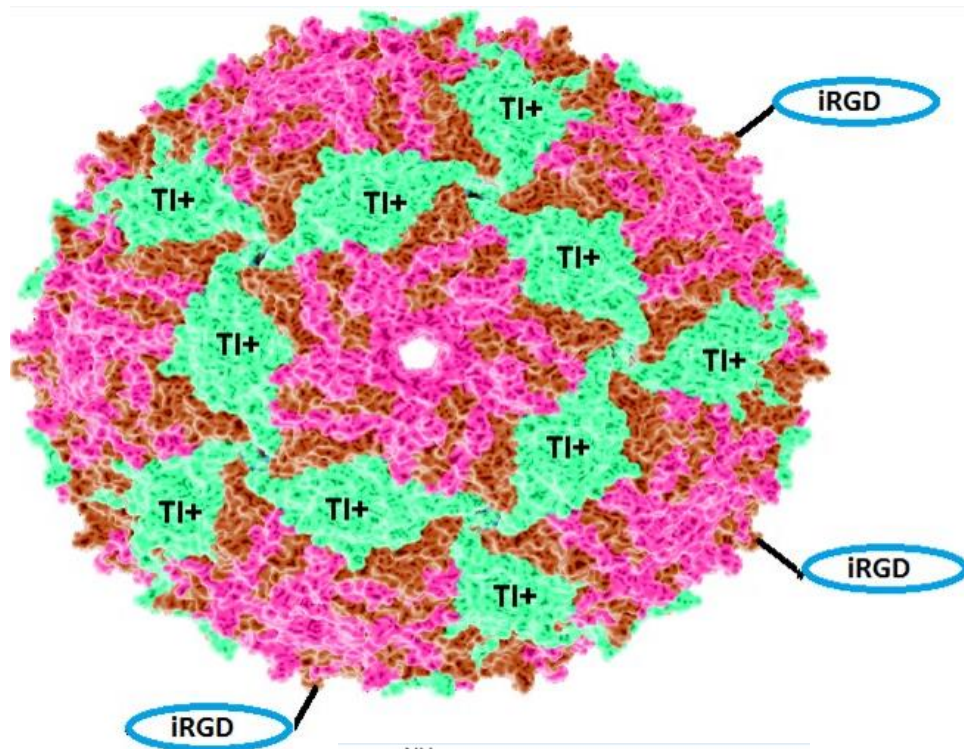


Контрастные или радиоактивные
соединения/ионы для
магниторезонансной/радиодиагностики,
радиотерапии

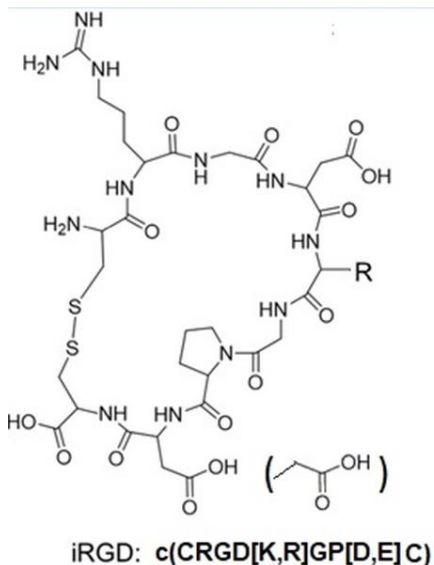
Datta A. et al.
J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 2546-2552

Использование модифицированных вирионов и капсидов MS2 для доставки лекарств и диагностики:

- **Направленная доставка лекарств, конъюгированных с капсидными белками внутри или снаружи капсида;**
- **Направленная доставка в клетки siRNA;**
- **Презентация антигенов (в виде нановакцин) путём их конъюгации снаружи капсида или гетерологической экспрессии в слиянии с капсидным белком;**
- **Доставка контрастных соединений/радионуклидов для визуализации очагов патологии и терапевтического воздействия**



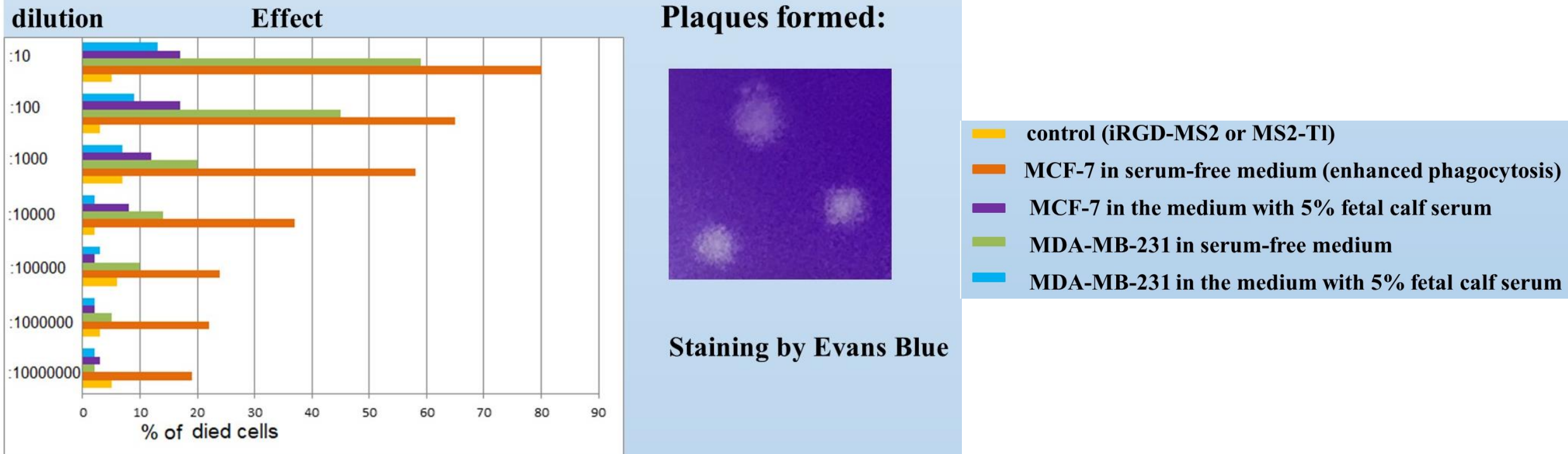
Лиганд	iRGD пептиды, связывающиеся с интегринами $\alpha V\beta 3$ и $\alpha V\beta 5$, экспрессируемыми на клетках неоэндотелия сосудов опухолей и некоторых опухолей, и активирующие внутриклеточный (без попадания в эндосомы) и далее межклеточный перенос путём взаимодействия с нейропилином-1
Частица-переносчик	Бактериофаг MS2 с одноцепочечной РНК. MS2 стабилен при pH 5 - 9.5, в растворах этанола до 40%, смеси вода-хлороформ. MS2 служит непроницаемым контейнером для некоторых ионов металлов, прочно связывающихся с РНК
Цитотоксичный наполнитель	Tl ⁺ , токсичный металл, вызывающий апоптоз клеток. Tl ⁺ легко проходит внутрь капсида MS2 и прочно связывается с РНК, не «вытекая» из вирионов. Tl ⁺ не удаляется из клеток системами обратного транспорта.



iRGD пептиды были синтезированы методом твердофазного синтеза и конъюгированы с вирионами MS2 через ϵ -аминогруппы остатков лизина капсидного белка. iRGD-модифицированный MS2 насыщали Tl⁺.

Воздействие iRGD-MS2-T1 на клеточные культуры MCF7 и MDA-MB-231

Preparation



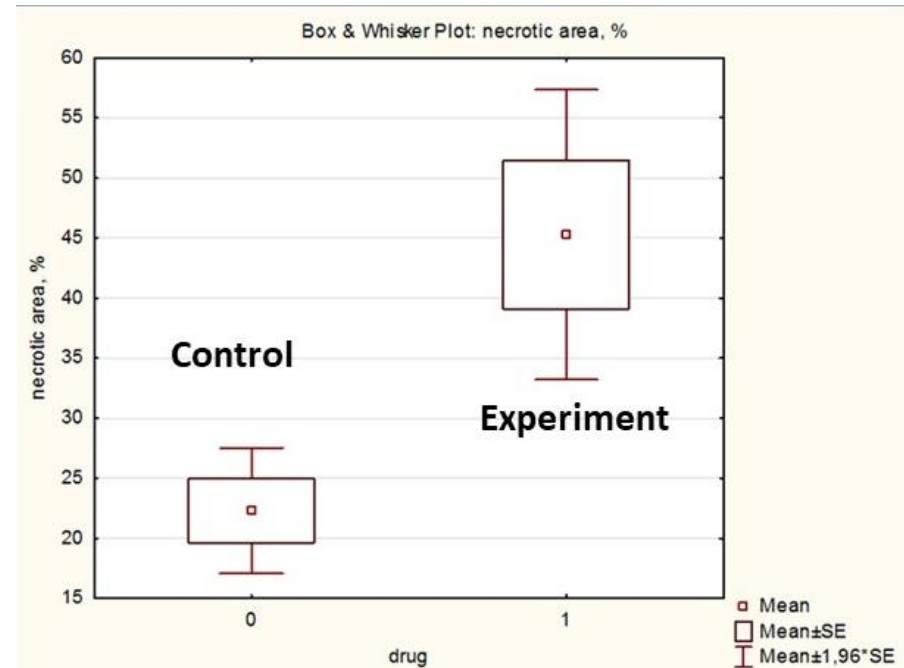
Тестирование действия iRGD-MS2-T1 на ксенографты MCF7 у мышей



Контроль



**После инъекции
iRGD-MS2-T1+**



Содержание T1+ в 1 дозе препарата не превышает его однократной допустимой дозы как контаминанта лекарств, принятой в ЕС.

Не наблюдалось явлений острой токсичности при введении крысам 1 чел. дозы.



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
(51) МПК

[A61K 33/24 \(2006.01\)](#)
[A61K 47/46 \(2006.01\)](#)
[A61P 35/00 \(2006.01\)](#)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 17.10.2016)

(21)(22) Заявка: 2015140255/15, 22.09.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.09.2015

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 22.09.2015

(45) Опубликовано: 10.10.2016 Бюл. № 28

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 2013/0017210 A1, 17.01.2013.
ASHLEY CE., et al., Cell-specific delivery of
diverse cargos by bacteriophage MS2 virus-
like particles.ACS Nano. 2011 Jul
26;5(7):5729-45. doi: 10.1021/nn201397z.
Epub 2011 Jun 7. EDREI Y., et al., Improved
efficacy of a novel anti-angiogenic drug
combination (TL-118) against colorectal-
cancer liver metastases; MRI

monitoring in mice.Br J Cancer. 2012 Aug
7;107(4):658-66. doi: 10.1038/bjc.2012.322.
Epub 2012 Jul 17. CHIA CF., et al., Thallium
acetate induces C6 glioma cell apoptosis.Ann
N Y Acad Sci. 2005 May;1042:523-30.

Адрес для переписки:
125167, Москва, ул. Викторенко, 5, стр. 1,
Виктори Плаза, патентно-лицензионная
фирма "Транстехнология", Курапову Г.П.

(72) Автор(ы):
Сивов Игорь Геннадьевич (RU),
Большакова Татьяна Николаевна (RU),
Колесанова Екатерина Федоровна (RU),
Рыбалкина Екатерина Юрьевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Общество с ограниченной
ответственностью "БИОТЕХНОЛОГИЯ"
(ООО "БИОТЕХНОЛОГИЯ") (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛИСИГНАЛЬНОЙ АКТИВАЦИИ АПОПТОЗА КЛЕТОК
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

(57) Реферат:
Изобретение относится к медицине и касается способа полисигнальной активации
апоптоза клеток ЗСО, которую осуществляют посредством адресной доставки солей
таллия с помощью поверхностно модифицированных вирионов фага MS2,
содержащих циклический лиганд iRGD, имеющий высокую аффинность к
интегринам $\alpha_v\beta_3$ и $\alpha_v\beta_5$ и ковалентно связанный с оболочкой и сердцевиной с
геномной РНК с солями таллия. Изобретение обеспечивает комплексное,
эффективное пролонгированное цитотоксическое воздействие на очаговые и



US010603338B2

(12) United States Patent
Bol'shakova et al.

(10) Patent No.: US 10,603,338 B2
(45) Date of Patent: Mar. 31, 2020

(54) METHOD FOR POLY SIGNAL ACTIVATION
OF APOPTOSIS OF MALIGNANT SOLID
TUMOUR CELLS

(58) Field of Classification Search
None
See application file for complete search history.

(71) Applicant: OBSHESTVO S OGRANICHENNOI
OTVETSTVENNOST'YU
"BIOTEKHOLOGIYA", Moscow
(RU)

(56) References Cited

U.S. PATENT DOCUMENTS

2013/0017210 A1* 1/2013 Peabody C07K 16/005
424/178.1
2013/0251630 A1* 9/2013 Petersen A61K 51/1234
424/1.21

OTHER PUBLICATIONS

Chia et al., "Thallium Acetate Induces C6 Glioma Cell Apoptosis",
2005, Ann. N.Y. Acad. Sci., vol. 1042, pp. 523-530.*
Jin et al., "Targeted Delivery System of Nanobiomaterials in Anti-
cancer Therapy: From Cells to Clinics", 2014, BioMed Research
International, pp. 1-23.*
Zhou et al., "Octa-functional PLGA nanoparticles for targeted and
efficient delivery to tumors", 2012, Biomaterials, vol. 33, pp.
583-591.*
Chia CF, et al., Thallium acetate induces C6 glioma cell apoptosis.
Ann NY Acad Sci. May 2005;1042:523-30.
Rodríguez-Mercado, et al., Evaluation of cytogenetic and DNA
damage caused by thallium(I) acetate in human blood cells. Environ
Toxicol. May 2015;30(5):572-80.
Capehart SL, et al., Controlled integration of gold nanoparticles and
organic fluorophores using synthetically modified MS2 viral capsids.
J Am Chem Soc. Feb. 27, 2013;135(8):30.
Karimi M, et al., Bacteriophages and phage-inspired nanocarriers
for targeted delivery of therapeutic cargos. Adv Drug Deliv Rev.
Nov. 15, 2016;106(Pt A):45-62.
Zhang, et al., Encapsulation of Inorganic Nanomaterials inside
Virus-Based Nanoparticles for Bioimaging. Nanotheranostics. Aug.
18, 2017;1(4):358-368.

* cited by examiner

Primary Examiner — Robert A Wax
Assistant Examiner — Randeep Singh
(74) Attorney, Agent, or Firm — Dmitry S. Kryndushkin

(57) ABSTRACT

A method is provided for the poly signal activation of
apoptosis of malignant solid tumour cells, carried out by
means of the targeted delivery of thallium salts by surface-
modified MS2 phage virions, which contain a cyclic iRGD
ligand that has a high affinity for the integrins $\alpha_v\beta_3$ and $\alpha_v\beta_5$
and is covalently bound with the shell and with the core,
which contains genomic RNA and thallium salts. Complex,
efficient, prolonged cytotoxic action is provided on focal and
metastatic clusters of malignant solid tumour cells, while
minimizing undesirable side effects on the healthy cells of an
organism.

4 Claims, 6 Drawing Sheets

(*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this
patent is extended or adjusted under 35
U.S.C. 154(b) by 12 days.

(21) Appl. No.: 15/757,285

(22) PCT Filed: Oct. 21, 2016

(86) PCT No.: PCT/RU2016/000722

§ 371 (c)(1),
(2) Date: Mar. 2, 2018

(87) PCT Pub. No.: WO2017/052419

PCT Pub. Date: Mar. 30, 2017

(65) Prior Publication Data

US 2018/0250331 A1 Sep. 6, 2018

(30) Foreign Application Priority Data

Sep. 22, 2015 (RU) 2015140255

(51) Int. Cl.
A61K 33/24 (2019.01)
A61K 47/64 (2017.01)
A61K 47/69 (2017.01)
A61K 47/46 (2006.01)

(52) U.S. Cl.
CPC A61K 33/24 (2013.01); A61K 47/46
(2013.01); A61K 47/64 (2017.08); A61K
47/6901 (2017.08)

Клинический случай терапии злокачественной плевральной мезотелиомы iRGD-MS2-T1

Злокачественная плевральная мезотелиома (МРМ):

- Трудно диагностируется;
- Нет специфического лечения;
- Эффективность современных схем химиотерапии 35-40%;
- Среднее время дожития около 12 месяцев при значительном снижении качества жизни



Journal of Clinical Case Reports

Firsov et al., J Clin Case Rep 2019, 9:2
DOI: [10.4172/2165-7920.10001214](https://doi.org/10.4172/2165-7920.10001214)

Case Report

Open Access

Remission in the Patient with Malignant Pleural Mesothelioma: A Case Report

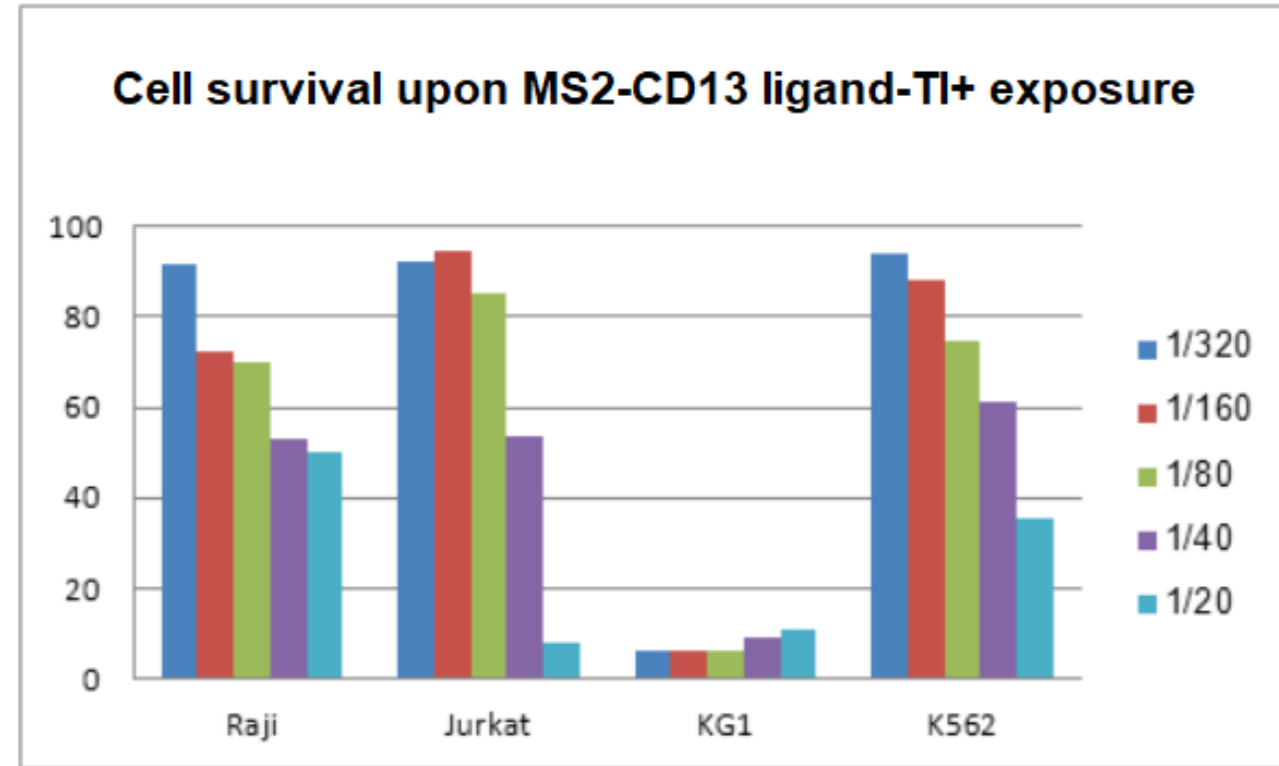
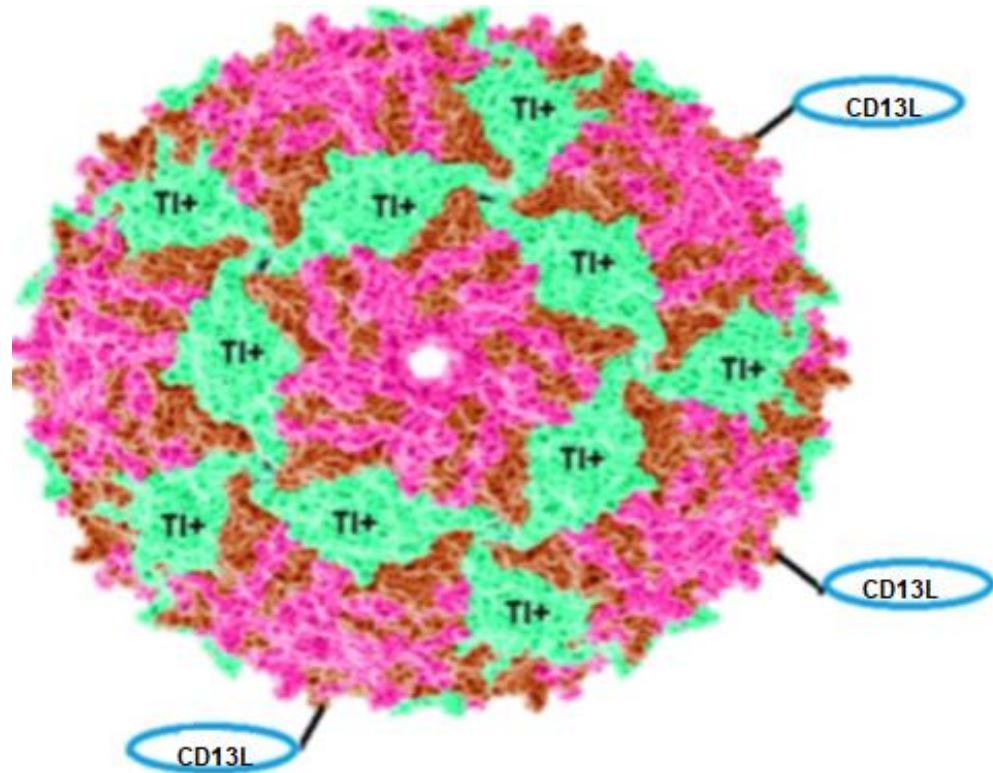
Firsov IS, Sivov IG and Ingenik LLC*

Department of Clinical Research, Ullofa Palme Street 1, Moscow, Russian Federation

Abstract

Here, we report the patient with Stage IV malignant pleural mesothelioma (MPM), who has reached the remission in 5 months of treatment with experimental targeted product (WO/2017/052419). The remission has been confirmed by PET examination performed in German clinic - as the absence of tumor tissue in primary localization and the absence of the distant metastases. Previous patient's treatment was not successful. Previous treatments included 6 courses of combined chemotherapy consisted of cisplatin, pemetrexed, and bevacizumab; visceral and parietal pleurectomy combined with hyper-thermic intrathoracic chemotherapy (HITHOC); 6 courses of combined therapy with monoclonal antibodies nivolumab and ipilimumab. All that treatments did not demonstrate necessary clinical effect. The therapy with monoclonal antibodies caused also severe side effects- polyarthritis. Due to all these reasons and significant worsening of patient's general condition and laboratory parameters, the patient according to his freewill decision started treatment with experimental targeted product (WO/2017/052419) as single anti-tumor agent and in 5 months has reached the remission. General condition improved significantly as well. ECOG score changed from 2-3 points at the therapy start to 0-1 point in 5 months of the treatment. The patient fulfils his routine duties in the office.

Воздействие MS2-TI+ с лигандом CD13 cyclo(KNGRE) на клетки лейкозов



Участники исследований:



Сивов И.Г.



Рыбалкина Е.Ю.



Большакова Т.Н.



Мельникова М.В.

**Благодарности
ИБМХ (Москва, РФ):**

Чистов А.А.

Егорова Е.А.

(адрес сейчас: Университет Сириус, Сочи, РФ)

Вахренёв Р.Г.

Eötvös Lorand University, Budapest, Hungary:

Prof. Gabor Mesö

Kata Nora Enyedi

ООО «Биотехнология» (Москва, РФ)

ООО «Ингеник» (Москва, РФ):

Фирсов И.С.

ПОДДЕРЖКА ИССЛЕДОВАНИЙ:

ООО «БИОТЕХНОЛОГИЯ»

ООО «ИНГЕНИК»

**ПРОГРАММА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУЧНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ НА ДОЛГО-
СРОЧНЫЙ ПЕРИОД (2021 - 2030 гг.), тема № 122030100170-5.**

БАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!