



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.12.01

(51) Int. Cl. *A61K 41/00* (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
201991522

(22) Дата подачи заявки
2017.12.19

(54) НАНОЧАСТИЦЫ С ПОКРЫТИЕМ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МОДУЛИРОВАНИИ
ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ НЕЙРОНОВ

(31) 16306753.1

(32) 2016.12.21

(33) EP

(43) 2019.12.30

(86) PCT/EP2017/083658

(87) WO 2018/115023 2018.06.28

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НАНОБИОТИКС (FR)

(72) Изобретатель:
Поттье Аньес, Леви Лоран, Мер
Мари-Эдит (FR)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) JIAWEY YONG ET AL.: "Gold-Nanorod-Assisted Near-Infrared Stimulation of Primary Auditory Neurons", *ADVANCED HEALTHCARE MATERIALS*, vol. 3, no. 11, 1 November 2014 (2014-11-01), pages 1862-1868, XP055384365, DE, ISSN: 2192-2640, DOI:10.1002/adhm.201400027, abstract, page 1866, column 2, paragraph 3, page 1867, column 1, paragraph 2

CHIARA PAVIOLO ET AL.: "Laser exposure of gold nanorods can induce intracellular calcium transients", *JOURNAL OF BIOPHOTONICS*, vol. 7, no. 10, 25 June 2013 (2013-06-25), pages 761-765, XP055226230, DE, ISSN: 1864-063X, DOI: 10.1002/jbio.201300043, abstract, page 762, column 1, paragraph 2, page 764, column 2, paragraph 2

SHREYAS SHAH ET AL.: "Hybrid upconversion nanomaterials for optogenetic neuronal control", *NANOSCALE*, vol. 7, no. 40, 1 January 2015 (2015-01-01), pages 16571-16577, XP055384394, United Kingdom, ISSN: 2040-3364, DOI: 10.1039/C5NR03411F, abstract, figures 1-4

R. CHEN ET AL.: "Wireless magnetothermal deep brain stimulation", *SCIENCE*, vol. 347, no. 6229, 12 March 2015 (2015-03-12), pages 1477-1480, XP055384403, ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.1261821, abstract, page 1, column 2, page 2, column 1, paragraph 3, page 2, column 2, paragraph 4 - page 3, column 1, paragraph 1

GIANNI CIOFANI ET AL.: "Enhancement of Neurite Outgrowth in Neuronal-Like Cells following Boron Nitride Nanotube-Mediated Stimulation", *ACS NANO*, vol. 4, no. 10, 26 October 2010 (2010-10-26), pages 6267-6277, XP055384406, US, ISSN: 1936-0851, DOI: 10.1021/nn101985a, abstract, figure 1, page 6268, column 1, paragraph 2, page 6272, column 2, paragraph 2 - page 6273, column 1, paragraph 1, page 6275, column 1, paragraph 1 - paragraph 2

RAKESH GUDURU ET AL.: "Magnetoelectric "spin" on stimulating the brain", *NANOMEDICINE*, vol. 10, no. 13, 1 July 2015 (2015-07-01), pages 2051-2061, XP055382324, GB, ISSN: 1743-5889, DOI: 10.2217/nnm.15.52, abstract, page 2052, column 1, paragraph 4 - column 2, paragraph 1, page 2058, column 2, paragraph 3 - page 2059, column 2, paragraph 1

ATTILIO MARINO ET AL.: "Piezoelectric Nanoparticle-Assisted Wireless Neuronal Stimulation", *ACS NANO*, vol. 9, no. 7, 28 July 2015 (2015-07-28), pages 7678-7689, XP055384407, US, ISSN: 1936-0851, DOI: 10.1021/acsnano.5b03162, abstract, page 7685, column 2, paragraph 2, page 7687, column 2, paragraph 2, page 7687, column 1, paragraph 2 - paragraph 3

(57) Изобретение относится к области медицины, в частности к модулированию электрической поляризации нейронов. Более конкретно, изобретение относится к наночастице или агрегату наночастиц для применения для модулирования электрической поляризации нейронов у субъекта, например для применения в профилактике или лечении нейронной болезни у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у субъекта, когда наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где: i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию; ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию; iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника

ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц. Оно также относится к композициям и наборам, содержащим такие наночастицы и/или агрегаты наночастиц, а также к их применению.

039081 B1

039081 B1

Изобретение относится к области медицины, в частности к модулированию электрической поляризации нейронов. Более конкретно, данное изобретение относится к наночастице или агрегату наночастиц для применения для модулирования электрической поляризации нейронов у субъекта, например для применения в профилактике или лечении нейронной болезни у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у субъекта, когда наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где: i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию; ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию; iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц. Оно также относится к композициям и наборам, содержащим такие наночастицы и/или агрегаты наночастиц, а также к их применению.

Уровень техники

Неврологические расстройства являются серьезной проблемой для здоровья (Neurological disorders public health challenges. WHO, 2006). Нарушение функции нейронной сети может иметь различное происхождение. Болезнь Паркинсона является двигательным расстройством, вызванным гибелью дофаминергических нейронов в черной субстанции, расположенной в среднем мозге. Инсульт соответствует блокированию кровоснабжения мозга. Без кислорода нейроны в пораженной области погибают, и часть тела, контролируемая этими клетками, не может функционировать. Болезнь Хантингтона является генетическим заболеванием. Эпилепсия является расстройством, вызванным аномальным возбуждением больших групп нейронов в различных областях мозга. Болезнь Альцгеймера представляет собой нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью нейронов в гиппокампе, коре головного мозга и других областях мозга. Причины расстройств аутистического спектра являются многофакторными: генетическими, экологическими и т.д.

Неврологические расстройства могут быть классифицированы в зависимости от первичных симптомов, которые влияют на пациентов. Наблюдаются три основных типа симптомов: двигательные расстройства, психические (аффективные/социальные) расстройства и когнитивные расстройства, как более подробно описано ниже.

Двигательные расстройства включают тремор, гипокинезию, такую как брадикинезия или дискинезия, скручивание мышц, ригидность, постуральную неустойчивость, заторможенную ходьбу и т.д. Заболевания, представляющие двигательные расстройства, включают, как правило, болезнь Паркинсона, дистонию, эпилепсию, болезнь Хантингтона и синдром Туретта.

Психиатрические расстройства представляют собой различные заболевания с симптомами аффективных/социальных нарушений. Их не исчерпывающий список включает расстройства аутистического спектра, расстройства шизофрении, биполярные расстройства, депрессивные расстройства, тревожные расстройства, обсессивно-компульсивные расстройства, расстройства, связанные с веществами и/или привыканием (определение из Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 2013, fifth edition, the American Psychiatric Association). У некоторых пациентов, страдающих двигательными расстройствами, такими как болезнь Паркинсона и дистония, могут развиваться психические расстройства на поздней стадии заболеваний.

Когнитивные расстройства присутствуют во многих, если не во всех психических расстройствах (например, при шизофрении, биполярных расстройствах). Только расстройства, основные черты которых являются когнитивными, включены в категорию когнитивных расстройств. Когнитивные расстройства влияют на повседневную жизнь пациентов: становится сложно решать простые задачи. Деменция является типовым когнитивным расстройством, и это общий термин для снижения умственных способностей, достаточно серьезного, чтобы мешать повседневной жизни. Болезнь Альцгеймера представляет собой особый тип деменции с нейродегенеративным аспектом.

Неврологические расстройства, если возможно, лечат лекарственными средствами, которые играют на регуляцию уровня нейротрансмиттеров в мозге и на контроль взаимодействий с их специфическими нейротрансмиттерными рецепторами. Основными задействованными нейротрансмиттерами являются: глутамат, γ -аминомасляная кислота (ГАМК), дофамин и ацетилхолин. Глутамат- и ГАМК-нейротрансмиттеры представляют особый интерес, потому что они играют основную роль в повышении (Platt et al., The Veterinary Journal, 2007, 113, 278-286: The role of glutamate in central nervous system health and disease - a review) и в снижении нейронной возбудимости, соответственно (Holmes et al., Mental Retardation and Developmental Disabilities, 1995, 1, 208-219: Role of glutamate and GABA in the pathophysiology of epilepsy). Дофамин участвует в нескольких функциях мозга: контроль движения через базальные ганглии (неправильный уровень дофамина в базальных ганглиях приводит к неконтролируемым движениям),

поведение, направленное на получение удовольствия за вознаграждение (нарушение может привести к дисфункциональной зависимости), познание (расстройства дофамина в лобных долях могут привести к снижению нейрокогнитивных функций) и т.д. (Alcaro et al., *Brain Res. Rev.*, 2007, 56(2), 283-321: Behavioral functions of the mesolimbic dopaminergic system: an affective neuroethological perspective). Ацетилхолин является нейротрансмиттером, участвующим в обучении и памяти на уровне центральной нервной системы (Hasselmo et al., *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2006, 16(6), 710-715: The role of acetylcholine in learning and memory).

Обычным лекарством для облегчения двигательных симптомов болезни Паркинсона является леводопа, которое превращается в дофамин в мозге, и тем самым помогает сбалансировать дефицит дофамина. Леводопа связан с карбидопа, которое помогает избежать превращения леводопы в дофамин во всем организме. Одной из проблем лечения леводопы является феномен "включения-выключения", который приводит к фазам неподвижности и неспособности, связанным с депрессией, чередующейся с периодами ликования (Lees et al., *J. Neurology Neurosurgery Psychiatry, Special Supplement*, 1989, 29-37: The on-off phenomenon). Также проблемой является отсутствие реакции на такое лечение у пациентов на поздней стадии болезни Паркинсона (Fabbri et al., *Parkinsonism and related disorders*, 2016: Do patients with late-stage Parkinson's disease still respond to levodopa?). Другими распространенными лекарствами для лечения симптомов психоневрологических расстройств, таких как "положительные" симптомы, бред и галлюцинации при шизофрении, являются антипсихотические лекарственные средства.

Однако терапевтическое лечение симптомов неврологических расстройств этими лекарственными средствами неспецифично и как таковое может вызывать серьезные побочные эффекты. Кроме того, может появиться рефрактерность к используемому лекарственному средству.

С развитием понимания нейробиологии мозг можно представить как электрическую сеть, кодирующую и передающую информацию по своим электрическим проводам - нейронам. Связь между нейронами проста и сложна одновременно: проста, потому что она основана на притоке/оттоке ионов внутри нейронов, которые приводят к потенциалам действия (или "всплескам" электрической активности); сложна, потому что сеть мозга состоит из сотен миллиардов нейронов, которые образуют узлы, центры и модули, которые демонстрируют скоординированные взаимодействия в различных пространственных и временных масштабах (Fornito et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2015, 16, 159-172: The connectomics of brain disorders). Нейронная связь зависит от анатомических компонентов, которые соединяют отдельные нейроны (структуры) и от процесса передачи информации (функции). Оба аспекта влияют на общую деятельность нервной системы. Нейронные взаимодействия передаются колебаниями паттерна электрической активности мозга, где колебания обычно измеряются с помощью электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Наблюдаются разные полосы частот колебаний: δ , θ , α , β , γ (Ward et al., *Trends in Cognitive Sciences*, 2003, 7(12), 553-559: Synchronous neural oscillations and cognitive processes). Структурно, наиболее яркой нейроанатомической особенностью мозга является обильная связь между нейронами, что отражает важность нейронной коммуникации. Представляется, что синхронизация колебаний ("синхронность") между одной областью мозга и другой составляет последний уровень информационного кодирования [первый уровень (нейрон): потенциалы действий; второй уровень (нейронная сеть(и)): нейронные колебания] привнося пространственно-временную координацию (Engel et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2001, 2, 704-716: Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing). Важно отметить, что появляются доказательства того, что тонко сбалансированная схема синхронизации и десинхронизации в пространстве и времени является фундаментальной для функциональной деятельности нервной системы (Schnitzler et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2005, 6, 285-296: Normal and pathological oscillatory communication in the brain).

Модуляция схемы электрической активности нейронов (нейромодуляция) может быть вызвана с помощью электростимуляции. Существующие методики получения электрического стимула в мозге используют либо прямую электростимуляцию, такую как транскраниальная электростимуляция (ТЭС) или глубокую стимуляцию головного мозга (ГГСМ), либо индукцию электрического поля путем применения электрического тока через магнитную катушку, такую как транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС).

Недавно были тестированы неинвазивные методы нейронной стимуляции, такие как использование света, магнитного поля или ультразвука для прямой стимуляции нейронов.

Чтобы улучшить пространственное разрешение нейронной стимуляции на клеточном уровне, были исследованы наноматериалы с уникальными свойствами в качестве медиатора для преобразования беспроводного первичного стимула в локализованный вторичный стимул, прежде всего электрическое поле или тепло, на границе раздела наноматериал-нейрон (Wang Y. & Guo L. *Frontiers in Neuroscience*. 2016; vol. 10, Article 69, Nanomaterial-enabled neural stimulation). Таким образом, была показана оптоэлектрическая трансдукция с использованием квантовых точек (полупроводниковых наночастиц), а также опто-термическая трансдукция с использованием золотых наноматериалов, магнитоэлектрическая трансдукция с использованием магнитоэлектрических наночастиц, магнитотермическая трансдукция с использованием суперпарамагнитных наночастиц и акустоэлектрическая трансдукция с использованием пьезоэлектрических наноматериалов. Также была показана оптооптическая трансдукция с применением леги-

рованных лантанидом наноматериалов (Colombo E. et al., *Frontiers in Neuroscience*. 2016; vol. 10, Article 105, Nanoparticles: a challenging vehicle for neural stimulation).

Разнообразные классы наноматериалов, исследованных на нейронную стимуляцию, все еще находятся на ранней стадии развития, и необходимо будет решить некоторые проблемы для их безопасного использования *in vivo*. В частности, их биосовместимость является ключевым аспектом для рассмотрения.

На нейронном уровне было описано, что наночастицы усиливают или ингибируют электрическую возбудимость нейронов. Например, было обнаружено, что оксид цинка, углеродные нанотрубки и наночастицы золота повышают электрическую возбудимость нейронов, в то время как оксид меди, серебро, сажа, оксид железа и оксид титана ингибируют электрическую возбудимость нейронов (Polak P. & Shefi O. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 11 (2015) 1467-1479, Nanometric agents in the service of neuroscience: Manipulation of neuronal growth and activity using nanoparticles).

Исследования системного влияния наночастиц серебра (cAgNP) с покрытием на нейронные системы - с применением амфифильного полимера полиэтиленгликоля - [cAgNP с гидродинамическим диаметром 13 ± 2 нм (методика динамического светорассеяния) и ζ -потенциал -69 мВ (Zetasizer Nano) в чистой воде] показали, что наночастицы вызывают изменения в механизме влияния на возбудимость (Busse M. et al., *International Journal of Nanomedicine* 2013:8 3559-3572, Estimating the modulatory effects of nanoparticles on neuronal circuits using computational upscaling).

Было описано, что повышенная возбудимость нейронов, связанная с внутриклеточными наночастицами золота, потенциально может оказывать вредное воздействие на нейроны при патологических состояниях, таких как судороги [Jung S., et al., *PLOS ONE* 2014, 9(3) e91360, Intracellular gold nanoparticles increase neuronal excitability and aggravate seizure activity in the mouse brain).

Данное изобретение относится к наночастицам и/или агрегатам наночастиц (агрегированным наночастицам), которые либо нейтрально заряжены при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыты гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц, для применения при/в модулировании электрической поляризации нейронов, где наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света/стимула, магнитного поля или источника ультразвука/стимула.

Наночастица или агрегат наночастиц, который либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо который покрыт биосовместимым агентом, обычно гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц, особенно предпочтительны для оптимизации применения наночастицы или агрегата наночастиц для модулирования поляризации нейронов, когда они подвергаются воздействию источника света/стимула, магнитного поля или источника ультразвука/стимула.

Краткое описание

В данном документе преимущественно впервые описана наночастица или агрегат наночастиц для применения при модулировании электрической поляризации нейронов у субъекта, где наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где: i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию; ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию; iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, причем нейтральный заряд составляет от около -10 до около +10 мВ.

Также описана наночастица или агрегат наночастиц для применения в профилактике или лечении нейронной болезни или по крайней мере одного ее симптома у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у субъекта, где наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля, или источника ультразвука, где: i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию; ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию; iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где поверхность наночастицы или агрегата наночастиц либо нейтрально заряжена при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыта гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, причем нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около

+10 мВ.

Также описано применение наночастицы или агрегата наночастиц, описанных здесь, для приготовления композиции для профилактики или лечения неврологической болезни из описанных здесь, или по крайней мере одного ее симптома, у субъекта, нуждающегося в таковом.

Также описана композиция для применения для модулирования электрической поляризации нейронов у субъекта, когда наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где композиция содержит, или состоит из наночастиц и/или агрегатов наночастиц и фармацевтически приемлемой подложки, где i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию, ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию, iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, причем нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около +10 мВ.

Также описана композиция для применения в профилактике или лечении нейронной болезни или по крайней мере одного ее симптома у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у субъекта, если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где композиция содержит или состоит из наночастиц и/или агрегатов наночастиц и фармацевтически приемлемой подложки, где: i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию; ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию; iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, причем нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около +10 мВ.

Также описан набор, содержащий по крайней мере две разных наночастицы и/или агрегата наночастиц, где каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит обычно из отдельного материала, выбранного из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию, оптооптическую трансдукцию, магнитоэлектрическую трансдукцию, магнитотермическую трансдукцию или электроакустическую трансдукцию, и где наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, причем нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около +10 мВ.

Также описано применение набора, обычно в способе модулирования электрической поляризации нейронов у субъекта, где субъекта подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука. В конкретном аспекте, набор предназначен для применения в профилактике или лечении/в способе профилактики или лечения нейронной болезни или по крайней мере одного ее симптома, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у лечимого субъекта, где способ включает стадию обработки субъекта, которому ввели наночастицу или агрегат наночастиц, источником света, магнитным полем или источником ультразвука, как описано здесь.

Также описан набор, описанный здесь, для применения в профилактике или лечении нейронной болезни или по крайней мере одного ее симптома у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у лечимого субъекта, когда субъекта подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука.

Подробное описание

По оценкам, нервная система человека состоит из примерно 80-120 млрд нервных клеток (Herculano-Houzel S. *Frontier in Human Neuroscience* (2009), 3(31): 1-11: The human brain in numbers: a linearly scaled-up primate brain). Определяющей характеристикой нейрона (или нервной клетки) является способность передавать электрические сигналы в форме потенциалов действия.

Нейрон/нервная клетка составляет элементарный узел мозга. Нервные клетки могут взаимодействовать друг с другом в высокоструктурированной манере, образующей нейронные сети. Нейрон взаимодействует через синаптические связи. Внутри нейрона наноцепи составляют основной биохимический механизм для медиирования ключевых нейронных свойств, таких как обучение и память, и генез нейронной ритмичности.

Микроцепь может быть образована всего лишь несколькими нейронами и может выполнять сложные задачи, такие как медиировать рефлекс, обрабатывать сенсорную информацию, инициировать движение и медиировать обучение и память. Макроцепь является более сложной сетью, которая состоит из множества встроенных микроцепей. Макроцепи медируют высшие функции мозга, такие как распознавание объекта и познание. Итак, несколько уровней сетей занимают нервную систему.

Возбудимость нейронной сети.

Нейроны посылают сообщения электрохимически (т.е. химические вещества/ионы вызывают электрический сигнал). Важными ионами в нервной системе являются натрий и калий, кальций и хлорид. Когда нейрон не посылает сигнал, он находится "в состоянии покоя". Если нейрон находится в состоянии покоя, внутренняя часть нейрона является отрицательной относительно внешней части. Хотя концентрации различных ионов пытаются балансировать на обеих сторонах мембраны, они не могут, потому что клеточная мембрана пропускает только некоторые ионы через каналы (ионные каналы). В дополнение к этим селективным ионным каналам существует помпа, которая использует энергию для перемещения трех ионов натрия из нейрона на каждые два иона калия, которые она вводит. Наконец, когда все эти силы сбалансированы и разница в напряжении между внутренней и внешней частью нейрона измерена, мембранный потенциал покоя (также "потенциал покоя") нейрона составляет около -70 мВ. Это означает, что внутренняя часть нейрона на 70 мВ меньше, чем внешняя часть. В состоянии покоя снаружи нейрона находится относительно больше ионов натрия, а внутри этого нейрона больше ионов калия. Потенциал действия (также идентифицированный как "всплеск" или "импульс") возникает, когда нейрон посылает информацию вниз к нейриту, от тела клетки. Это означает, что некоторое событие (стимул) заставляет потенциал покоя двигаться в направлении 0 мВ. Когда деполяризация достигает около -55 мВ, нейрон запускает потенциал действия. Если деполяризация не достигает этого критического порогового уровня, потенциал действия не запускается (механизм включения/выключения). Также, если пороговый уровень достигается, всегда возникает потенциал действия фиксированной амплитуды. Поэтому либо деполяризация не достигает порога, либо создается полный потенциал действия.

Межнейрональная связь внутри и между нейронными сетями.

Существует три типа сетей межнейрональных связей, которые используются для изучения связи внутри и в пределах головного мозга. Структурные межнейрональные связи основаны на определении трактографии, которая физически соединяет области головного мозга. Это анатомические сетевые карты, которые указывают возможные пути, по которым могут передвигаться сигналы в головном мозге. Функциональные межнейрональные связи идентифицируют активность в областях головного мозга, которая имеет схожую частоту, фазу и/или амплитуду коррелированной активности. Эффективные межнейрональные связи применяют информацию функциональных межнейрональных связей, и это еще один шаг вперед в определении прямого или косвенного влияния, которое одна нейронная система может оказывать на другую, в частности направление динамического потока информации в мозге (Bowyer et al., *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 2016, 2(1), 1-12: Coherence a measure of the brain networks: past and present.).

Синхронизированная активность в нейронной сети может быть определена магнитоэнцефалограммой (МЭГ), электроэнцефалограммой (ЭЭГ), функциональной магнитно-резонансной томографией (ФМРТ) или позитронно-эмиссионной томографией (ПЭТ), затем изображением с анализом сети межнейрональных связей. МЭГ (магнитоэнцефалограмма) или ЭЭГ (электроэнцефалограмма) предпочтительны, так как они имеют высокое временное разрешение для разрешения динамического потока информации. Анализ межнейрональных связей мозга проводят, чтобы наметить коммуникационные сети, необходимые для работы мозга. Отдельные области мозга специализируются на обработке определенных видов информации. Методы визуализации показали, что эти области связаны и взаимодействуют с другими специализированными областями в пределах сетей в мозге. Определение синхронной активации нейронов может быть использовано для определения благополучия или целостности функциональных межнейрональных связей в мозге человека. Наложение карт функциональных межнейрональных связей на изображения структурных межнейрональных связей и использование направления потока информации, полученного из эффективных межнейрональных связей, обеспечивает всеобъемлющее понимание того, как функционирует мозг. Эти методики позволяют оценивать терапевтические способы лечения на основе получения изображений межнейрональных связей до и после лечения.

В данном документе преимущественно описана впервые наночастица или агрегат наночастиц для применения для модулирования электрической поляризации нейронов у субъекта, если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастиц или агрегата наночастиц, где нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около +10 мВ, и где i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, опто-термическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию, ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выби-

рают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию, iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию.

Термин "модулирование электрической поляризации нейронов" относится либо к деполяризации нейронов клеточной мембраны, которая активирует, вызывает, возбуждает или запускает потенциал действия в нейронах, либо к гиперполяризации нейронов клеточной мембраны, которые ингибирует любой потенциал действия в нейронах. Термин "модулирование электрической поляризации нейронов" таким образом означает либо "стимулирование деполяризации нейронов клеточной мембраны", либо "стимулирование гиперполяризации нейронов клеточной мембраны".

Также описана наночастица или агрегат наночастиц для применения в профилактике или лечении нейронной болезни или расстройства или по крайней мере одного ее симптома у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у субъекта, если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где: i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию; ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию; iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где поверхность наночастицы или агрегата наночастиц либо нейтрально заряжена при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыта гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастице или агрегату наночастиц, где нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около +10 мВ.

Термин "лечение" относится к терапевтическому лечению или мерам, способным предотвратить, облегчить или вылечить заболевание, расстройство или дисфункциональное состояние, как описано здесь. Такое лечение предназначено для млекопитающего субъекта, предпочтительно человека, нуждающегося в таковом. Считается, что таковыми являются субъекты, уже идентифицированные (диагностированные) как страдающие от заболевания, расстройства или дисфункционального состояния, как описано здесь, или лица, которые считаются "подверженными риску развития" такого заболевания, расстройства или дисфункционального состояния, для которых лечение является превентивным или профилактическим лечением.

В контексте нейронного расстройства наночастицы или агрегаты наночастиц в соответствии с данным изобретением могут обычно нормализовать аномальную поляризацию нейронов по сравнению со здоровой ситуацией, например могут нормализовать пониженную поляризацию нейрона, улучшить поляризацию нейрона, гиперполяризацию нейрона или потерю поляризации нейрона (т.е. помочь субъекту вернуться к здоровому состоянию).

В конкретном аспекте неврологическое заболевание или расстройство, являющееся целью в контексте данного изобретения, выбирают из болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, эпилепсии, обсессивно-компульсивного расстройства, расстройства аутистического спектра, депрессивного расстройства, дистонии, синдрома Туретта, шизофрении, инсульта, афазии, деменции, шума в ушах, болезни Хантингтона, эссенциального тремора, биполярного расстройства, тревожного расстройства, зависимости, вегетативного состояния сознания, например, при болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, эпилепсии, обсессивно-компульсивном расстройстве, расстройстве аутистического спектра, депрессивном расстройстве, дистонии, синдроме Туретта, шизофрении, инсульте, афазии, деменции, шуме в ушах, болезни Хантингтона, эссенциальном треморе, биполярном расстройстве, наркомании, вегетативном состоянии сознания и по крайней мере одного их симптома.

Как уже объяснено выше, неврологические заболевания или расстройства могут быть классифицированы в зависимости от первичных симптомов, которые поражают пациентов, которые являются двигательными расстройствами, психическими (аффективными/социальными) расстройствами и когнитивными расстройствами, как более подробно описано ниже.

Пример двигательных расстройств.

Болезнь Паркинсона.

Болезнь Паркинсона (БП) поражает от 7 до 10 миллионов человек во всем мире и характеризуется тремором, дискинезией, брадикинезией, заторможенной походкой и т.д. БП является медленно прогрессирующим дегенеративным заболеванием головного мозга. Она поражает нервные клетки в областях мозга, называемых базальными ганглиями и черной субстанцией. Нервные клетки черной субстанции вырабатывают дофамин, нейротрансмиттер, который действует как химический мессенджер в мозговых цепях, важных для планирования и управления движением тела. При БП у некоторых людей преждевременно отмирают дофаминовые нервные клетки черной субстанции (Corti et al., *Physiol. Rev.*, 2011, 91, 1161-1218: What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson's disease). Когда дофамино-

вые рецепторы в полосатом теле не стимулируются должным образом, части базальных ганглиев испытывают либо недостаточную, либо чрезмерную стимуляцию. В частности, субталамическое ядро (СТЯ) становится сверхактивным и действует как ускоритель на внутреннем бледном шаре (GPi). Чрезмерная стимуляция GPi оказывает чрезмерное ингибирующее действие на таламус, что, в свою очередь, снижает его производительность и вызывает замедление движения и ригидность (Guo et al., *Frontiers in Computational Neuroscience*, 2013, 7, 124, 1-11: Basal ganglia modulation of thalamocortical relay in Parkinson's disease and dystonia).

Недостаток дофамина при БП связан с чрезмерной колебательной синхронизацией в β частоте во всей двигательной сети корково-базальных ганглиев. Действительно, уровни дофамина в базальных ганглиях, по прогнозам, подавляют β -синхронность, что, в свою очередь, медирует дофаминергическое вовлечение, необходимое для ожидания движения (Jenkinson et al., *Trends in Neuroscience*, 2011, 34(12), 611-618: New insights into the relationship between dopamine, β oscillations and motor function). Если уровень дофамина в базальных ганглиях недостаточно высок, то отсутствует контроль синхронности β колебаний, и может появиться медлительность движений. Другое наблюдение у пациентов с паркинсонизмом приводит к заключению, что кортикальные колебания в β -диапазоне руководят и управляют колебаниями в базальных ганглиях (Lalo et al., *The Journal of Neuroscience*, 2008, 28(12), 3008-3016: Patterns of bidirectional communication between cortex and basal ganglia during movement in patients with Parkinson disease).

Глубокая стимуляция головного мозга (ГСГМ) может применяться для лечения симптомов тремора и ригидности (Eusebio et al., *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2011, 82, 569-573: Deep brain stimulation can suppress pathological synchronization in parkinsonian patients). Лечение симптомов БП с помощью ГСГМ одобрено FDA в 2002 (эссенциального тремора с 1997). Электростимуляцию обычно проводят в базальных ганглиях, в СТЯ и в GPi. Как уже упоминалось выше, β колебания коры также участвуют в патофизиологии заболевания, поэтому транскраниальная стимуляция (такая как транскраниальная магнитная стимуляция - ТМС) коры также может применяться для лечения симптомов болезни Паркинсона (Cantello et al., *Brain Research Reviews*, 2002, 38, 309-321: Transcranial magnetic stimulation and Parkinson's disease).

Дистония.

Дистония является неврологическим расстройством, характеризующимся аномальными произвольными скручивающими и поворачивающими движениями, которые отражают нарушение функции двигательной системы. Существует несколько форм дистонии в зависимости от части тела на которую влияют симптомы, от их генетического происхождения, от типа вовлеченного нейротрансмиттера и т.д. Дистоническая центральная нервная система (ЦНС) проявляет недостаточное торможение, которое провоцирует потерю реципрокного ингибирования позвоночника между противоположными мышцами. В случае верхней дистонии, например аномальная синхронизация нейронов/нервов, дающих входной сигнал мышцам-антагонистам предплечья, приводит к совместному сокращению этих мышц-антагонистов (дистонический симптом) (Farmer et al., *Brain*, 1998, 121, 801-814: Abnormal motor unit synchronization of antagonist muscles underlies pathological co-contraction in upper limb dystonia).

Целевой точкой ГСГМ, проявляющей интересный антидистонический эффект, является внутренний бледный шар (GPi-ГСГМ). GPi-ГСГМ была одобрена FDA в 2003 году для пациентов с хронической, трудно поддающейся лечению дистонией (Hu et al., *Translational Neurodegeneration*, 2014, 3(2), 1-5: Deep brain stimulation for dystonia). Стимуляция вентролатерального (ВЛ) ядра таламуса (ВЛ-ГСГМ) дает значительно менее выраженные эффекты. Стимуляция с использованием субталамического ядра (СТЯ-ГСГМ) была экспериментальной. GPi-ГСГМ обеспечивает облегчение основных симптомов дистонии, но для полного развития терапевтического эффекта могут потребоваться недели или месяцы (Dressier et al., *J. Neural. Transm.*, 2015, DOI 10.1007/s00702-015-1453-x: Strategies for treatment of dystonia).

Эпилепсия.

Эпилепсия является заболеванием головного мозга, которым страдают около 50 миллионов человек во всем мире и которое характеризуется преимущественно периодическими и непредсказуемыми нарушениями нормальной работы мозга, называемыми эпилептическими припадками. Эпилепсия представляет собой не единичное заболевание, а целый ряд расстройств, отражающих лежащую в основе дисфункцию головного мозга, которая может быть вызвана многими различными причинами (генетическая мутация, опухоли головного мозга, травма головы, инсульты, алкоголизм, воспаление головного мозга, инфекции, такие как менингит, ВИЧ или вирусный энцефалит и т.д.) (Fisher et al., *Neurology*, 2015, 28(2), 130-135: Redefining epilepsy).

Эпилептический припадок определяется как временное возникновение признаков и/или симптомов из-за чрезмерной синхронной активности нейронов в мозге (Fisher et al., *Epilepsia*, 2005, 46(4), 470-472: Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)). Кора головного мозга является первичным элементом в генерации эпилептических припадков: у многих людей диагностируют судороги фокальной лобной доли или срединной височной доли (National Institute of Neurological Disorders and

Stroke: http://www.ninds.nih.gov/disorders/epilepsy/detail_epilepsy.htm#3109_7). Идентификация областей повышенной локальной синхронизации, или "гиперсинхронности", в коре предполагает, что локальная гиперсинхрония может быть маркером областей, вызывающих судороги (Schevon et al., *Neuroimage*, 2001, 35(1), 140-148: Cortical abnormalities in epilepsy revealed by local EEG synchrony).

Нейростимуляция для лечения эпилепсии может принимать форму стимуляции периферических нервов, такую как стимуляция блуждающего нерва (СБН); стимуляция спинного мозга; транскраниальная стимуляция мозга (ТЭС или ТМС); или глубокая стимуляция головного мозга (ГСГМ). Восприимчивая нейростимуляция является еще одной стратегией, при которой стимуляция осуществляется только при обнаружении приступа. СБН и восприимчивая нейростимуляция были одобрены FDA для лечения определенных типов эпилепсии в США. ГСГМ переднего ядра таламуса (ПЯТ) была одобрена в странах Европейского Союза (Fisher et al., *Nature Reviews Neurology*, 2014, 10, 261-270: Electrical brain stimulation for epilepsy).

Примеры психических расстройств (аффективных/социальных ухудшений).

Обсессивно-компульсивные расстройства (ОКР).

Обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) является общим психическим расстройством, которое часто является хроническим, тяжелым и крайне истощающим. Оно также обычно является неподдающимся лечению, где значительная часть пациентов не реагирует или получает только частичное облегчение.

Исследования функциональной нейровизуализации продемонстрировали дисфункцию орбитофронтальной коры, базальных ганглий и полосатого тела.

Исследование показало, что острые симптомы ОКР могут быть связаны с аномально высокой колебательной активностью в субталамическом ядре (СТЯ), особенно в левом полушарии и в δ - α (1-12 Гц) частотном диапазоне (Bastin et al., *Cortex*, 2014, 60, 145-150: Changes of oscillatory activity in the subthalamic nucleus during obsessive-compulsive disorder symptoms: two case reports). Кроме того, некоторые субталамические нейроны особенно увеличивали частоту испускания импульсов, когда возникали сомнения во время проверки (Burbaud et al., *brain*, 2013, 136(1), 304-317: Neuronal activity correlated with checking behavior in the subthalamic nucleus of patients with obsessive-compulsive disorder).

ГСГМ вентральной передней конечности внутренней капсулы (VC) и соседнего вентрального полосатого тела (VS) была одобрена в ЕС для лечения тяжелого и высоко резистентного к лечению ОКР (VC/Vs-ГСГМ).

Расстройства аутистического спектра.

Аутизм является синдромом развития нервной системы, который определяется дефицитом социальной взаимности и общения, а также необычным ограниченным повторяющимся поведением. Аутизм является расстройством, которое обычно начинается в младенчестве, в конце концов, в первые три года жизни. Аутизм является гетерогенным состоянием (два ребенка или взрослых человека с аутизмом никогда не будут иметь одинаковый профиль), что приводит к концепции "расстройство аутистического спектра", классифицирующей несколько уровней заболевания в соответствии со степенью дефицита речи или общей задержкой развития когнитивных функций и в соответствии с социальными или поведенческими симптомами (Lord et al., *Neuron*, 2000, 28, 355-363: Autism spectrum disorders). С одной стороны этого спектра, люди с аутизмом являются высоко функциональными, способными жить сами по себе и сохранять занятость. Люди, характеризующиеся низкой функциональностью, демонстрируют более тяжелые симптомы: затрудненность речи (или даже бессловный язык), плохая социальная коммуникация, самотравмирующее поведение (СТП), вспышки раздражения и агрессия, которые могут быть потенциально опасны для жизни. Важной тенденцией в структурных и функциональных исследованиях мозга при аутизме является вовлечение сети для социоэмоциональной обработки: лимбическая система, лицевая система обработки и сеть зеркальных нейронов. Было показано, что дефицит синхронизации колебаний γ -диапазона вовлечен в появление симптомов (Sinha et al., *Neurosurgery Focus*, 2015, 38(6), E3: Deep brain stimulation for severe autism: from pathophysiology to procedure).

Двумя основными областями симптомов, которые могут потребовать лечения при тяжелом аутизме, являются социальные дефициты, включая невербальность и невосприимчивость к речи, и СТП, которые могут быть опасны для жизни. Миндалины, по-видимому, играют важную роль в патофизиологии этих нарушений. Измененный возбуждающий или тормозной контроль вовлечен в патологию аутизма. Нейромодуляция миндалевидных мишеней через ГСГМ может представлять собой терапевтическое вмешательство для пациентов с тяжелым аутизмом. В литературе сообщалось о трех случаях лечения ГСГМ. Целью лечения было главным образом облегчение двигательных расстройств, таких как стереотипии (схема повторяющихся движений) и самотравмирующее поведение (СТП), связанное с заболеванием (Sinha et al., *Neurosurgery Focus*, 2015, 38(6), E3: Deep brain stimulation for severe autism: from pathophysiology to procedure; Stocco et al., *Parkinsonism and related disorders*, 2014, 20, 1035-1036: Deep brain stimulation for severe secondary stereotypies). В одном из трех случаев сообщалось, что ГСГМ в базолатеральном ядре приводила к значительному улучшению связанных с аутизмом симптомов, таких как социальный контакт, влияющих на модуляцию и ночной сон (Sturm et al., *Frontiers in Human Neuroscience*, 2013, 6,

341, 1-10).

Шизофрения.

Шизофрения является хроническим психиатрическим заболеванием, для которого характерны, среди прочего, следующие симптомы: положительные симптомы, которые отражают aberrантную умственную деятельность (галлюцинации и бред); отрицательные симптомы, которые соответствуют дефициту ментальной функции, которая обычно присутствует (расстройство мышления, притупление аффекта, бедность речи). Что касается причин пожизненной инвалидности, шизофрения находится в первой десятке.

Значительное расширение желудочка и увеличение спинномозговой жидкости на поверхности мозга позволяют предположить, что мозг атрофирован. Эта потеря серого вещества и уменьшенное количество синаптических структур на нейронах позволяют предположить, что шизофрения является расстройством нервного развития, что означает, что аномалии мозга уже присутствуют у пациентов с первым эпизодом (в отличие от нейродегенеративного расстройства).

Было продемонстрировано, что у пациентов с шизофренией наблюдаемое нарушение нервной системы связано с нарушением синхронизации в γ -диапазоне (Spencer et al., *The Journal of Neuroscience*, 2003, 23(19), 7407-7411: Abnormal neural synchrony in schizophrenia; Gallinat et al., *Clinical Neurophysiology*, 2004, 115, 1863-1874: Reduced oscillatory γ -band responses in unmedicated schizophrenic patients indicate impaired frontal network processing).

Электроконвульсивная терапия (ЭКТ), т.е. шоковая терапия, была продемонстрирована как одна из самых успешных не фармакологических схем лечения шизофрении (Payne et al., *J. Psychiatr. Pract.*, 2009, 15(5), 346-368: Electroconvulsive therapy part I: a perspective on the evolution and current practice of ECT). Она включает в себя последовательное применение электрического тока к мозгу, что вызывает судороги, сравнимые с эпилептическими.

Электростимуляция для симптоматического лечения шизофрении также возможна через ГСГМ. Например, ГСГМ прилежащего ядра (NAcc) при депрессии приводит к ремиссии ангедонии, т.е. восстановлению гедонического удовольствия (Schlaepfer et al., *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33, 368-377: Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia in refractory major depression).

Пример когнитивного расстройства.

Болезнь Альцгеймера.

Болезнь Альцгеймера (БА) является нейродегенеративным расстройством, которое ведет к прогрессирующей потере умственного, поведенческого, функционального снижения и способности к обучению. Приблизительно 200000 человек моложе 65 лет с БА составляют молодое население с БА; 5 миллионов в возрасте 65 лет или старше.

Последние данные свидетельствуют о том, что когнитивные нарушения, наблюдаемые при болезни Альцгеймера, связаны с функциональным разрывом нейрокогнитивных сетей. Анализы глобальной синхронизации ЭЭГ показывают широко распространенное снижение синхронизации в α -, β - и γ -диапазонах, одновременно с увеличением синхронизации в δ -диапазоне. Было показано, что у пациентов с легкой болезнью Альцгеймера потеря синхронизации β -диапазона коррелирует с когнитивными нарушениями (Schnitzler et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2005, 6, 285-296: Normal and pathological oscillatory communication in the brain). Продолжаются клинические исследования для оценки потенциала ГСГМ для лечения болезни Альцгеймера.

Источники первичной стимуляции.

Если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц обычно выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию. В этом контексте, источник света обычно применяют через источник видимого, ультрафиолетового (УФ) или инфракрасного (ИК) света (см. фиг. 1).

Если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц обычно выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию. В этом контексте, магнитное поле обычно применяют через низкоинтенсивное магнитное поле (обычно ниже около 100 Гц), радиочастотное магнитное поле (обычно от около 3 кГц до около 300 МГц) или переменное магнитное поле (обычно с применением следующих параметров поля: амплитуды от около 5 до около 20 кА·м⁻¹ и частоты ниже 1 МГц).

Если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материал наночастицы или агрегата наночастиц обычно является материалом, позволяющим электроакустическую трансдукцию. Источник ультразвука обычно применяют с применением источника ультразвука с частотой от около 20 кГц до около 20 МГц.

Наночастицы.

Табл. 1 связывает первичный стимул с источником энергии, вторичным стимулом, типом наночастицы и целевой клеткой.

Таблица 1

Источник (первичный стимул)	Вторичный стимул, созданный наночастицей или агрегатом наночастиц	Тип наночастицы	Целевая клетка
Свет	Электрическое поле	Полупроводниковая наночастица, позволяющая опто- электрическую трансдукцию	Нейрон/ нервная клетка
Свет	Тепло	Плазмонная металлическая наночастица, позволяющая опто- термическую трансдукцию	Нейрон/ нервная клетка
Свет	Свет	Легированная лантанидом наночастица, позволяющая опто- оптическую трансдукцию	Нейрон/ нервная клетка, экспрессиру- ющая один или более реагирующий на свет белок опсин на клеточной мембране этой нейронной
			клетки
Магнитное поле	Электрическое поле	Магнито- электрические наночастицы, позволяющие магнито- электрическую трансдукцию	Нейрон/ нервная клетка
Магнитное поле	Тепло	Суперпарамагнитные наночастицы, позволяющие магнито-термическую трансдукцию	Нейрон/ нервная клетка
Ультразвук	Электрическое поле	Пьезоэлектрические наночастицы, позволяющие электроакустическую трансдукцию	Нейрон/ нервная клетка

Композиция наночастиц.

Оптоэлектрическая наночастица.

Если материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий опто-электрическую трансдукцию, материалом обычно является полупроводящий материал, представляющий относительно маленькую запрещенную зону (E_g) между его зоной валентности и зоной проводимости. Обычно полупроводящий материал имеет запрещенную зону E_g ниже 3,0 эВ, обычно при измерении при

комнатной температуре (25°C).

В конкретном аспекте, материалом является внутренний полупроводящий материал или внешний полупроводящий материал, как описано ниже.

Внутренние полупроводящие материалы обычно состоят из элемента группы IVA Периодической таблицы Менделеева, такого как кремний (Si) или германий (Ge), в смешанной композиции элементов из групп III и V Периодической таблицы Менделеева, таких как AlSb, AlN, GaP, GaN, InP, InN, и т.д., или в смешанной композиции элементов из групп II и VI Периодической таблицы Менделеева, таких как ZnSe, ZnTe, CdTe, и т.д.

Внешние полупроводящие материалы обычно содержат или состоят из внутреннего полупроводника, полученного с высокой степенью химической чистоты, где внутренний полупроводящий материал содержит легирующую добавку. В конкретном аспекте, если внешний полупроводящий материал наночастицы или агрегата наночастиц состоит из элемента из группы IVA Периодической таблицы Менделеева, его легируют носителем заряда, выбранным из Al, B, Ga, In и P. Такие внешние полупроводящие материалы могут быть либо о-типа, в котором доминируют носители отрицательного заряда или п-типа, в котором доминируют носители положительного заряда. Типовой внешний полупроводящий материал п-типа состоит из кремния (Si) или германия (Ge), легированного заряженным носителем, выбранным из алюминия (Al), бора (B), галлия (Ga) и индия (In); типовой внешний полупроводящий материал п-типа состоит из кремния (Si) или германия (Ge), обычно легированного фосфором (P).

Оптермическая наночастица.

Если материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий оптермическую трансдукцию, материалом обычно является плазмонный металл. Такой плазмонный металлический материал представляет собой колебания газа свободных электронов металла на границе раздела между металлом и диэлектрической средой (такой как воздух) в ответ на падающий свет, обычно на оптических частотах (от видимых до инфракрасных). Материал, позволяющий оптермическую трансдукцию, обычно выбирают из золота, серебра, платины и любой их смеси.

Оптооптическая наночастица.

Если материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий оптооптическую трансдукцию, материалом обычно является легированный лантанидом материал.

Лантанид выбирают из лантана (La), церия (Ce), празеодимия (Pr), неодима (Nd), прометия (Pm), самария (Sm), европия (Eu), гадолиния (Gd), тербия (Tb), диспрозия (Dy), гольмия (Ho), эрбия (Er), тулия (Tm), иттербия (Yb) или лютеция (Lu) и любой их смеси. Концентрация легирующего элемента в материала обычно составляет ниже 15% (мас./мас.).

В конкретном аспекте, материалом, позволяющим оптооптическую трансдукцию, является легированный лантанидным элементом материал, предпочтительно выбранный из легированного лантанидом оксида, легированного лантанидом смешанного оксида, легированного лантанидом фосфата металла и легированного лантанидом ванадата металла.

В более конкретном варианте, оксид выбирают из Y_2O_3 , Nd_2O_3 , La_2O_3 и SiO_2 .

В другом конкретном варианте, фосфатом металла является $LuPO_4$.

В другом конкретном варианте, ванадатом металла является YVO_4 .

В предпочтительном аспекте, наночастица или агрегат наночастицы имеет лантанидный элемент, выбранный из лантана (La), церия (Ce), празеодимия (Pr), неодима (Nd), прометия (Pm), самария (Sm), европия (Eu), гадолиния (Gd), тербия (Tb), диспрозия (Dy), гольмия (Ho), эрбия (Er), тулия (Tm), иттербия (Yb) или лютеция (Lu) и их смеси, и оксид выбирают из Y_2O_3 , Nd_2O_3 , La_2O_3 и SiO_2 , фосфатом металла является $LuPO_4$ и/или ванадатом металла является YVO_4 .

Магнитоэлектрическая наночастица

Если материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий магнитоэлектрическую трансдукцию, материалом обычно является магнитоэлектрический материал. Магнитоэлектрическим материалом предпочтительно является $CoFe_2O_4 @ BaTiO_3$.

Магнитотермическая наночастица.

Если материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий магнитотермическую трансдукцию, материалом обычно является магнитный материал, который имеет один магнитный домен и обладает суперпарамагнитными свойствами при температуре от 15 до 45°C. Материалом, позволяющим магнитотермическую трансдукцию, обычно является оксид, такой как Fe_3O_4 или Fe_2O_3 , или суперпарамагнитный смешанный оксид, выбранный из $NiFe_2O_4$, $MoFe_2O_4$, $MnFe_2O_4$ и $ZnFe_2O_4$.

Электроакустические наночастицы.

Если материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, материалом обычно является пьезоэлектрический материал. Пьезоэлектрическим материалом обычно является материал, представляющий структуру перовскита, и его предпочтительно выбирают из титаната бария ($BaTiO_3$) и титаната стронция ($SrTiO_3$), или пьезоэлектрическим материалом обычно является нитрид бора (BN).

Форма наночастицы или агрегата наночастиц.

Формой наночастицы или агрегата наночастиц обычно может быть сфера, стержень или трубка. Так

как форма частицы или агрегата может влиять на ее "биосовместимость", предпочтительна частица или агрегат, имеющая довольно однородную форму. По фармакокинетическим причинам предпочтительны наночастицы или агрегаты, которые являются, по существу, сферическими, круглыми или яйцеобразными по форме. Такая форма также благоприятствует взаимодействию наночастицы или агрегата с клеткой или поглощению клетками. Особенно предпочтительна сферическая или круглая форма.

Форму наночастицы или агрегата наночастиц обычно оценивают с применением просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ).

Величина или размер наночастицы или агрегата наночастиц.

В духе изобретения термины "наночастица" или "агрегат наночастиц" относятся к продукту, в частности к синтетическому продукту с размером в нанометровом диапазоне, обычно от 1 до 500 нм.

Термин "агрегат наночастиц" или "наночастичный агрегат" относится к совокупности наночастиц, сильно, обычно ковалентно связанных друг с другом.

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) может применяться для измерения размера наночастицы или агрегата наночастиц. Также динамическое светорассеяние (ДСР) может применяться для измерения гидродинамического диаметра наночастиц или агрегата наночастиц в растворе. Эти два метода также могут применяться друг за другом для сравнения измерений размера и подтверждения указанного размера. Предпочтительным методом является ДСР (Ref. International Standard IS022412 Particle Size Analysis - Dynamic Light Scattering, International Organisation for Standardisation (ISO) 2008), тогда как средний гидродинамический диаметр наночастицы или агрегата наночастиц в растворе дан по интенсивности.

Как правило, самая большая величина или размер является диаметром наночастицы круглой или сферической формы или самой большой длиной наночастицы яйцевидной или овальной формы.

Наибольшая величина наночастицы или агрегата, определенного здесь, обычно составляет от около 2 нм до около 250 нм, предпочтительно от около 4 или 10 нм до около 100 нм или около 200 нм, даже более предпочтительно от около 10 нм до около 150 нм.

Биосовместимое покрытие наночастиц или агрегатов наночастиц.

Наночастица или агрегат наночастиц, применяемый в контексте данного изобретения, либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт биосовместимым материалом (т.е. покрывающим агентом). Этим биосовместимым материалом обычно является гидрофильный агент, придающий нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц, т.е. заряд от около -10 мВ до около +10 мВ, например около -10 мВ, -5 мВ, 0 мВ, +5 мВ или +10 мВ. Действительно, если наночастицы или агрегаты наночастиц в соответствии с данным изобретением вводят субъекту, наночастицы или агрегаты наночастиц, которые либо нейтрально заряжены при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыты биосовместимым агентом, обычно гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастиц или агрегатов наночастиц, особенно предпочтительны для оптимизации применения наночастиц или агрегатов наночастиц для модулирования поляризации нейронов вод воздействием источника света/стимула, магнитного поля или источника ультразвука/стимула.

Гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц, может быть агент, имеющий функциональную группу, выбранную из спирта (R-OH), альдегида (R-COH), кетона (R-CO-R), сложного эфира (R-COOR), кислоты (R-COOH), тиола (R-SH), сахара (например, глюкозы, фруктозы или рибозы), ангидрида (RCOOOC-R) и пиррола. Гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц может быть мономер, димер, олигомер, полимер или сополимер. Если агентом является олигомер, он может быть олигосахаридом, таким как циклодекстрин. Если агентом является полимер, он может быть сложным полиэфиром (таким как поли(молочная кислота) или полигидроксипропановая кислота), простым полиэфиром, полиэтиленоксидом, полиэтиленгликолем, поливиниловым спиртом, поликапролактоном, поливинилпирролидоном, полисахаридом, таким как целлюлоза, полипирролом и т.д.

Кроме того, гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастицам или агрегатам наночастиц, может быть агент, демонстрирующий определенные группы (R-), способные взаимодействовать с поверхностью наночастицы или агрегата наночастиц. R обычно выбирают из тиола, силана, карбоновой и фосфатной группы.

Когда наночастица или агрегат наночастиц является проводником или полупроводником и металлической наночастицей, R предпочтительно является тиолом, тиоэфиром, дитиолом или карбоксильной группой. Предпочтительно, гидрофильный нейтральный агент выбирают из тиоглюкозы, 2-меркаптоэтанола, 1-тиоглицерина, тиогликоля и гидроксимасляной кислоты.

В конкретном аспекте, если наночастица или агрегат наночастиц является металлической наночастицей, R предпочтительно является тиолом, тиоэфиром, дитиолом или карбоксильной группой. Предпочтительно, гидрофильный нейтральный покрывающий агент выбирают из тиоглюкозы, 2-меркаптоэтанола, 1-тиоглицерина, тиодигликоля и гидроксимасляной кислоты.

Если наночастица или агрегат наночастиц является изолятором и наночастицей из оксида или смешанного оксида, R предпочтительно является силаном или фосфатной группой. Предпочтительно, гидрофильным нейтральным покрывающим агентом является гидроксиметилтриэтоксисилан, соединение

фруктозы 6-фосфата или глюкозы 6-фосфата.

В конкретном аспекте, если наночастицей или агрегатом наночастиц является наночастица из оксида, легированного оксида или смешанного оксида, R предпочтительно является силаном или фосфатной группой. Предпочтительно, гидрофильным нейтральным покрывающим агентом является гидроксиметилтриэтоксисилан, соединение фруктозы 6-фосфата или глюкозы 6-фосфата.

В конкретном аспекте, гидрофильный агент выбирают из поли(молочной кислоты), полигидрокси-алкановой кислоты, полиэфира, полиэтиленоксида, полиэтиленгликоля, поливинилового спирта, поликапролактона, поливинилпирролидона, полисахарида, полипиррола, циклодекстрина, тиоглюкозы, 2-меркаптоэтанола, 1-тиоглицерина, тиодигликоля, гидроксимасляной кислоты, гидроксиметилтриэтоксисилана, фруктозы 6-фосфата и глюкозы 6-фосфата.

Гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, может быть цвиттерионное соединение, такое как аминокислота, пептид, полипептид, витамин, фосфолипид (фосфатидилхолин) или поверхностно-активное вещество.

Поверхностный заряд наночастицы или агрегата наночастиц обычно определяют, как хорошо известно специалисту в данной области техники, измерениями ζ потенциала, обычно в воде для наночастиц с концентрацией от 0,2 до 10 г/л, для pH от 6 до 8, и обычно добавлением электролитов в концентрациях в воде от 0,001 до 0,2M, например 0,01 или 0,15M. В указанных выше определенных условиях, поверхностный заряд наночастицы или агрегата наночастиц обычно составляет от -10 до +10 мВ, более предпочтительно от -5 до +5 мВ.

Полное биосовместимое покрытие наночастицы или агрегата может быть предпочтительным в контексте данного изобретения для того, чтобы избежать любого электрического заряда на поверхности наночастиц, когда наночастицы представляют гидрофильный нейтральный поверхностный заряд. "Полное покрытие" подразумевает присутствие очень высокой плотности/компактности биосовместимых молекул, способных создавать, по крайней мере, полный монослой на поверхности частицы.

Биосовместимое покрытие обеспечивает, в частности, стабильность наночастиц или агрегата наночастиц в жидкости, такой как физиологическая жидкость (кровь, плазма, сыворотка и т.д.) или любой изотонической среде или физиологической среде, необходимой для фармацевтического введения.

Стабильность может быть подтверждена количественным определением сухого экстракта с использованием сушильной печи и измерением на суспензии наночастиц до и после фильтрации, обычно на фильтре 0,45 мкм.

Преимущественно, покрытие сохраняет целостность частицы *in vivo*, обеспечивает или улучшает ее биосовместимость и облегчает ее необязательную функционализацию (например, со спейсерными молекулами, биосовместимыми полимерами, целевыми агентами, белками и т.д.).

Биосовместимая наночастица или агрегат наночастиц в соответствии с данным изобретением не должны ни растворять и высвобождать токсичные вещества после введения *in vivo* (т.е. при физиологическом pH), ни показывать окислительно-восстановительное поведение в отсутствие электростимуляции.

Также здесь описано применение наночастицы или агрегата наночастиц, описанных здесь, для приготовления композиции для профилактики или лечения нейронной болезни, описанной здесь, или по крайней мере одного ее симптома у субъекта, нуждающегося в таковом.

Другой конкретный объект, описанный здесь, относится к композиции, в частности фармацевтической композиции, содержащей наночастицы и/или агрегаты наночастиц, такие как определены или описаны выше, предпочтительно с фармацевтически приемлемым носителем или наполнителем.

В частности, описана композиция для применения для модулирования электрической поляризации нейронов у субъекта, если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, как описано здесь, где композиция содержит или состоит из наночастиц и/или агрегата наночастиц и фармацевтически приемлемой подложки, и где: i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, опто-термическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию; ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию; iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где (обычно каждая) наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц, где нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около +10 мВ, как объяснено выше.

Также здесь описана композиция для применения для профилактики или лечения нейронного расстройства, описанного здесь, или по крайней мере одного его симптома у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у субъекта, если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где композиция содержит или состоит из наночастиц и/или агрегатов наночастиц и фармацевтически приемлемой подложки.

ки, где: i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию или оптооптическую трансдукцию; ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию или магнитотермическую трансдукцию; iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является материал, позволяющий электроакустическую трансдукцию, и где наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц, где нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около +10 мВ.

В предпочтительном аспекте, композиция содержит или состоит из по крайней мере двух отдельных наночастиц и/или агрегатов наночастиц, где каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из отдельного материала, обычно выбранного из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию, оптооптическую трансдукцию, магнитоэлектрическую трансдукцию, магнитотермическую или электроакустическую трансдукцию, и где (обычно каждая) наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц.

Композиция может быть в форме твердого вещества, жидкости (частицы в суспензии), аэрозоля, геля, пасты и подобных.

Предпочтительные композиции находятся в жидкой или гелевой форме. Особенно предпочтительная композиция находится в жидкой форме.

Применяемой фармацевтически приемлемой подложкой или носителем может быть любая классическая подложка для специалиста в данной области техники, например физиологический раствор, изотонический, стерильный, буферный раствор, раствор не водного носителя и подобные.

Композиция также может содержать стабилизаторы, подсластители, поверхностно-активные вещества, полимеры и подобные.

Она может быть составлена, например, в виде ампулы, аэрозоля, бутылки, таблетки, капсулы, с применением методик получения фармацевтического состава, известным специалисту в данной области техники.

Наночастицы или агрегат наночастиц в соответствии с данным изобретением может вводиться субъекту с применением различных возможных путей, таких как внутривенный (ВВ), через дыхательные пути (ингаляцией), интратекальный, интраокулярный или пероральный путь (через рот), предпочтительно, с применением внутривенного или интратекального.

Если необходимо, могут проводиться повторные инъекции или введения наночастиц или агрегатов.

Описанные здесь наночастицы, агрегаты наночастиц и композиции, содержащие такие наночастицы или агрегаты наночастиц, предназначены для применения у субъекта, обычно для применения у животного, предпочтительно у млекопитающего, еще более предпочтительно у человека независимо от его возраста или пола.

Типовые количества наночастиц или агрегатов наночастиц, вводимые в кору головного мозга субъекта, составляют от 10^5 до 10^{15} , предпочтительно от 10^7 до 10^{14} , более предпочтительно от 10^9 до 10^{12} . Также типовые количества наночастиц или агрегатов наночастиц, вводимые в кору головного мозга субъекта, составляют от 10^2 до 10^{12} наночастиц или агрегатов наночастиц на см^3 .

Типовые количества наночастиц или агрегатов наночастиц, вводимые глубоко в мозг субъекта, составляют от 10^4 до 10^{14} , предпочтительно от 10^6 до 10^{12} , более предпочтительно от 10^8 до 10^{11} . Также типовые количества наночастиц или агрегатов наночастиц, вводимые глубоко в мозг субъекта, составляют от 10^1 до 10^{11} наночастиц или агрегатов наночастиц на см^3 .

В контексте изобретения, обработка наночастиц или агрегатов наночастиц источником света, магнитным полем или источником ультразвука эквивалента обработке субъекта, которому введены наночастицы или агрегаты наночастиц источником света, магнитным полем или источником ультразвука.

Также описан способ модулирования *in vivo* электрической поляризации нейронов у субъекта, где способ включает стадию введения любых описанных здесь наночастиц или агрегатов наночастиц субъекту и стадию подвергания указанного субъекта воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука.

Также описан способ профилактики или лечения нейронной болезни или по крайней мере одного ее симптома у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у леченного субъекта, где способ включает стадию введения любых описанных здесь наночастиц или агрегатов наночастиц субъекту и стадию подвергания указанного субъекта воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука.

Другой описанный здесь объект относится к набору, содержащему по крайней мере две отдельные наночастицы и/или агрегата наночастиц, описанных здесь, где каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из отдельного материала, обычно выбранного из материала, позволяющего оптоэлектриче-

скую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию, оптооптическую трансдукцию, магнитоэлектрическую трансдукцию, магнитотермическую трансдукцию или электроакустическую трансдукцию, и где (обычно каждая) наночастица или агрегат наночастиц либо нейтрально заряжен при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыт гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц, как описано здесь, где нейтральный заряд составляет от около -10 мВ до около +10 мВ.

В конкретном варианте, набор содержит, в отдельных контейнерах, отдельные наночастицы или агрегаты наночастиц, описанные здесь (которые предназначены для контакта, обычно смешивания, либо *in situ*, т.е. в целевом месте, либо *in vitro* или *ex vivo* до помещения смеси в целевое место).

Также здесь описано применение, *in vivo*, *in vitro* или *ex vivo*, такого набора в способе модулирования электрической поляризации нейронов у субъекта, как описано здесь, например в способе профилактики или лечения неврологической болезни, описанной здесь, или по крайней мере одного ее симптома у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у субъекта.

Целью данного изобретения является модулирование электрической поляризации нейронов благодаря применению наночастиц или агрегата наночастиц, подвергаемых воздействию светового стимула/источника, магнитного поля или ультразвукового стимула/источника.

В конкретном аспекте, набор предназначен для применения для профилактики или лечения/в способе профилактики или лечения нейронной болезни, описанной здесь, или по крайней мере одного ее симптома, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у лечимого субъекта, где способ включает стадию подвергания субъекта, которому введена наночастица или агрегат наночастиц, воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, как описано здесь.

Далее здесь описан набор, описанный выше, для применения в профилактике или лечении нейронной болезни или по крайней мере одного ее симптома у субъекта, обычно модулированием электрической поляризации нейронов у лечимого субъекта, где субъекта подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука.

Данные наночастицы или агрегаты наночастиц в соответствии с данным изобретением преимущественно позволяют улучшенное пространственное разрешение (фокальность) источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где локализованы наночастицы. В конкретных аспектах, описаны наночастицы, позволяющие улучшать профиль безопасности благодаря их нейтральному заряду поверхности (повышая их терапевтическое действие).

Следующие примеры и соответствующие им фигуры иллюстрируют изобретение, не ограничивая его объем.

Чертежи

Фиг. 1 - электромагнитный спектр;

фиг. 2 - схематическая презентация мозга (сагиттальная плоскость);

фиг. 3 - оценка метаболической активности с применением анализа МТТ на нейронных клетках, обработанных золотыми наночастицами с покрытием, придающим (i) нейтральный поверхностный заряд -3,4 мВ наночастицам из примера 1, (ii) отрицательный поверхностный заряд -27,0 мВ наночастицам из примера 2, и (iii) положительный поверхностный заряд +26,1 мВ наночастицам из примера 3. Абсорбцию измеряют при 570 нм. Здоровье клеток коррелируют с показателем абсорбции при 570 нм: чем выше показатель абсорбции, тем выше здоровье клеток. Показатель абсорбции выше для золотых наночастиц из примера 1, чем для золотых наночастиц из примера 2 (почти 2-кратное повышение) или золотых наночастиц из примера 3 (почти 3-кратное повышение);

фиг. 4 - оценка метаболической активности с применением анализа МТТ на нейронных клетках, обработанных кремниевыми наночастицами с покрытием, придающим (i) нейтральный поверхностный заряд -4,5 мВ наночастицам из примера 6, и положительный поверхностный заряд +16,0 мВ наночастицам из примера 7. Абсорбцию измеряют при 570 нм. Здоровье клеток коррелируют с показателем абсорбции при 570 нм: чем выше показатель абсорбции, тем выше здоровье клеток. Показатель абсорбции выше для Si наночастиц и примера 6, чем для Si наночастиц из примера 7 (почти 1,5-кратное повышение);

фиг. 5 - оценка метаболической активности с применением анализа МТТ на нейронных клетках, обработанных наночастицами из оксида железа с покрытием, придающим (i) нейтральный поверхностный заряд +8,5 мВ наночастицам из примера 4, и (ii) отрицательный поверхностный заряд -36,4 мВ наночастицам из примера 5. Абсорбцию измеряют при 570 нм. Здоровье клеток коррелируют с показателем абсорбции при 570 нм: чем выше показатель абсорбции, тем выше здоровье клеток. Показатель абсорбции выше для Fe₂O₃ наночастиц из примера 4, чем для Fe₂O₃ наночастиц из примера 5 (почти 1,5-кратное повышение).

Примеры

In vitro исследования нейронов.

На нейронном уровне методика фиксации потенциала очень полезна для определения потенциалов действия, так как она позволяет одновременное прямое измерение и контроль мембранного потенциала нейрона.

Эту методику применяют для оценки действия наночастиц на одном нейроне.

In vitro исследования сети нейронов.

Мультиэлектродные матрицы (МЭМ) позволяют стимулировать и записывать большое количество нейронов (нейронную сеть). Диссоциированные нейронные культуры на МЭМ являются упрощенной моделью, в которой активность сети может управляться последовательностями электростимуляции через множество электродов матрицы. Эта методика очень полезна для оценки физиологически релевантных вопросов в сети и клеточных уровнях, что дает лучшее понимание функции и дисфункции мозга.

Здоровье клеток также обычно отслеживают с применением анализа с бромидом 3-(4,5-диметилтриазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ). В анализе цитотоксичности МТТ применяется метаболическая активность как индикатор для описания здоровья клетки.

Эту методику применяют обычно для оценки функционального действия наночастиц на нейронную сеть.

Пример 1. Наночастицы, позволяющие оптотермическую трансдукцию: синтез золотых наночастиц, покрытых биосовместимым покрытием, придающим нейтральный заряд поверхности золотых наночастиц.

Золотые наночастицы синтезируют восстановлением хлорида золота (HAuCl_4) защитным веществом (цитратом натрия) (протокол адаптируют из G. Frens *Nature Physical Science* 241 (1973) 21). В типовом эксперименте, раствор HAuCl_4 нагревают до кипения. Затем добавляют раствор цитрата натрия. Полученный раствор выдерживают при кипении в течение дополнительных 5 мин.

Проводят 0,22 мкм фильтрацию (фильтровальная мембрана: поли(эфирсульфон) (ПЭС)) суспензии наночастиц, и концентрацию золота в суспензии определяют УФ-видимой микроскопией при 530 нм.

Покрытые поверхности проводят с применением α -метокси- ω -меркаптополи(этиленгликоля) 20 кДа ("тиол-ПЭГ 20 кДа"). Достаточное количество "тиол-ПЭГ 20 кДа" добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем ($2,5$ молекулы/ nm^2) на поверхности золотой наночастицы. pH доводят от 7 до 7,2, и суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр биосовместимых золотых наночастиц в суспензии равен 122,5 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,15.

ζ -потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 mM при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). ζ -потенциал при pH 7 равен -3,4 мВ.

Пример 2. Наночастицы, позволяющие оптотермическую трансдукцию: синтез золотых наночастиц, покрытых биосовместимым покрытием, придающим отрицательный заряд поверхности золотых наночастиц.

Золотые наночастицы получают, как описано в примере 1 (та же золотая неорганическая сердцевина).

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре и концентрацию золота в суспензии определяют УФ-видимой микроскопией при 530 нм.

Биосовместимое покрытие поверхности проводят с применением мезо-2,3-димеркаптоянтарной кислоты (ДМЯК). Достаточное количество ДМЯК добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем ($2,5$ молекулы/ nm^2) на поверхности золотой наночастицы. pH доводят от 7 до 7,2, и суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр биосовместимых наночастиц в суспензии равен 127,4 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,54.

ζ -потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 mM при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). ζ -потенциал при pH 7 равен -27,0 мВ.

Пример 3. Наночастицы, позволяющие оптотермическую трансдукцию: синтез золотых наночастиц, покрытых биосовместимым покрытием, придающим положительный заряд поверхности золотых наночастиц.

Золотые наночастицы получают, как описано в примере 1 (та же золотая неорганическая сердцевина).

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре и концентрацию золота в суспензии определяют УФ-видимой микроскопией при 530 нм.

Покрытие поверхности проводят с применением хлорида поли(диаллилдиметиламмония) (ХПДА-ДА). Достаточное количество ХПДАДА добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем ($2,5$ молекулы/ nm^2) на поверхности золотой наночастицы. pH дово-

дят от 7 до 7,2, и суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр наночастиц в суспензии равен 94,1 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,51.

ζ -потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). ζ -потенциал при pH 7 равен +26,1 мВ.

Пример 4. Наночастицы, позволяющие магнитотермическую трансдукцию: синтез наночастиц оксида железа, покрытых биосовместимым покрытием, придающим нейтральный заряд поверхности наночастиц оксида железа.

Наночастицы оксида железа (Fe_2O_3) синтезируют совместным осаждением нитрата железа (III) ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$) и хлорида железа (II) (FeCl_2) с гидроксидом натрия (NaOH) при щелочном pH, в реакционной среде с высокой ионной силой. Полученную суспензию наночастиц промывают три раза водой центрифугированием.

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре, и концентрацию наночастиц (Fe_2O_3) определяют колориметрическим анализом в УФ-видимой микроскопии.

Покрытие проводят с применением силан-поли(этилен)гликоля 20 кДа ("Si-ПЭГ 20 кДа"). Достаточное количество "Si-ПЭГ 20 кДа" добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем ($2,5$ молекулы/нм²) на поверхности наночастиц оксида железа. Суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи и затем pH доводят до 7.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр наночастиц в суспензии равен 102,5 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,11.

ζ -потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). ζ -потенциал при pH 7 равен +8,5 мВ.

Пример 5. Наночастицы, позволяющие магнитотермическую трансдукцию: синтез наночастиц оксида железа, покрытых биосовместимым покрытием, придающим отрицательный заряд поверхности наночастиц оксида железа.

Наночастицы оксида железа (Fe_2O_3) получают, как описано в примере 4 (та же Fe_2O_3 неорганическая сердцевина).

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре и концентрацию наночастиц (Fe_2O_3) определяют колориметрическим анализом в УФ-видимой микроскопии.

Покрытие проводят с применением гексаметафосфата натрия. Достаточное количество гексаметафосфата натрия добавляют к суспензии наночастиц для достижения по крайней мере 1 молекулы гексаметафосфата натрия/нм² на поверхности наночастиц оксида железа. Суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи и затем pH доводят до 7.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр наночастиц в суспензии равен 81,5 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,16.

ζ -потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). ζ -потенциал при pH 7 равен -36,4 мВ.

Пример 6. Наночастицы, позволяющие оптотермическую трансдукцию: синтез кремниевых наночастиц, покрытых биосовместимым покрытием, придающим нейтральный заряд поверхности кремниевых наночастиц.

Суспензию кремниевых (Si) наночастиц (50 г/л) размером 5 нм получают от Meliorum Technologies Inc.

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре и концентрацию (Si) наночастиц определяют сушкой суспензии в порошок и взвешиванием полученной массы.

Покрытие проводят с применением силан-поли(этилен)гликоля 20 кДа ("Si-ПЭГ 20 кДа"). Достаточное количество "Si-ПЭГ 20 кДа" добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем ($2,5$ молекулы/нм²) на поверхности кремниевых наночастиц. Суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи и затем pH доводят до 7.

ζ -потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-

Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). ζ -потенциал при pH 7 равен -4,5 мВ.

Пример 7. Наночастицы, позволяющие оптотермическую трансдукцию: синтез кремниевых наночастиц, покрытых биосовместимым покрытием, придающим положительный заряд поверхности кремниевых наночастиц.

Кремниевые (Si) наночастицы получают от Meliorum Technologies Inc. как описано в примере 6 (та же Si неорганическая сердцевина).

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре и концентрацию (Si) наночастиц определяют сушкой суспензии в порошок и взвешиванием полученной массы.

Покрытие проводят с применением 3-аминопропилтриэтоксисилана (АПС). Достаточное количество АПС добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем (2,5 молекулы/нм²) на поверхности кремниевых наночастиц. Суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи и затем pH доводят до 7.

ζ -потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). ζ -потенциал при pH 7 равен +16,0 мВ.

Пример 8. Оценка цитотоксичности в нейронах среднего мозга/лобной доли мышей, вызванной наночастицами из примеров 1, 2 и 3 с применением анализа МТТ.

В анализе цитотоксичности МТТ применяют метаболическую активность как индикатор для описания здоровья клеток. Анализ с бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) измеряет митохондриальную активность жизнеспособных клеток через количественный анализ превращения соли тетразолия и ее формазановый продукт. Превращение соли тетразолия и ее формазановый продукт является маркером, отражающим метаболизм жизнеспособной клетки.

Материалы и методы.

Первичная клеточная культура.

Ткань среднего мозга/лобной доли собирают у эмбрионов мышей chr:NMRI на 14 день (Charles River). Мышей умерщвляют цервикальной дислокацией. Ткань диссоциируют ферментативным перевариванием (133,3 единиц Куница/мл ДНазы; 10 ед./мл папаина) и механически растирают, подсчитывают, контролируют жизнеспособность и помещают в 20 мкл капле DMEM, содержащей ламинин (10 мкг/мл), 10% фетальной бычьей сыворотки и 10% лошадиной сыворотки, на нейрочипы на 48-ячеистой микроэлектродной матрице (Axion Biosystems Inc.), покрытой в течение 1 ч полиэтиленгликолем (ПЭГ, 50% в боратном буфере) промывают и сушат на воздухе. Культуры инкубируют при 37°C в 10% CO₂ атмосфере до готовности к применению. Культуральную среду снова наполняют два раза в неделю DMEM, содержащей 10% лошадиную сыворотку.

Анализ МТТ.

Культуры нервных клеток среднего мозга/лобной доли мышей культивируют в течение 4 недель. Через 4 недели в ячейки добавляют суспензии наночастиц из примеров 1, 2 и 3 (800 мкМ). Через двадцать четыре (24 ч) после обработки суспензиями наночастиц среду меняют для того, чтобы избежать прямого взаимодействия бромида 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) с наночастицами. Через сорок восемь (48 ч) после обработки суспензиями наночастиц клетки обрабатывают МТТ реагентом при 50 мкг/мл, затем инкубируют в течение 120 мин при 37°C и 10% CO₂, и затем лизируют в 200 мкл лизисном буфере (ДМСО, 0,4М уксусной кислоты). Лизаты переносят в 96-луночные планшеты, и оптическую плотность записывают при 570 нм для количественной оценки МТТ-специфической абсорбции. Значения наносят на график после вычитания пустого значения (лизисного буфера).

На фиг. 3 представлена абсорбция, измеренная при 570 нм для нейронных клеток, обработанных золотыми наночастицами с покрытием, придающим (i) нейтральный заряд поверхности -3,4 мВ наночастицам из примера 1, (ii) отрицательный заряд поверхности -27,0 мВ наночастицам из примера 2, и (iii) положительный заряд поверхности +26,1 мВ наночастицам из примера 3. Значение абсорбции выше для золотых наночастиц из примера 1, чем для золотых наночастиц из примера 2 (около 2-кратное повышение) или золотых наночастиц из примера 3 (около 3-кратное повышение).

Эти результаты демонстрируют, что здоровье нейрона улучшается в нейронных культурах, обработанных наночастицами, описанными в данной заявке, если указанные наночастицы покрыты гидрофильным покрытием, придающим им нейтральный заряд поверхности, обычно нейтральный заряд выше -10 мВ и ниже +10 мВ, в отличие от поверхностного заряда выше +10 мВ или ниже -10 мВ.

Поэтому улучшенный профиль безопасности и повышенный терапевтический эффект ожидается при применении наночастиц, описанных в данной заявке, при условии что они покрыты гидрофильным покрытием, придающим им нейтральный заряд поверхности.

Пример 9. Оценка цитотоксичности в нейронах среднего мозга/лобной доли мышей, вызванной наночастицами из примеров 6 и 7 с применением анализа МТТ.

Материалы и методы.

Первичная клеточная культура.

Ткань среднего мозга/лобной доли собирают у эмбрионов мышей chr:NMRI на 14 день (Charles River). Мышей умерщвляют цервикальной дислокацией. Ткань диссоциируют ферментативным перевариванием (133,3 единиц Куница/мл ДНазы; 10 ед./мл папаина) и механически растирают, подсчитывают, контролируют жизнеспособность и помещают в 20 мкл капле DMEM, содержащей ламинин (10 мкг/мл), 10% фетальной бычьей сыворотки и 10% лошадиной сыворотки, на нейрочипы на 48-ячеистой микроэлектродной матрице (Axion Biosystems Inc.), покрытой в течение 1 ч полиэтиленгликолем (ПЭГ, 50% в боратном буфере) промывают и сушат на воздухе. Культуры инкубируют при 37°C в 10% CO₂ атмосфере до готовности к применению. Культуральную среду снова наполняют два раза в неделю DMEM, содержащей 10% лошадиную сыворотку.

Анализ МТТ.

Культуры нервных клеток среднего мозга/лобной доли мышей культивируют в течение 4 недель. Через 4 недели в ячейки добавляют суспензии наночастиц из примеров 6 и 7 (200 мкМ). Через двадцать четыре (24 ч) после обработки суспензиями наночастиц, среду меняют для того, чтобы избежать прямого взаимодействия бромид 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) с наночастицами. Через четырнадцать (14) дней после обработки суспензиями наночастиц клетки обрабатывают МТТ реагентом при 50 мкг/мл, затем инкубируют в течение 120 мин при 37°C и 10% CO₂, и затем лизируют в 200 мкл лизисном буфере (ДМСО, 0,4М уксусной кислоты). Лизаты переносят в 96-луночные планшеты и оптическую плотность записывают при 570 нм для количественной оценки МТТ-специфической абсорбции. Значения наносят на график после вычитания пустого значения (лизисного буфера).

На фиг. 4 представлена абсорбция, измеренная при 570 нм для нейронных клеток, обработанных Si наночастицами с покрытием, придающим (i) нейтральный заряд поверхности -4,5 мВ наночастицам из примера 6, и (ii) положительный заряд поверхности +16,0 мВ наночастицам из примера 7. Значение абсорбции выше для Si наночастиц из примера 6, чем для Si наночастиц из примера 7 (около 1,5-кратное повышение).

Эти результаты демонстрируют, что здоровье нейрона улучшается в нейронных культурах, обработанных наночастицами, описанными в данной заявке, если указанные наночастицы покрыты гидрофильным покрытием, придающим им нейтральный заряд поверхности, обычно нейтральный заряд выше -10 мВ и ниже +10 мВ, в отличие от поверхностного заряда выше +10 мВ или ниже -10 мВ.

Поэтому улучшенный профиль безопасности и повышенный терапевтический эффект ожидается при применении наночастиц, описанных в данной заявке, при условии что они покрыты гидрофильным покрытием, придающим им нейтральный заряд поверхности.

Пример 10. Оценка долговременной цитотоксичности в нейронах среднего мозга/лобной доли мышей, вызванной наночастицами из примеров 4 и 5 с применением анализа МТТ.

Материалы и методы.

Первичная клеточная культура.

Ткань среднего мозга/лобной доли собирают у эмбрионов мышей chr:NMRI на 14 день (Charles River). Мышей умерщвляют цервикальной дислокацией. Ткань диссоциируют ферментативным перевариванием (133,3 ед. Куница/мл ДНазы; 10 ед./мл папаина) и механически растирают, подсчитывают, контролируют жизнеспособность и помещают в 20 мкл капле DMEM, содержащей ламинин (10 мкг/мл), 10% фетальной бычьей сыворотки и 10% лошадиной сыворотки, на нейрочипы на 48-ячеистой микроэлектродной матрице (Axion Biosystems Inc.), покрытой в течение 1 ч полиэтиленгликолем (ПЭГ, 50% в боратном буфере) промывают и сушат на воздухе. Культуры инкубируют при 37°C в 10% CO₂ атмосфере до готовности к применению. Культуральную среду снова наполняют два раза в неделю DMEM, содержащей 10% лошадиную сыворотку.

Анализ МТТ.

Культуры нервных клеток среднего мозга/лобной доли мышей культивируют в течение 4 недель. Через 4 недели в ячейки добавляют суспензии наночастиц из примеров 4 и 5 (200 мкМ). Через двадцать четыре (24 ч) после обработки суспензиями наночастиц, среду меняют для того, чтобы избежать прямого взаимодействия бромид 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) с наночастицами. Через четырнадцать (14) дней после обработки суспензиями наночастиц клетки обрабатывают МТТ реагентом при 50 мкг/мл, затем инкубируют в течение 120 мин при 37°C и 10% CO₂, и затем лизируют в 200 мкл лизисном буфере (ДМСО, 0,4М уксусной кислоты). Лизаты переносят в 96-луночные планшеты и оптическую плотность записывают при 570 нм для количественной оценки МТТ-специфической абсорбции. Значения наносят на график после вычитания пустого значения (лизисного буфера).

На фиг. 5 представлена абсорбция, измеренная при 570 нм для нейронных клеток, обработанных наночастицами оксида железа с покрытием, придающим (i) нейтральный заряд поверхности +8,5 мВ наночастицам из примера 4, и (ii) отрицательный заряд поверхности -36,4 мВ наночастицам из примера 5. Значение абсорбции выше для Fe₂O₃ наночастиц из примера 4, чем для Fe₂O₃ наночастиц из примера 5 (около 1,5-кратное повышение).

Эти результаты демонстрируют, что здоровье нейрона улучшается в нейронных культурах, обработанных наночастицами, описанными в данной заявке, если указанные наночастицы покрыты гидрофильным покрытием, придающим им нейтральный заряд поверхности, обычно нейтральный заряд выше -10

мВ и ниже +10 мВ, в отличие от поверхностного заряда выше +10 мВ или ниже -10 мВ.

Поэтому улучшенный профиль безопасности и повышенный терапевтический эффект ожидается при применении наночастиц, описанных в данной заявке, при условии, что они покрыты гидрофильным покрытием, придающим им нейтральный заряд поверхности.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение наночастицы или агрегата наночастиц для профилактики или лечения нейронной болезни у субъекта посредством модулирования электрической поляризации нейронов у субъекта, когда наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука, где:

i) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника света, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из полупроводникового материала с запрещенной зоной E_g ниже 3,0 эВ в качестве материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию; плазмонного металлического материала в качестве материала, позволяющего оптотермическую трансдукцию; или легированного лантанидным элементом материала, выбранного из легированного лантанидом оксида, легированного лантанидом смешанного оксида, легированного лантанидом фосфата металла и легированного лантанидом ванадата металла, в качестве материала, позволяющего оптооптическую трансдукцию;

ii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию магнитного поля, материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из (является) $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{BaTiO}_3$ в качестве материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию, и суперпарамагнитного материала в качестве материала, позволяющего магнитотермическую трансдукцию;

iii) если наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию источника ультразвука, материалом наночастицы или агрегата наночастиц является пьезоэлектрический материал в качестве материала, позволяющего электроакустическую трансдукцию, и

где поверхность наночастицы или агрегата наночастиц либо нейтрально заряжена при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыта гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, причем нейтральный заряд составляет примерно от -10 до +10 мВ, при этом поверхностный заряд определяют измерениями ζ -потенциала в воде при концентрации наночастиц от 0,2 до 10 г/л, pH от 6 до 8, и при добавлении электролитов в концентрациях от 0,001 до 0,2M.

2. Применение по п.1, где гидрофильный агент, придающий нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, имеет функциональную группу, выбранную из спирта (R-OH), альдегида (R-COH), кетона (R-CO-R), сложного эфира (R-COOR), кислоты (R-COOH), тиола (R-SH), сахара, ангидрида (RCOOOC-R) и пиррола, где R выбран из тиола, силана, группы карбоновой кислоты и фосфатной группы.

3. Применение по п.1, где гидрофильный агент по п.2 выбирают из поли(молочной кислоты), полигидроксипропановой кислоты, простого полиэфира, полиэтиленоксида, полиэтиленгликоля, поливинилового спирта, поликапролактона, поливинилпирролидона, полисахарида, полипиррола, циклодекстрина, тиоглюкозы, 2-меркаптоэтанола, 1-тиоглицерина, тиодигликоля, гидроксимасляной кислоты, гидроксиметилтриэтоксисилана, фруктозы 6-фосфата и глюкозы 6-фосфата.

4. Применение по любому из пп.1-3, где наночастицы и/или агрегаты наночастиц являются частью композиции, содержащей также фармацевтически приемлемый носитель.

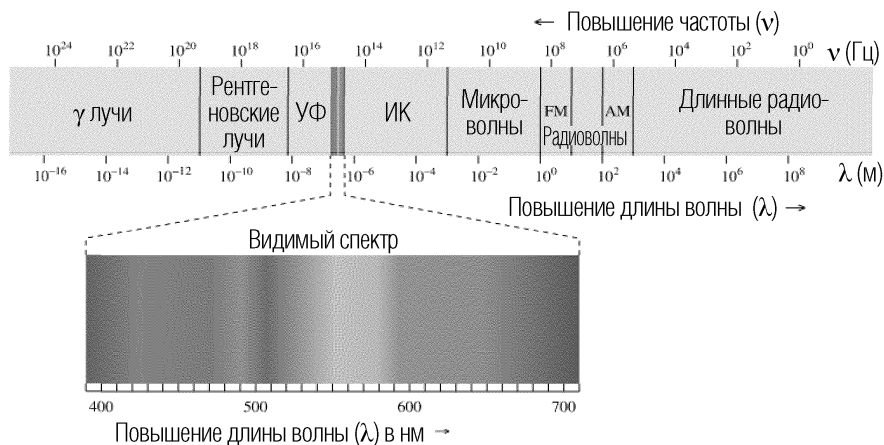
5. Применение по п.4, где композиция содержит по крайней мере две разные наночастицы и/или агрегата наночастиц, причем каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из отдельного материала, выбранного из материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, оптотермическую трансдукцию, оптооптическую трансдукцию, магнитоэлектрическую трансдукцию, магнитотермическую трансдукцию или электроакустическую трансдукцию, и где поверхность наночастицы или агрегата наночастиц покрыта гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц.

6. Набор, содержащий по крайней мере две отдельные наночастицы и/или агрегата наночастиц, причем каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из отдельного материала, выбранного из полупроводникового материала с запрещенной зоной E_g ниже 3,0 эВ в качестве материала, позволяющего оптоэлектрическую трансдукцию, плазмонного металлического материала в качестве материала, позволяющего оптотермическую трансдукцию, легированного лантанидным элементом материала, выбранного из легированного лантанидом оксида, легированного лантанидом смешанного оксида, легированного лантанидом фосфата металла и легированного лантанидом ванадата металла, в качестве материала, позволяющего оптооптическую трансдукцию, $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{BaTiO}_3$ в качестве материала, позволяющего магнитоэлектрическую трансдукцию, суперпарамагнитного материала в качестве материала, позволяющего магнитотермическую трансдукцию, или пьезоэлектрического материала в качестве материала, позволяющего электроакустическую трансдукцию, и где поверхность наночастицы или агрегата наночастиц либо нейтрально заряжена при отсутствии какого-либо покрытия, либо покрыта гидрофильным агентом, придающим нейтральный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц, причем

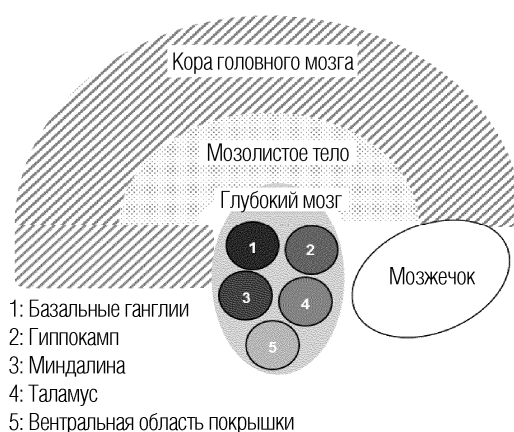
нейтральный заряд составляет примерно от -10 до +10 мВ, при этом поверхностный заряд определяют измерениями ζ -потенциала в воде при концентрации наночастиц от 0,2 до 10 г/л, рН от 6 до 8, и при добавлении электролитов в концентрациях от 0,001 до 0,2М.

7. Применение набора по п.6 для профилактики или лечения нейронной болезни у субъекта модулированием электрической поляризации нейронов у субъекта, где субъекта подвергают воздействию источника света, магнитного поля или источника ультразвука.

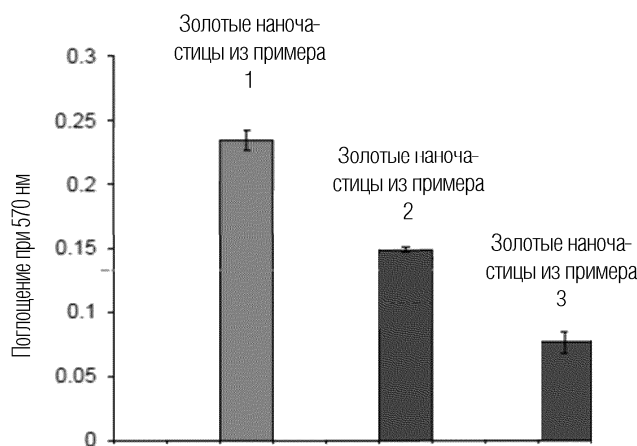
8. Применение по любому из пп.1-5 или 7, где субъектом является человек.



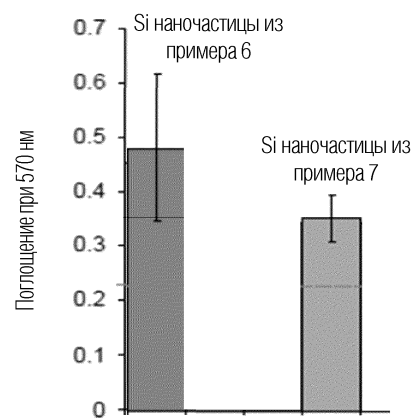
Фиг. 1



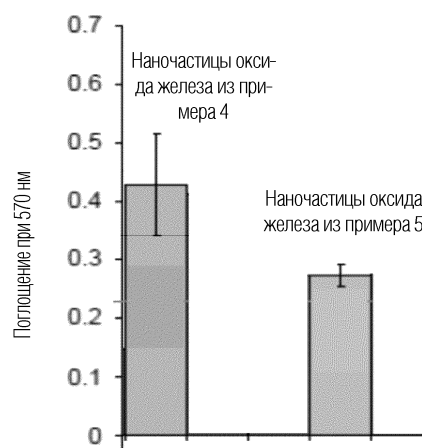
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

