

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **041139**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.09.19

(21) Номер заявки
201890170

(22) Дата подачи заявки
2016.06.29

(51) Int. Cl. *A61K 9/14* (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 38/19 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ, СВЯЗАННЫЕ С ЗАХВАТЫВАЮЩИМИ ЧАСТИЦАМИ

(31) 62/186,838; 62/198,519; 62/198,541;
62/236,507; 62/319,092

(32) 2015.06.30; 2015.07.29; 2015.07.29;
2015.10.02; 2016.04.06

(33) US

(43) 2018.07.31

(86) PCT/US2016/040022

(87) WO 2017/004159 2017.01.05

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НАНОТИКС, ЭлЭлСи (US)

(72) Изобретатель:
Хоторн Луи (US), Додгсон Джон (GB)

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

(56) WO-A1-2016054522
US-A1-2004265392
WO-A2-2014109842
US-A1-2012108787
CAUDA, Valentina et al.: "Multiple core shell functionalized colloidal mesoporous silica nanoparticles", Journal of the American Chemical Society, 2009, 131.32: 11361-11370, DOI: 10.1021/ja809346n, 22 Jul 2009 (2009/07/22), the whole document
ADERKA, Dan et al.: "Increased serum levels of soluble receptors for tumor necrosis factor in cancer patients", Cancer research, 1991, 51.20: 5602-5607, 15 Oct 1991 (1991/10/15), the whole document
WO-A1-2015112842

(57) Изобретение предоставляет, помимо прочего, композиции, которые связываются с растворимыми биомолекулами и ингибируют их биологическую активность, а также фармацевтические композиции. Композиции могут содержать множество частиц, которые специфически связываются с мишенью, такой как растворимая биомолекула или биомолекула на поверхности патогена, для ингибирования способности мишени (или патогена) взаимодействовать с другими молекулами или клетками. Кроме того, в данном документе представлен ряд применений (например, терапевтических применений), где композиции являются полезными.

B1

041139

**041139
B1**

Заявление в отношении приоритета

По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной патентной заявки США № 62/186838, поданной 30 июня 2015 г.; предварительной патентной заявки США № 62/198519, поданной 29 июля 2015 г.; предварительной патентной заявки США № 62/198541, поданной 29 июля 2015 г.; предварительной патентной заявки США № 62/236507, поданной 2 октября 2015 г.; и предварительной патентной заявки США № 62/319092, поданной 6 апреля 2016 г.; каждая из которых включена во всей своей полноте в данное описание посредством ссылки.

Уровень техники

Множество лекарственных средств против злокачественных опухолей, доступных клинически или находящихся в разработке, стимулируют способность иммунной системы распознавать или разрушать злокачественную опухоль или и то, и другое. Три из наиболее известных лекарственных средств представляют собой ингибиторы контрольных точек, в частности такой как ервой (Yervoy® или ипилимумаб) фирмы Bristol-Myers Squibb. Однако эти средства и другие подходы предусматривают общую активацию иммунной системы субъекта, индуцируя потенциально опасные симптомы типа аутоиммунных нарушений и/или других значимых побочных эффектов.

В данной области существует необходимость в более эффективных фармакологических подходах для решения проблемы лечения злокачественных опухолей, в частности метастатических злокачественных опухолей, не нарушая способности субъекта избегать аутоиммунных реакций. В частности, настоящее изобретение предоставляет способы и композиции на основе альтернативных подходов с включением собственной иммунной системы субъекта против злокачественных опухолей, включая растормаживание микроокружения опухоли, т.е. ослабление защитной системы опухоли, а не стимуляцию иммунных клеток.

Сущность изобретения

Изобретение обеспечивает, помимо прочего, композиции, которые связывают и ингибируют биологическую активность биомолекул, особенно растворимых молекул, а также фармацевтические композиции. Кроме того, здесь предложен ряд применений, в которых такие композиции являются полезными. Например, композиция, описанная здесь, может быть использована для ингибирования пролиферации, роста и/или выживаемости клеток, таких как раковые клетки. Кроме того, композиции, описанные в данном документе, являются полезными для профилактики и/или лечения старения, нарушения обмена веществ и нейродегенеративных заболеваний. В другом примере композиции, описанные здесь, могут быть полезны для связывания и нейтрализации токсинов (например, зоотоксинов, бактериальных токсинов и/или растительных токсинов), вирусов или других чужеродных соединений, если они присутствуют в системном кровотоке у субъекта.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 изображен иллюстративный вариант осуществления частицы, которая связывается с растворимыми формами рецептора TNF (sTNF-R). Размер частицы составляет приблизительно один кубический микрометр. Внутренние поверхности частицы содержат иммобилизованный TNF-агент, который способен связываться с sTNF-R как с мишенью, и изолировать (захватывать) его от его природных лигандов, тем самым ингибируя взаимодействие между мишенью, представляющую собой sTNF-R, и другими белками и клетками. Внутренние поверхности частиц определяется границами, внутри которых содержится пустое пространство.

На фиг. 2 изображен иллюстративный вариант осуществления частицы, которая содержит TNF-агент, который связывается с растворимыми формами рецептора TNF (sTNF-R), являющимися для него мишенью. Эти три частицы, показанные на фиг. 2, изображены как имеющие связи с 0, 3 или 10 молекулами мишени sTNF-R. Кольцеобразная частица имеет диаметр приблизительно равный 175 нм, хотя TNF-агент и мишень sTNF-R показаны не в масштабе. Внутренние поверхности частиц содержат иммобилизованный TNF-агент, который способен связываться с мишенью sTNF-R и который способен изолировать (захватывать) его от его природных лигандов, ингибируя тем самым взаимодействие между мишенью sTNF-R и другими белками и клетками. Внутренняя часть кольцеобразной частицы содержит пустое пространство.

На фиг. 3 изображен иллюстративный вариант осуществления частицы, которая содержит выступы. Частица в левой части фигуры представляет собой октаэдр (восьмигранник) с ядром, имеющим наибольший размер от 100 до 150 нм. Частица в правой части фигуры представляет собой икосаэдр с ядром, имеющим наибольший размер от 200 до 300 нм. Каждая частица дополнительно содержит молекулярные выступы, выходящие наружу из вершин многогранной структуры ядра. Частицы изображены как содержащие агент, показанный темно-серым цветом, а некоторые частицы изображены как связанные с мишенью (например, с биомолекулой), что показано светло-серым цветом, которые идентифицированы как 0 или 3 "захвата". Выступы служат в качестве "клеточных отражателей", которые ингибируют взаимодействие между мишенью, связанной с агентом частиц, и клеточными поверхностями. Виды частиц, выступов, агента и связанной мишени на фиг. 3 не обязательно показаны в масштабе.

Фиг. 4 состоит из двух панелей, указанных как панель (А) и панель (В). На панели (А) показана упаковка субчастиц внутри частицы, содержащей субчастицы ядра и защитные субчастицы, где каждая

субчастица имеет по существу сферическую форму и примерно одинаковые размеры. Однако частица может содержать субчастицы различной формы и/или размеров. Кроме того, субчастицы показаны в виде упаковки с гексагональной структурой; однако субчастицы могут быть упакованы случайным образом или иметь другие геометрические структуры. На панели (B) указаны (i) "лиганды захвата" (т.е. агенты), которые иммобилизованы на поверхности ядра субчастиц, (ii) мишени (например, биомолекулы), которые специфически связываются с агентом, и (iii) мишени, находящиеся в заполненных жидкостью пустотах частиц. На панели (B) не показаны защитные субчастицы. Относительные размеры субчастиц, лиганды захвата, мишени и пустоты, показанные на фиг. 4, не обязательно показаны в масштабе.

Фиг. 5 состоит из четырех панелей, указанных как панели (A), (B), (C) и (D). На каждой панели показаны субчастицы, входящие в структуру частиц, где субчастицы ядра показаны серым цветом, а защитные субчастицы показаны белым цветом. Каждая частица содержит 55 субчастиц ядра. На панелях (A) и (B) показан ортогональный вид частиц, изображенных на панелях (C) и (D). На панелях (A) и (C) показаны только субчастицы ядра, а на панелях (B) и (D) показаны субчастицы ядра и некоторые защитные субчастицы. Вся частица, полностью содержащая субчастицы ядра и защитные субчастицы, предпочтительно покрыта по меньшей мере одним слоем защитных субчастиц, который полностью не показан на панелях. На фиг. 5 каждая субчастица ядра и защитная субчастица имеют по существу сферическую форму и примерно одинаковые размеры; однако субчастицы в пределах одной частицы могут иметь различную форму и/или размеры. Кроме того, субчастицы, показанные на фиг. 5, показаны в виде упаковки с гексагональной структурой; однако субчастицы могут быть упакованы с другой геометрией или они могут быть упакованы в случайном порядке. Относительные размеры субчастиц, лигандов захвата, мишеней и пустот на фиг. 5 не обязательно показаны в масштабе. В частности, длина линкеров, соединяющих различные субчастицы, может быть отрегулирована таким образом, чтобы обеспечить более или менее пустое пространство между субчастицами.

Фиг. 6 состоит из четырех панелей, указанных как панели (A), (B), (C), (D), (E) и (F). На каждой панели показана по существу 2-мерная частица. На каждой панели кружки обозначают агент, который иммобилизован на поверхности частицы. По существу 2-мерные частицы могут содержать "пустое пространство", например, между лучами звезды или креста. Панель (A) изображает "вид сверху" частицы в форме креста, а на панели (B) показан ортогональный "вид сбоку" этой крестообразной частицы. "Крестообразная форма" на панели (A) является "по существу 2-мерной формой", и ортогональный "вид сбоку" является третьим измерением, которого не имеет 2-мерная форма. "Вид сбоку" показывает, что по существу 2-мерные частицы могут содержать различные поверхности, т.е. "внутреннюю поверхность", на которой иммобилизован агент (черный цвет), и "наружную поверхность" (т.е. "внешнюю поверхность"), которая по существу свободна от агента (серый цвет). Различные поверхности могут содержать различные материалы, например, частица может быть ламеллярной или различные поверхности могут быть получены, например, путем наложения маски на одну поверхность, в то время как другая поверхность является сшитой с агентом или молекулой покрытия. В зависимости от размера частицы и природы агента и мишени частица крестообразной формы будет в разной степени подавлять (ингибировать) взаимодействие между связанной мишенью (например, биомолекулой) и другими белками или клетками. Геометрию частицы можно регулировать, например, для дальнейшего подавления таких взаимодействий. На панели (C) показана частица с геометрией 6-лучевой остроконечной звезды, которая может подавлять взаимодействие между связанной мишенью и другими белками или клетками в большей степени, чем крестообразная частица, показанная на панели (A). На панели (D) показана 3-лучевая звезда, которая может в минимальной степени ингибировать взаимодействие между связанной мишенью и другими белками или клетками. Тем не менее частицы с геометрией 3-лучевой звезды могут быть модифицированы, чтобы подавлять взаимодействие между связанной мишенью и другими белками или клетками в большей степени. Например, на панели (E) показана частица с геометрией 3-лучевой звезды, где материал, который по существу свободен от агента, окружает частицу, и на панели (F) показана частица, содержащая элементы с геометрией 3-лучевой звезды (т.е. включающая четыре 3-лучевые звезды), имеющую наружную поверхность, которая по существу свободна от агента.

Подробное описание

Изобретение относится к композициям и способам изоляции растворимых биомолекул от их природного окружения, например, для ингибирования, таким образом, биологической активности растворимых биомолекул. Например, изобретению предоставляет частицу или множество частиц с поверхностью, содержащей агент (например, иммобилизованный на поверхности частицы), который селективно связывается с растворимой биомолекулой. После связывания растворимой биомолекулы с агентом частица изолирует ее, и при этом происходит ограничение способности растворимой биомолекулы (например, существенное ограничение способности или отсутствие способности) взаимодействовать с другими природными партнерами по связыванию растворимой биомолекулы. Таким образом, растворимая биомолекула становится инертной.

Биомолекула.

Как правило, растворимая биомолекула является первым участником пары со специфическим связыванием. Как используется в настоящем документе, "партнер по связыванию", "партнер по специфиче-

скому связыванию" или "участник пары специфического связывания", как правило, включают любого участника пары участников связывания, которые связываются друг с другом со значительной аффинностью и значительной специфичностью. Пара партнеров по связыванию, помимо прочего, может связываться друг с другом, исключая из связывания в значительной степени по меньшей мере большинства или по меньшей мере по существу всех других компонентов, присутствующих в образце, и/или эта пара может обладать константой диссоциации менее чем приблизительно 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} или 10^{-8} М. Пара партнеров по связыванию может "соответствовать" друг другу предсказуемым образом, что связано со множеством атомных взаимодействий, которые совместно увеличивают специфичность и аффинность связывания. Партнеров по связыванию наряду с другими способами можно получать из биологических систем (например, при взаимодействии рецептор-лиганд) на основе химических взаимодействий и/или посредством технологии молекулярного импринтинга. Иллюстративные соответствующие пары партнеров по связыванию, также называемые парами специфического связывания, представлены в табл. 1 с произвольными и взаимозаменяемыми обозначениями "первый" и "второй".

Как используется в настоящем документе, термин "биомолекула" относится к любой молекуле, которая может проявлять свое действие в живом организме. В определенных вариантах осуществления биомолекула представляет собой атом, такой как литий или свинец (в частности, биомолекула может представлять собой катион металла). В определенных вариантах осуществления изобретения биомолекула не является атомом или ионом металла. Например, биомолекула может представлять собой такую молекулу, как органическое соединение или неорганическое соединение. В определенных вариантах осуществления изобретения биомолекула представляет собой лекарственное средство, такое как варфарин или дабигатран. Биомолекула может представлять собой психоактивное лекарственное средство, такое как диацетилморфин. Биомолекула может представлять собой отравляющее вещество, токсин или яд. Биомолекула может представлять собой аллерген. Биомолекула может представлять собой канцероген. Биомолекула может представлять собой средство химического оружия, такое как отравляющее средство нервно-паралитического действия.

Биомолекула может представлять собой молекулу, которая является эндогенной для организма, такую как гормон, цитокин, нейромедиатор, растворимый внеклеточный рецептор, антитело или растворимый белок матрикса. Биомолекула может представлять собой пептид, полипептид, белок, нуклеиновую кислоту, углевод или сахар. Биомолекула может содержать пептид, полипептид, белок, нуклеиновую кислоту, углевод или сахар. Биомолекула может представлять собой неправильно уложенный белок. Биомолекула может представлять собой амилоид или растворимый предшественник амилоида. Термины "полипептид", "пептид" и "белок" используются здесь взаимозаменяемо, и они означают любую связанную в пептид цепь аминокислот вне зависимости от длины или посттрансляционных модификаций. Биомолекула может представлять собой липид, стероид или холестерин. Биомолекула может содержать липид, стероид или холестерин. Биомолекула может быть циркулирующей внеклеточной нуклеиновой кислотой, такой как циркулирующей внеклеточной РНК. Биомолекула может представлять собой микро-РНК (миРНК).

Биомолекула может представлять собой биомолекулу, которая секретируется клеткой (например, клеткой млекопитающего).

Биомолекула может представлять собой внеклеточную область мембранного белка, который при расщеплении образует растворимую форму. Биомолекула может представлять собой цитозольную биомолекулу. Например, биомолекула может быть цитозольной биомолекулой, которая высвобождается в условиях *in vivo* при апоптозе, или, когда частица используется в способе, выполняемом в условиях *in vitro*, цитозольная биомолекула может находиться в свободном виде в растворе.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения биомолекула представляет собой растворимую биомолекулу. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения мишень представляет собой растворимую биомолекулу. Однако частицы могут быть нацелены на биомолекулы-мишени, которые не являются растворенными в водном растворе и/или которые не взаимодействуют с партнерами связывания на поверхности клетки. Например, частица может специфически связываться с биомолекулой, которая связана с белковым агрегатом, таким как амилоидный агрегат или прионный агрегат. Такие частицы могут оказывать терапевтический эффект путем разрушения агрегата (например, путем сдвига термодинамического равновесия стабильных агрегированных состояний) и/или путем изолирования агрегата (например, для ингибирования дальнейшей агрегации и/или для обеспечения выведения связанного агрегата). Аналогичным образом частица может специфически связываться с кристаллической формой кальция или гидроксиапатита. Аналогичным образом частица может специфически связываться с биомолекулой, которая связана с вирусом или клеткой, такой как бактериальная клетка, клетка простейших, клетка грибов или дрожжевая клетка, например, когда биомолекула не является растворенной в водном растворе, но когда биомолекула входит в состав мембраны, клеточной стенки или капсида. Таким образом, частица может изолировать патогенный вирус или клетку, ослабляя тем самым патогенность вируса или клетки. Частица может специфически связываться с биомолекулой, которая связана с внеклеточной везикулой, такой как экзосома, экзосома, шеддинг везикула или апоптотическое тело. Частица может специфически связываться с липопротеином низкой плотности, напри-

мер, для изоляции частиц липопротеинов низкой плотности.

Биомолекула может представлять собой лиганд рецептора клеточной поверхности. Лиганд может представлять собой природный лиганд или синтетический лиганд. Лиганд может представлять собой природный лиганд рецептора (например, лиганд, который продуцируется у субъекта в условиях *in vivo*) или неприродный лиганд (например, лиганд, который проникает в субъекта или который вводят субъекту, такой как вирус или лекарственное средство). Биомолекула может представлять собой лиганд цитозольного рецептора или ядерного рецептора.

Таблица 1

Примеры пар специфического связывания

<u>Первый партнер по связыванию</u>	<u>Второй партнер по связыванию</u>
Рецептор клеточной поверхности (например, рецептор TNF)	Природный лиганд (например, TNF α)
Белок капсида или оболочки вируса (например, gp120 ВИЧ-1)	Соответствующий клеточный рецептор (например, CD4)
Токсин ботулизма	Рецептор синаптотагмина II клеточной поверхности
Растворимый рецептор (например, растворимый TNFR или растворимый рецептор IL-2)	Природный лиганд (например, TNF α или IL-2)

Известно, что опухолевые клетки защищают себя от иммунологического надзора хозяина, выделяя в среду растворимые формы рецепторов цитокинов, которые связываются с цитокинами, продуцируемыми иммунными клетками в микроокружении опухоли. Например, злокачественные клетки выделяют в среду растворимые формы рецептора TNF и других рецепторов цитокинов, таких как рецептор IL-2 и рецептор TRAIL. Эти растворимые рецепторы обеспечивают злокачественным клеткам преимущество в росте, избавляя клетки от проапоптотического действия TNF α , IL-2 и TRAIL. Karpatova et al. сообщили о выделении злокачественными клетками в среду рецептора ламинина человек 67 кДа, что может усиливать инвазивность и метастазирование опухоли (J. Cell. Biochem., 60(2):226-234 (1996)). Таким образом, частицы, описываемые в настоящем документе, можно конструировать для захвата растворимых форм рецепторных белков клеточной поверхности, например, для применения при лечении злокачественной опухоли.

Таким образом, в определенных вариантах злокачественная клетка экспрессирует рецепторный белок клеточной поверхности и/или рецепторный белок клеточной поверхности представляет собой белок, который злокачественная клетка выделяет в среду в виде растворимой формы рецепторного белка клеточной поверхности. В определенных вариантах рецепторный белок клеточной поверхности при активации индуцирует апоптоз (например, рецептор смерти). В определенных вариантах рецепторный белок клеточной поверхности представляет собой белок рецептора фактора некроза опухоли (TNFR) (например, TNFR-1 или TNFR-2). В определенных вариантах рецепторный белок клеточной поверхности представляет собой рецепторный белок Fas. В определенных вариантах рецепторный белок клеточной поверхности представляет собой белок рецептора родственного TNF индуцирующего апоптоз лиганда (TRAILR), белок рецептора 4-1BB, белок CD30, белок рецептора EDA, белок HVEM, белок рецептора лимфотоксина бета, белок DR3 или белок рецептора TWEAK. В определенных вариантах рецепторный белок клеточной поверхности представляет собой белок рецептора интерлейкина, например белок рецептора IL-2. Следует понимать, что в таких вариантах растворимая биомолекула-мишень может представлять собой растворимую форму рецептора клеточной поверхности, который, например, выделяется из злокачественной клетки.

В некоторых вариантах биомолекула представляет собой растворимый Tim3 ("Т-клеточный Ig мучин 3"). Растворимый Tim3 (sTim3) участвует в аутоиммунных заболеваниях и раке, а также повышенный уровень sTim3 связан с ВИЧ-инфекцией. Связывание белка галектин 9 (Galectin 9 или Gal9) и других потенциальных лигандов с Tim3 в гетеродимерный ассоциат с CEACAM1 приводит к ингибированию Т-клеточных реакций, а также совместное блокирование Tim3 и CEACAM1 приводит к противоопухолевому иммунному ответу. Соответственно биомолекулы могут представлять собой sTim3 или природный лиганд для sTim3, такой как Tim3L или Gal9. Биомолекулы могут быть растворимыми изоформами CEACAM1. Таким образом, частицы могут быть адаптированы для захвата sTim3, а не ингибировать взаимодействия между Gal9 и связанным с мембраной Tim3 (mTim3). Аналогично агент может представлять собой sTim3, селективное для sTim3 антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент) или лиганд для Tim3. Агент может представлять собой природный лиганд для CEACAM1 (например, Gal9 или его вариант) либо антитело, селективное в отношении CEACAM1 или его растворимой изоформы. Любая из

вышеуказанных частиц может быть использована, например, в способах лечения рака, ВИЧ-инфекции и аутоиммунного заболевания, такого как трансплантат-против-хозяина.

В некоторых вариантах биомолекулы могут представлять собой галектин 9 (Gal9). Частица может содержать агент, селективный в отношении Gal9, такой как природный лиганд для Gal9, в частности Tim3, или его вариант, или антитело, селективное в отношении Gal9. Таким образом, частицы могут быть адаптированы для связывания Gal9, а не ингибировать взаимодействия связанного с мембраной Gal9 (mGal9) со связанным с мембраной Tim3 (mTim3). В некоторых вариантах биомолекула может представлять собой растворимую изоформу CEACAM1 (sCEACAM1). Агент может представлять собой природный лиганд для sCEACAM1, такой как Gal9, или его вариант, или антитело, селективное в отношении CEACAM1 или растворимой изоформы CEACAM1.

В некоторых вариантах биомолекула представляет собой растворимый CTLA4. Растворимый CTLA4 (sCTLA4) был вовлечен в развитие рака, и антитела, активные против SCTLA4, но не против связанного с мембраной CTLA4 (mCTLA4), являются эффективными в животных моделях рака. В некоторых вариантах биомолекула представляет собой SCTLA4. Агент может представлять собой природный лиганд для CTLA4, такой как растворимый B7-1 или растворимый B7-2, или их варианты, или антитело, селективное в отношении CTLA4, такое как ипилимумаб или тицилимумаб. Таким образом, частицы могут быть адаптированы для связывания SCTLA4 без ингибирования взаимодействия между лигандами и mCTLA4. Таким путем sCTLA4 могут быть удалены из микроокружения опухоли (ТМЕ) и/или из циркуляции за пределами ТМЕ, оставляя mCTLA4 свободным для взаимодействия в виде части нормального иммунного ответа. Частицы, которые нацелены на SCTLA4, могут быть использованы, например, в способах лечения рака.

Растворимый PD-1 (SPDL) участвует в аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит. Избыток SPDL может нарушить баланс между PD1 и его лигандами PD-L1 и PD-L2, что приводит к аутоиммунной реакции. Таким образом, биомолекулой могут быть SPDL. Агент может представлять собой природный лиганд для SPDL, например PD-L1, PD-L2, или его варианты, или антитело, селективное в отношении PD1, такое как лекарственное средство для блокады PD1, например ниволумаб, пидилизумаб или пембролизумаб (Keytruda®). Таким образом, частица может быть приспособлена для захвата SPDL без ингибирования взаимодействия PD-L1 или PD-L2 со связанным с мембраной PD1. Такие частицы могут быть использованы, например, в способах лечения аутоиммунных заболеваний, таких как артрит.

LAG-3 представляет собой поверхностный рецептор Т-клеток, который, будучи связанным с его лигандом, приводит к ингибированию. Растворимые формы LAG-3 (sLAG3) коррелируют с аутоиммунитетом, например, при диабете типа I и в других аутоиммунных заболеваниях. Биомолекула может представлять собой sLAG3. Агент может представлять собой природный лиганд sLAG3, или его вариант, или антитело, селективное в отношении sLAG3. Таким образом, частица может быть приспособлена для захвата sLAG3 без ингибирования взаимодействия между лигандами и со связанным с мембраной LAG3. Такие частицы могут быть использованы, например, в способах лечения аутоиммунных заболеваний, таких как диабет I типа.

Биомолекула может представлять собой TNF α . Агент может содержать антитело против TNF α , такое как инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб, афелимомаб, нерелимомаб, озорализумаб или голимумаб, или агент может содержать антигенсвязывающий фрагмент антитела против TNF α . Агент может быть этанерцептом.

Агент может представлять собой растворимый рецептор TNF α (sTNF-R или его вариант). Частицы, нацеленные на TNF α , могут быть особенно полезными для лечения или профилактики различных аутоиммунных заболеваний, таких как анкилозирующий спондилит, болезнь Крона, гнойный гидраденит, псориаз, бляшковидный псориаз, псориатический артрит, трудноизлечимая астма, ювенильный идиопатический артрит, язвенный колит и ревматоидный артрит. Частицы, нацеленные на TNF α , также могут быть полезны для лечения или профилактики болезни Альцгеймера, сердечнососудистых заболеваний, диабета типа II, мышечной дистрофии и ожирения, наряду с другими заболеваниями и состояниями.

Биомолекула может представлять собой β 2 микроглобулин (B2M). Агент может представлять собой антитело против B2M. Частицы, нацеленные на B2M, могут быть полезны для лечения или профилактики потери памяти, снижения когнитивных функций, заболеваний периферических артерий, связанного с диализом амилоидоза, хронического лимфолейкоза, множественной миеломы и лимфомы, в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой CCL2 (лиганд 2 хемокинов с C-C мотивом). Агент может представлять собой антитело против CCL2. Частицы, нацеленные на CCL2, могут быть полезны для лечения или профилактики болезни Альцгеймера, атеросклероза, ишемии миокарда (например, ишемического инсульта), эпилепсия, рассеянного склероза, псориаза, ревматоидного артрита, гломерулонефрита и черепно-мозговой травмы в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой CCL11 (хемокин 11 с мотивом C-C; эотаксин 1). Агент может представлять собой антитело против CCL11. Частицы, нацеленные на CCL11, могут быть полезны

для лечения или профилактики потери памяти и снижения когнитивных функций в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой CCL19. Агент может представлять собой антитело против CCL19. Частицы, нацеленные на CCL19, могут быть полезны для лечения или профилактики старения и снижения когнитивных функций в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой гамма-интерферон (INF γ). Агент может содержать антитело против INF γ , такое как фонтोलизумаб, или растворимый рецептор INF γ (sINF γ R). Биомолекула может быть растворимым рецептором INF γ . Агент может содержать INF γ или антитело против sINF γ R. Частицы, нацеленные на гамма-интерферон, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики аутоиммунных заболеваний, таких как болезнь Крона, ревматоидный артрит и псориаз, в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой кластерин (например, секреторный кластерин, изоформу 2). Агент может содержать антитело против кластерина или его антигенсвязывающий фрагмент. Частицы, нацеленные на кластерин, могут быть полезны для лечения или профилактики рака (например, рака шеи, почечноклеточного рака, колоректального рака, рака эндометрия, рака яичника, рака молочной железы, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, рака легкого, гепатоцеллюлярного рака или меланомы), заболевания почек (например, нефропатического циститоза), синдрома Фанкони, гломерулонефрита, атеросклероза и инфаркта миокарда в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой белок группы высокой мобильности бокса 1 (HMGB1). Агент может содержать антитело против HMGB1 или его антигенсвязывающий фрагмент. Биомолекула может представлять собой белок теплового шока (например, HSP60, HSP70, HSP90). Агент может содержать антитело против HSP или его антигенсвязывающую часть. Биомолекула может представлять собой пероксиредоксин (например, пероксиредоксин 1 или пероксиредоксин 2). Агент может содержать антитело против пероксиредоксина или его антигенсвязывающий фрагмент.

Агент может представлять собой внеклеточную часть фагоцитарного рецептора (скавенджер-рецептора), таких как фагоцитарный рецептор класса А (например, SCARA1 (фагоцитарный рецептор 1 макрофагов; MSR1; CD204), SCARA2 (рецептор макрофага; MARKO), CKARA3, SCARA4 (COLEC12), SCARA5), фагоцитарный рецептор класса В (например, SCARB1, SCARB2, SCARB3 (CD36)), CD68, муцин или лектиноподобный рецептор-1 окисленного LDL (LOX-1).

Биомолекула может представлять собой инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), или белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста (например, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6). Агент может представлять собой инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) или белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста (например, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6). Агент может представлять собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, селективно связывающий инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), или белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста (например, IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6).

Агент может представлять собой антитело, которое селективно связывает внеклеточный эпитоп CD63, CD9 или CD81. Частицы, нацеленные на CD63, CD9 и/или CD81, могут быть особенно полезны для захвата внеклеточных везикул, таких как эктосома, экзосома, шеддинг-везикула или апоптотическое тело. Частицы, которые захватывают различные внеклеточные везикулы, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики рака (например, прогрессирующего рака, который коррелирует с шеддингом везикул).

Биомолекула может представлять собой CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL4L1, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL16, CXCL17, CCL1, CCL2, CCL3, CCL3L1, CCL3L3, CCL4, CCL4L1, CCL4L2, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, XCL1, XCL2 или CX3CL1 (см., например, Zlotnik A., Yoshie O., *Immunity*, 36(5):705 (2012)). Агент может содержать антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент), которое специфически связывает CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL4L1, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL16, CXCL17, CCL1, CCL2, CCL3, CCL3L1, CCL3L3, CCL4, CCL4L1, CCL4L2, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, XCL1, XCL2 или CX3CL1.

Биомолекула может представлять собой интерлейкин 1, интерлейкин 1 альфа, интерлейкин 1 бета, интерлейкин 2, интерлейкин 3, интерлейкин 4, интерлейкин 5, интерлейкин 6, интерлейкин 7, интерлейкин 8, интерлейкин 9, интерлейкин 10, интерлейкин 11, интерлейкин 12, интерлейкин 13, интерлейкин 14, интерлейкин 15, интерлейкин 16, интерлейкин 17, интерлейкин 18, интерлейкин 19, интерлейкин 20, интерлейкин 21, интерлейкин 22, интерлейкин 23, интерлейкин 24, интерлейкин 25, интерлейкин 26, интерлейкин 27, интерлейкин 28, интерлейкин 29, интерлейкин 30, интерлейкин 31, интерлейкин 32, интерлейкин 33, интерлейкин 35, интерлейкин или 36. Агент может содержать антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент), которое специфически связывает интерлейкин 1, интерлейкин 1 альфа, интерлей-

кин 1 бета, интерлейкин 2, интерлейкин 3, интерлейкин 4, интерлейкин 5, интерлейкин 6, интерлейкин 7, интерлейкин 8, интерлейкин 9, интерлейкин 10, интерлейкин 11, интерлейкин 12, интерлейкин 13, интерлейкин 14, интерлейкин 15, интерлейкин 16, интерлейкин 17, интерлейкин 18, интерлейкин 19, интерлейкин 20, интерлейкин 21, интерлейкин 22, интерлейкин 23, интерлейкин 24, интерлейкин 25, интерлейкин 26, интерлейкин 27, интерлейкин 28, интерлейкин 29, интерлейкин 30, интерлейкин 31, интерлейкин 32, интерлейкин 33, интерлейкин 35, интерлейкин или 36. Агент может содержать растворимый рецептор интерлейкина 2, растворимый рецептор интерлейкина 3, растворимый рецептор интерлейкина 4, растворимый рецептор интерлейкина 5, растворимый рецептор интерлейкина 6, растворимый рецептор интерлейкина 7, растворимый рецептор интерлейкина 9, растворимый рецептор интерлейкина 10, растворимый рецептор интерлейкина 11, растворимый рецептор интерлейкина 12, растворимый рецептор интерлейкина 13, растворимый рецептор интерлейкина 15, растворимый рецептор интерлейкина 20, растворимый рецептор интерлейкина 21, растворимый рецептор интерлейкина 22, растворимый рецептор интерлейкина 23, растворимый рецептор интерлейкина 27 или растворимый рецептор интерлейкина 28. Агент может быть растворимым ST2, который связывает интерлейкин 33.

Биомолекула может представлять собой растворимый рецептор интерлейкина 2, растворимый рецептор интерлейкина 3, растворимый рецептор интерлейкина 4, растворимый рецептор интерлейкина 5, растворимый рецептор интерлейкина 6, растворимый рецептор интерлейкина 7, растворимый рецептор интерлейкина 9, растворимый рецептор интерлейкина 10, растворимый рецептор интерлейкина 11, растворимый рецептор интерлейкина 12, растворимый рецептор интерлейкина 13, растворимый рецептор интерлейкина 15, растворимый рецептор интерлейкина 20, растворимый рецептор интерлейкина 21, растворимый рецептор интерлейкина 22, растворимый рецептор интерлейкина 23, растворимый рецептор интерлейкина 27 или растворимый рецептор интерлейкина 28. Агент может содержать антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент), которое специфически связывает растворимый рецептор интерлейкина 2, растворимый рецептор интерлейкина 3, растворимый рецептор интерлейкина 4, растворимый рецептор интерлейкина 5, растворимый рецептор интерлейкина 6, растворимый рецептор интерлейкина 7, растворимый рецептор интерлейкина 9, растворимый рецептор интерлейкина 10, растворимый рецептор интерлейкина 11, растворимый рецептор интерлейкина 12, растворимый рецептор интерлейкина 13, растворимый рецептор интерлейкина 15, растворимый рецептор интерлейкина 20, растворимый рецептор интерлейкина 21, растворимый рецептор интерлейкина 22, растворимый рецептор интерлейкина 23, растворимый рецептор интерлейкина 27 или растворимый рецептор интерлейкина 28. Агент может представлять собой интерлейкин 2, интерлейкин 3, интерлейкин 4, интерлейкин 5, интерлейкин 6, интерлейкин 7, интерлейкин 9, интерлейкин 10, интерлейкин 11, интерлейкин 12, интерлейкин 13, интерлейкин 15, интерлейкин 20, интерлейкин 21, интерлейкин 22, интерлейкина 23, интерлейкин 27 или интерлейкин 28.

Биомолекула может представлять собой эпинефрин, норадреналин, мелатонин, серотонин, триптофан или тироксин. Биомолекула может представлять собой простагландин (например, простаглицин (PGI₂), простагландин E₂ (PGE₂), простагландин F_{2a} (PGF_{2a})), лейкотриен, простаглицин или тромбосан. Биомолекула может представлять собой тестостерон, дегидроэпиандростерон (DHEA), андростендион, дигидротестостерон (DHT), альдостерон, эстрон, эстрадиол, эстриол, прогестерон, кортизол, кальцитриол или кальцитриол.

Биомолекула может представлять собой амилин, адипонектина, адренокортикотропный гормон, ангиотензиноген, ангиотензин I, ангиотензин II, антидиуретический гормон (вазопрессин), апелин, предсердный натрийуретический пептид, мозговой натрийуретический пептид, кальцитонин, хемерин, холецистокинин, кортикотропин высвобождающий гормон, кортистатин, энкефалин, эндотелин, эритропоэтин, фолликулостимулирующий гормон, галанин, желудочный ингибирующий полипептид, гастрин, грелин, глюкагон, глюкагоноподобный пептид-1, гонадотропин высвобождающий гормон, рилизинг гормон гормона роста, гепсидин, человеческий хорионический гонадотропин, человеческий плацентарный лактоген, гормон роста, ингибин, инсулин, инсулиноподобный фактор роста (соматомедин, например, IGF-I), лептин, липотропин, лютеинизирующий гормон, меланоцитстимулирующий гормон, мотилин, орексин, окситоцин, панкреатический полипептид, паратиреоидный гормон, питуитарный пептид, активирующий аденилатциклазу, пролактин, пролактин высвобождающий гормон, релаксин, ренин, секретин, соматостатин, тромбопоэтин, тиреотропный гормон (тиреотропин), тиролиберин или вазоактивный кишечный пептид. Агент может содержать антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент), которое специфически связывает амилин, адипонектин, адренокортикотропный гормон, апелин, ангиотензиноген, ангиотензин I, ангиотензин II, антидиуретический гормон (вазопрессин), предсердный натрийуретический пептид, мозговой натрийуретический пептид, кальцитонин, хемерин, холецистокинин, кортикотропин высвобождающий гормон, кортистатин, энкефалин, эндотелин, эритропоэтин, фолликулостимулирующий гормон, галанин, желудочный ингибирующий полипептид, гастрин, грелин, глюкагон, глюкагоноподобный пептид-1, гонадотропин высвобождающий гормон, рилизинг гормон гормона роста, гепсидин, человеческий хорионический гонадотропин, человеческий плацентарный лактоген, гормон роста, ингибин, инсулин, инсулиноподобный фактор роста (соматомедин, например, IGF-I), лептин, липотропин, лютеинизирующий гормон, меланоцитстимулирующий гормон, мотилин, орексин, окситоцин, панкреатический полипептид, паратиреоидный гормон, питуитарный пептид, активирующий аденилатцик-

лазу, пролактин, пролактин высвобождающий гормон, релаксин, ренин, секретин, соматостатин, тромбопоэтин, тиреотропный гормон (тиреотропин), тиролиберин или вазоактивный кишечный пептид.

Биомолекула может представлять собой фактор роста эндотелия сосудов А (VEGF-A). Агент может содержать антитело, которое специфически связывает VEGF-A, такое как бевацизумаб или бролуцизумаб или его антигенсвязывающий фрагмент, такой как ранибизумаб. Например, агент может представлять собой афлиберсепт. Частицы, которые нацелены на VEGF-A, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики дегенерации желтого пятна (например, влажной дегенерация желтого пятна), пролиферативной диабетической ретинопатии, неоваскулярной глаукомы, макулярного отека, рака (например, колоректального рака, рака легких, рака простаты, рака молочной железы, рака почки, рака головного мозга), бронхиальной астмы, сахарного диабета, ишемической кардиомиопатии и ишемии миокарда, в дополнении к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может представлять собой растворимый рецептор фактора роста эндотелия сосудов, такой как растворимый рецептор фактор роста эндотелия сосудов 1 (растворимый VEGFR-1), растворимый рецептор фактор роста эндотелия сосудов 2 (растворимый VEGFR-2) или растворимый рецептор фактор роста эндотелия сосудов 3 (растворимый VEGFR-3). Агент может представлять собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое селективно связывает растворимый рецептор VEGF, такие как алацизумаб, икрукумаб или рамуцирумаб. Агент может представлять собой лиганд рецептора VEGF, такой как VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D или плацентарный фактор роста (PGF). Частицы, нацеленные на растворимые рецепторы VEGF, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики рака в дополнение к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может быть членом семейства эпидермальных факторов роста и представлять собой эпидермальный фактор роста (EGF), гепаринсвязывающий EGF-подобный фактор роста (HB-EGF), трансформирующий фактор роста α (TGF- α), амфирегулин (AR), эпирегулин (EPR), эпиген, бетацеллюлин (BTC), нейрегулин-1 (NRG1), нейрегулин-2 (NRG2), нейрегулин-3 (NRG3), или нейрегулин-4 (NRG4). Агент может представлять собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое селективно связывает EGF, HB-EGF, TGF- α , AR, EPR, эпиген, BTC, NRG1, NRG2, NRG3 или NRG4. Агент может содержать растворимый рецептор EGF, такой как растворимый рецептор EGF, растворимый HER2 или растворимый HER3. Частицы, нацеленные на членов семейства эпидермальных факторов роста, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики рака в дополнение к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может быть растворимым рецептором эпидермального фактора роста (рецептором EGF), таким как растворимым рецептором EGF, растворимым рецептором эпидермального фактора роста человека 2 (растворимого HER2) или растворимым рецептором эпидермального фактора роста человека 3 (растворимый HER3). Агент может представлять собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое селективно связывает растворимый рецептор EGF, такое как цетуксимаб, футуксимаб, имгатузумаб, матузумаб, нецитумумаб, нимотузумаб, панитумумаб, залутумумаб, дулиготумаб, патритумаб, эртумаксумаб, пертузумаб или трастузумаб. Агент может представлять собой лиганд рецептора EGF, например такого, как члена семейства EGF, как описано выше. Частицы, нацеленные на растворимые рецепторы EGF, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики рака в дополнение к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может представлять собой антитело IgE. Агент может содержать антитело против IgE, такое как омализумаб или тализумаб, или его антигенсвязывающий фрагмент. Агент может представлять собой внеклеточную часть Fc ϵ RI. Частицы, которые нацелены на антитело IgE, могут быть особенно полезны для лечения хронической спонтанной крапивницы и аллергической астмы в дополнении к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может представлять собой пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9). Агент может представлять собой антитело против PCSK9, такое как алиросумаб, лоделцизумаб, ралпанцизумаб или эволокумаб, или его антигенсвязывающий фрагмент. Частицы, нацеленные на PCSK9, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики гиперхолестеринемии, атеросклероза, ишемии и инфаркта миокарда в дополнении к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может представлять собой аденомедуллин, нейротрофический фактор, выделенный из головного мозга, эритропоэтин, фактор роста фибробластов, фактор роста, выделенный из гепатомы, глюкоза-6-фосфат-изомеразу, фактор роста кератиноцитов, макрофагальный фактор ингибирования миграции, нейротрофин (фактор роста нервов, нейротропный фактор, выделенный из головного мозга, нейротрофин-3, нейротрофин-4), тромбоцитарный фактор роста, фактор роста стволовых клеток, тромбопоэтин, фактор роста Т-клеток, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, плацентарный фактор роста (PGF)) или реналазу. Агент может содержать антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые селективно связывают аденомедуллин, нейротрофический фактор, выделенный из головного мозга, эритропоэтин, фактор роста фибробластов, фактор роста, выделенный из гепатомы, глюкоза-6-фосфат-изомеразу, фактор роста кератиноцитов, макрофагальный фактор ингибирования миграции, нейротрофин (фактор роста нервов, нейротропный фактор, выделенный из головного

мозга, нейротрофин-3, нейротрофин-4), тромбоцитарный фактор роста, фактор роста стволовых клеток, тромбозин, фактор роста Т-клеток, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, плацентарный фактор роста (PGF)) или реналазу.

Биомолекула может представлять собой растворимый рецептор тропомиозина киназы В (растворимый TrkB). Агент может представлять собой антитео против TrkB или его антигенсвязывающий фрагмент. Биомолекула может быть растворимым рецептором тропомиозина киназы А (растворимый TrkA). Агент может представлять собой антитело против TrkA или его антигенсвязывающий фрагмент. Агент может представлять собой нейротрофический фактор, выделенный из головного мозга.

Биомолекула может представлять собой ангиопэтин (например, ангиопэтин 1, ангиопэтин 2, ангиопэтин 3 или ангиопэтин 4) или ангиопэтиноподобный белок (например, ангиопэтиноподобный белок 1, ангиопэтиноподобный белок 2, ангиопэтиноподобный белок 3, ангиопэтиноподобный белок 4, ангиопэтиноподобный белок 5, ангиопэтиноподобный белок 6 или ангиопэтиноподобный белок 7). Агент может представлять собой антитело, которое селективно связывает ангиопэтин (например, ангиопэтин 1, ангиопэтин 2, ангиопэтин 3 или ангиопэтин 4) или ангиопэтин-подобный белок (например, ангиопэтиноподобный белок 1, ангиопэтиноподобный белок 2, ангиопэтиноподобный белок 3, ангиопэтиноподобный белок 4, ангиопэтиноподобный белок 5, ангиопэтиноподобный белок 6 или ангиопэтиноподобный белок 7).

Биомолекула может представлять собой белок хеджехог (например, звуковой хеджехог). Агент может представлять собой антитело, которое селективно связывает белок хеджехог. Частицы, нацеленные на белок хеджехог, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики рака, такого как рак поджелудочной железы, рак мозжечка и медуллобласты, в дополнение к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может представлять собой растворимый антиген лейкоцитов человека (HLA) (например, растворимый HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D, HLA-E, HLA-F или HLA-G (см., например, Bassani-Sternberg, M. et al., *Proceedings National Academy Sciences, USA*, 107(44):18769 (2010))). Агент может представлять собой антитело, которое селективно связывает растворимый антиген лейкоцитов человека (HLA). Агент может представлять собой рецептор растворимого белка, подобного иммуноглобулину клеток-киллеров. Частицы, которые нацелены на растворимый антиген HLA, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики рака в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой изоформу растворимого UL16-связывающего белка (например, растворимого RAET1 (ULBP1; RAET1E2), растворимого RAET1H (ULBP2), растворимого RAET1N (ULBP3), растворимого RAET1E (ULBP4), растворимого RAET1G (ULBP5) или растворимого RAET1L (ULBP6)). Агент может представлять собой антитело, которое специфически связывает изоформу растворимого UL16-связывающего белка или его антигенсвязывающий фрагмент. Агент может быть рецептором растворимого NKG2D (см., например, публикацию заявки РСТ № WO 2006/024367, которая включена сюда во всей своей полноте посредством ссылки).

Биомолекула может представлять собой растворимый MIC-A или растворимый MIC-B (см., например, Groh, V. et al., *Nature*, 419(6908):734 (2002)). Агент может представлять собой антитело против MIC-A, или антитело против MIC-B, или антигенсвязывающий фрагмент этих антител. Агент может быть рецептором растворимого NKG2D (см., например, публикации заявки РСТ № WO 2006/024367, которая включена сюда во всей своей полноте посредством ссылки).

Агент может представлять собой рецептор растворимого белка природной цитотоксичности (см., например, Jarahian, M. et al., *PloS Pathogens*, 7(8): e1002195 (2011)).

Биомолекула может представлять собой домен растворимого члена D семейства 2 лектина С-типа (растворимого CLEC2D; растворимого лектиноподобного транскрипта-1 (LLT1)) (см., например, Chalan, P. et al., *PloS One*, 10(7):e0132436 (2015)). Агент может представлять собой антитело, которое селективно связывает растворимый LLT1. Частицы, которые нацелены на растворимый LLT1 могут быть особенно полезны для лечения или профилактики аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой растворимый CD16 (см., например, Hoover, R.G., *J. Clinical Investigation*, 95:241 (1995)). Агент может представлять собой антитело, которое селективно связывает растворимой CD16. Частицы, которые нацелены на растворимый CD16, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики рака в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1), ингибитор активатора плазминогена-2 (PAI-2), тканевой активатор плазминогена, урокиназу, плазминоген, тромбин или α 2-макрोगлобулин. Агент может представлять собой антитело, которое селективно связывает ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1), ингибитор активатора плазминогена-2 (PAI-2), тканевый активатор плазминогена, урокиназу, плазминоген, тромбин или α 2-макрोगлобулин.

Биомолекула может представлять собой фактор XII, фактор XIIa, фактор XI, фактор XIa, фактор IX, фактор IXa, фактор X, фактор Xa, фактора VII, фактора VIIa, фактор XIII, фактор XIIIa, фактор V, протромбин, тромбин, фактор фон Виллебранда, тромбосан А2, фибриноген или фибрин. Агент может пред-

ставлять собой антитело, которое селективно связывает фактор XII, фактор XIIa, фактор XI, фактор XIa, фактор IX, фактор IXa, фактор X, фактор Xa, фактор VII, фактор VIIa, фактор XIII, фактор XIIIa, фактор V, протромбин, тромбин, фактор фон Виллебранда, тромбоспан A2, фибриноген или фибрин.

Биомолекула может представлять собой серпин (например, α 1-антитрипсин, антитрипсин-связанный белок, α 1-антихимотрипсин, каллистратин, ингибитор белка C, транскортин, тироксинсвязывающий глобулин, ангиотензиноген, центерин (GCET1), ингибитор протеазы, связанной с белком Z, васпин, антитромбин, кофактор гепарина II, ингибитор активатора плазминогена 1, нексин из глии (нексин I протеазы), фактор пигментации эпителия, α 2-антиплазмин, ингибитор комплемента-1, нейросерпин, ингибитор активатора плазминогена, 2SERPINA1 или SERPINA2. Агент может содержать антитело, которое селективно связывает серпин, или его антигенсвязывающий фрагмент.

Биомолекула может представлять собой растворимый ST2. Агент может представлять собой интерлейкин 33 или антитело, которое специфически связывает растворимый ST2 (или его фрагмент).

Частицы, которые нацелены на растворимый ST2, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики сердечнососудистых заболеваний, инфаркта миокарда, острого коронарного синдрома и сердечной недостаточности в дополнение к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может представлять собой миостатин (фактор дифференцировки роста 8 (GDF-8)). Агент может представлять собой антитело против миостатина, такое как стамулумаб или тревогрумаб. Агент может быть рецептором активина или его частью, связывающей миостатин, например агент может быть рецептором растворимого активина типа C. Частицы, нацеленные на миостатин, могут быть особенно полезны для лечения мышечной дистрофии, кахексии, саркопении, а также различных форм потери мышечной массы (таких как потеря мышечной массы при нулевой гравитации) в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой грелин. Агент может представлять собой антитело против грелина. Частицы, нацеленные на грелин, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики ожирения, синдрома Прадера-Вилли, наркомании, алкоголизма и устойчивости к лептину (например, генетической устойчивости к лептину).

Биомолекула может представлять собой sLR11 (растворимый SORL1; растворимый SORLA; растворимый SORLA1). Агент может представлять собой антитело против sLR11. Частицы, нацеленные на sLR11, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики ожирения в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой TGF- β (трансформирующий фактор роста бета, например TGF- β 1, TGF- β 2 или TGF- β 3). Агент может представлять собой антитело против TGF- β , такое как фресолимумаб, лерделимумаб или метелимумаб. Агент может содержать TGF- β -связывающий домен рецептора TGF- β . Агент может представлять собой LTBP₁ (бета-связывающий белок 1 латентно-трансформирующего фактора роста), 14-3-3-белок эпсилон (эпсилон белок активации тирозин-3-монооксигеназы/триптофан-5-монооксигеназы, YWHAЕ) или субъединицу I эукариотического фактора 3 инициации трансляции (EIF3I), каждый из которых связывается с TGF- β . Частицы, нацеленные на TGF- β , могут быть особенно полезны для лечения или профилактики склеродермии, идиопатического фиброза легких, заболевания почек, фокального сегментарного гломерулосклероза, кератоконуса, синдрома Марфана, болезни Альцгеймера, снижения когнитивной способности, черепно-мозговой травмы, потери мышечной массы и рака (например, рака почки и меланомы) в дополнение к другим состояниям и заболеваниям.

Биомолекула может представлять собой Wnt (например, Wnt1, Wnt2, Wnt2B, Wnt3, Wnt3A, Wnt4, Wnt5A, Wnt5B, Wnt6, Wnt7A, Wnt7B, Wnt8A, Wnt8B, Wnt9A, Wnt9B, Wnt10A, Wnt10B, Wnt11 или Wnt16). Агент может представлять собой антитело против Wnt. Частицы, нацеленные на Wnt, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики ожирения, сахарного диабета типа II, атеросклероза, кальциевого стеноза аортального клапана, инфаркта, сердечной недостаточности, инсульта и рака (например, рака молочной железы, колоректального рака, рака пищевода, меланомы, рака предстательной железы, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, мезотелиомы, саркомы, глиобластомы или рака яичников) в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой растворимый лиганд Notch (например, растворимый белок Jagged1, растворимый Jagged2, растворимый дельта-подобный лиганд 1 (DLL1), растворимый дельта-подобный лиганд 3 (DLL3) и дельта-подобный лиганд 4 (DLL4)). Агент может представлять собой антитело против лиганда Notch, такое как демцизумаб или энотикумаб, или рецептор растворимого Notch (например, растворимый NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3 или NOTCH4) или его варианты. Частицы, нацеленные на растворимые лиганды Notch, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики атеросклероза, кальциевого стеноза аортального клапана, сердечного приступа, сердечной недостаточности, инсульта и рака (например, рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака почки, немелкоклеточного рака легкого и солидных опухолей) в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Биомолекула может представлять собой растворимый рецептор Notch (например, растворимый NOTCH-1, NOTCH2, NOTCH3 или NOTCH4). Агент может представлять собой антитело против рецеп-

тора Notch, такое как тарекстумаб или бронтистузумаб, или лиганд растворимого Notch. Частицы, нацеленные на рецепторы растворимого Notch, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики атеросклероза, кальциевого стеноза аортального клапана, сердечного приступа, сердечной недостаточности, инсульта и рака (например, рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака почки, немелкоклеточного рака легкого и солидных опухолей) в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Мишенью может быть гидроксипатит или соли кальция (например, кристаллические соли кальция). Агент может представлять собой хелатирующий агент, такой как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), диэтилентриамин пентауксусной кислоты (DTPA), тиосульфат натрия (STS), гексафосфат инозитола или лимонную кислоту. Частицы, нацеленные на гидроксипатит или соли кальция, могут быть особенно полезны для лечения или профилактики атеросклероза, кальциевого стеноза аортального клапана и кальциевого тендинита в дополнении к другим заболеваниям и состояниям.

В некоторых вариантах биомолекула является аутоантителом. Аутоантитело представляет собой антитело, продуцируемое субъектом, которое специфически связывает антиген, продуцируемый субъектом. Аутоантитела связаны со многими различными болезненными состояниями, в том числе с волчанкой. Кроме того, индукция новых аутоантител может быть связана с терапевтическим вмешательством, например, в результате медикаментозной волчанки. Таким образом, может быть использована композиция, содержащая множество частиц, содержащих агент, который селективно связывает один или несколько аутоантител, например, в способе лечения или профилактики волчанки (например, волчанки, вызванной лекарственными средствами). Биомолекула может быть, например, двухцепочечной ДНК аутоантитела или антиядерным аутоантителом.

Частица, нацеленная на аутоантитело, может содержать агент, который является антигеном для аутоантител.

Биомолекула может представлять собой аутоантитело против β -адренорецептора или аутоантителом против мускаринового рецептора M2, например, при профилактике или лечении идиопатической дилатационной кардиомиопатии. В частности, частицы, которые нацелены на аутоантитело против бета адренорецептора или против мускаринового рецептора M2, могут быть введены субъекту с болезнью Чагаса, которая коррелирует с индукцией таких аутоантител (см., например, Herda, L.R. et al., *Br. J. Pharmacol.*, 166(3):847 (2012)). Биомолекула может представлять собой аутоантитело против альфа-1-адренергического рецептора, например, при лечении или профилактике гипертензии (см., например, Luther, H.P. et al., *Hypertension*, 29(2):678 (1997)). Биомолекула может представлять собой аутоантитело против рецептора мускарина типа 3, применяемого, например, при лечении или профилактике синдрома Шегрена (см., например, Lee, B.H. et al., *PLoS One*, 8(1):e53113 (2013)).

Аутоантитела против гормонов и цитокинов могут буферировать концентрацию гормонов и цитокинов, например, путем обратимого связывания с ними, контролируя концентрацию свободных активных видов. Отклонения от здоровых уровней аутоантител может способствовать заболеваниям, возникающим из-за потери цитокинов или гормонального гомеостаза. Например, аутоантитела против IFN γ могут вызвать распространение нетуберкулезных микобактериальных инфекций, аутоантитела против IL-17 связаны с развитием хронического кандидоза слизистой оболочки и аутоантитела против IL-6 связаны с серьезными стафилококковыми или стрептококковыми инфекциями. Аутоантитела к гормону голода грелину могут опосредовать эффективную концентрацию грелина, доступного для связывания с рецептором грелина GHSR1.

В некоторых вариантах биомолекула является аутоантителом. Например, аутоантитела могут быть аутоантителами против IFN γ , против IL-17, против IL-6 или против грелина. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения агент представляет собой природный лиганд аутоантител (например, антиген-мишень для аутоантитела). Так, например, агент может представлять собой IFN γ , IL-17, IL-6 или грелин. В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения пациента с заболеванием, связанным с дисрегуляцией цитокина, таким как аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения настоящее изобретение относится к способу лечения пациента с нарушением обмена веществ, таким как ожирение.

Связывание активина с рецептором активина типа IIВ (ActRIIВ) приводит к атрофии мышц в моделях кахексии. Чрезмерные уровни активина в сыворотке связаны с атрофией мышц и фиброзом в моделях кахексии, которые могут быть реверсированы антителами, которые блокируют сигнал активина А и В/ActRIIВ, и повышенные уровни активина обнаружены в сыворотке у больных раком. Саркопения является прогрессирующим патологическим состоянием, приводящим к потере мышечной массы при старении, и она также связана с чрезмерным сигналом от активина. Таким образом, биомолекула может представлять собой активин (например, активин А или активин В). Агент может представлять собой природный лиганд для активина, такой как белок рецептора активина, такого как ActRIIВ, или его вариант, или антитело против активина. Агент может представлять собой миостатин. В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения пациента с заболеванием, связанным с атрофией мышц, например кахексии или саркопении.

Также специалисту в данной области понятно, что частицы, описываемые в настоящем документе,

также пригодны для захвата широкого спектра мишеней, биологическая активность которых может являться, например, нежелательной. Например, частицы можно конструировать для связывания с компонентами вирусных капсидов или оболочек для изоляции, таким образом, вируса из крови субъекта. В определенных вариантах осуществления частицы можно конструировать для связывания и изоляции токсинов (например, бактериальных токсинов, растительных токсинов и зоотоксинов, таких как один или несколько компонентов змеиного яда) в кровотоке субъекта. В определенных вариантах осуществления частицы можно конструировать для связывания и изоляции низкомолекулярных соединений (например, психоактивных лекарств или низкомолекулярных токсинов) от кровотока субъекта. В таких вариантах осуществления частицы могут быть пригодны для удаления токсинов из организма, например, после укусов змей или насекомых. В определенных вариантах осуществления частицы можно использовать для лечения, предотвращения, задержки начала или снижения тяжести анафилактического шока у субъекта (например, посредством захвата антигена, вызывающего анафилактический иммунный ответ).

В определенных вариантах осуществления мишень ассоциирована с вирусом и представляет собой, например, структурный вирусный белок (такой как белок вирусного капсида или вирусной оболочки), который связывает средство. В таких вариантах осуществления частицы пригодны в качестве противовирусных терапевтических средств, например, для субъекта, инфицированного вирусом, или с риском инфицирования вирусом. Вирус может быть вирусом с оболочкой или без оболочки.

В определенных вариантах осуществления растворимая биомолекула представляет собой низкомолекулярное соединение или макромолекулу. В определенных вариантах осуществления наибольший размер растворимой биомолекулы составляет не более 600 нм (например, менее 550, 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 50 или 25 нм). Например, молекулярный радиус биомолекулы может составлять от приблизительно 1 Å до приблизительно 1 мкм, например от приблизительно 1 Å до приблизительно 100 нм, от приблизительно 1 Å до приблизительно 20 нм, от приблизительно 1 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 1 нм до приблизительно 100 нм или от приблизительно 1 нм до приблизительно 20 нм. Молекулярная масса биомолекулы может составлять от приблизительно 3 а.е.м. до приблизительно 10^7 а.е.м., например от приблизительно 100 а.е.м. до приблизительно 10^7 а.е.м., от приблизительно 3 а.е.м. до приблизительно 10^6 а.е.м., от приблизительно 3 а.е.м. до приблизительно 10^5 а.е.м., от приблизительно 100 а.е.м. до приблизительно 10^6 а.е.м. или от приблизительно 400 а.е.м. до приблизительно 10^6 а.е.м. Биомолекула может иметь молекулярную массу от приблизительно 10^5 а.е.м. до приблизительно 10^7 а.е.м.

Как используется в настоящем документе, термины "специфическое связывание", "специфически связывает", "селективное связывание", "селективно связывает" и подобные грамматические обороты относятся к двум молекулам, формирующим комплекс, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Как правило, связывание считают специфическим, когда константа ассоциации (k_a) превышает $10^6 \text{ M}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$. Таким образом, первый участник пары со специфическим связыванием может специфически связываться со вторым участником связывающейся пары с k_a по меньшей мере (или более) $10^6 \text{ M}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$ (например, по меньшей мере или более 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} , 10^{14} или $10^{15} \text{ M}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$ или более). В определенных вариантах осуществления константа диссоциации (k_d) селективного взаимодействия является меньшей или равной 10^{-3} с^{-1} (например, 8×10^{-4} , 5×10^{-4} , 2×10^{-4} , 10^{-4} или 10^{-5} с^{-1}).

Специфическое связывание не относится к взаимодействию, что в первую очередь обусловлено неспецифическим электростатическим взаимодействием или неспецифическим гидрофобным взаимодействием, которые могут иметь желательную константу ассоциации. Так, например, нуклеиновые кислоты, которые отрицательно заряжены, могут связываться с катионной частицей с достаточно удобной константой ассоциации, не зависящей от специфического взаимодействия, и такое связывание не является "специфическим связыванием", как определено здесь. Аналогичным образом липид может связываться с гидрофобной частицей с удобной константой ассоциации, не зависящей от специфического взаимодействия, и такое связывание не является "специфическим связыванием", как определено здесь.

В некоторых вариантах биомолекула и частица имеют одинаковый заряд при физиологическом значении pH (7,4). Например, биомолекула может иметь отрицательный заряд и частица может иметь отрицательный заряд либо биомолекула может иметь положительный заряд и частица может иметь положительный заряд. В некоторых вариантах биомолекула и частица имеют противоположные заряды при физиологическом значении pH. Например, биомолекула может иметь положительный заряд, а частица может иметь отрицательный заряд либо биомолекула может иметь отрицательный заряд, а частица может иметь положительный заряд. В некоторых вариантах биомолекулы имеет нейтральный заряд при физиологическом значении pH и/или частица имеет нейтральный заряд при физиологическом значении pH.

Биомолекулы могут иметь изоэлектрическую точку в диапазоне от приблизительно 0 до приблизительно 14. Нуклеиновые кислоты имеют изоэлектрическую точку в диапазоне от приблизительно 4 до приблизительно 7, и, таким образом, биомолекула может иметь изоэлектрическую точку от приблизительно 4 до приблизительно 7. Белок обычно имеет изоэлектрическую точку от приблизительно 4 до приблизительно 10, и, таким образом, биомолекула может иметь изоэлектрическую точку от приблизительно 4 до приблизительно 10. Тем не менее немодифицированные пептиды и белки могут иметь изоэлек-

трическую точку в диапазоне от приблизительно 2,5 (на основе аспартата; $pI \sim 2,8$) до приблизительно 11 (на основе аргинина; $pI \sim 11$), хотя известны белки с изоэлектрическими точками, выходящими за пределы этого диапазона. Соответственно биомолекула может иметь изоэлектрическую точку в диапазоне от приблизительно 2,5 до приблизительно 11. Секретируемые белки и растворимые внеклеточные части мембранных белков, как правило, имеют небольшой отрицательный заряд при физиологическом значении pH, и, таким образом, биомолекула может иметь изоэлектрическую точку от приблизительно 4 до приблизительно 7, например от приблизительно 4 до приблизительно 6. Биомолекула может иметь изоэлектрическую точку от приблизительно 0 до приблизительно 4, от приблизительно 2 до приблизительно 6, от приблизительно 4 до приблизительно 8, от приблизительно 6 до приблизительно 10, от приблизительно 8 до приблизительно 12 или от приблизительно 10 до приблизительно 14. Биомолекула может иметь изоэлектрическую точку от приблизительно 0 до приблизительно 2, от приблизительно 1 до приблизительно 3, от приблизительно 2 до 4, от приблизительно 3 до приблизительно 5, примерно 4 до приблизительно 6, от приблизительно 4 до приблизительно 6, от приблизительно 5 до приблизительно 7, от приблизительно 6 до приблизительно 8, примерно 7 до приблизительно 9, от приблизительно 8 до приблизительно 10, от приблизительно 9 до приблизительно 11, от приблизительно 10 до приблизительно 12, от приблизительно 11 до приблизительно 13 или от приблизительно 12 до приблизительно 14.

В некоторых вариантах K_D селективного взаимодействия является меньшей 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} или 10^{-12} М. Константа равновесия K_D представляет собой отношение кинетических констант скоростей реакций - k_d/k_a . В определенных вариантах K_D селективного взаимодействия составляет менее 1×10^{-9} М.

Как используется в настоящем документе, термин "взаимодействие" при указании взаимодействия между двумя молекулами относится к физическому контакту (например, связыванию) молекул друг с другом. Как правило, такое взаимодействие приводит к активности (обеспечивающей биологическое действие) одной или обеих указанных молекул. Ингибирование такого взаимодействия приводит к нарушению активности одной или нескольких молекул, вовлеченных в это взаимодействие.

Как используется в настоящем документе, термин "ингибирование" и его грамматические эквиваленты относятся к снижению, ограничению и/или блокированию конкретного действия, функции или взаимодействия. В одном из вариантов этот термин относится к снижению уровня продукта или параметра до величины (например, до фонового уровня взаимодействия между двумя участниками пары со специфическим связыванием), которая составляет по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99% или менее от величины в соответствующем контроле. Сниженный уровень продукта или параметра не обязательно, хотя и может, означает абсолютное отсутствие продукта или параметра. Изобретение не требует и не ограничено способами, которые полностью устраняют продукт или обнуляют параметр. Существенное ингибирование может составлять, например, по меньшей мере 50% (например, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% или более) ингибирования взаимодействия двух биомолекул (например, первого и второго участников связывающейся пары).

Способы детекции взаимодействия или определения аффинности одной биомолекулы к другой известны в данной области. Например, связывание двух биомолекул можно детектировать и/или количественно определять рядом способов в качестве неограничивающих примеров таких, как интерферометрия биослоев (BLI), вестерн-блоттинг, дот-блоттинг, способ поверхностного плазмонного резонанса (SPR), твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), анализы AlphaScreen® или AlphaLISA® или способы на основе масс-спектрометрии.

В некоторых вариантах связывание может быть проанализировано с использованием любого анализа SPR, на основе методов, известных в данной области техники для характеристики кинетических параметров взаимодействия двух биомолекул. В способах, описанных в настоящем документе, могут быть использованы любые средства для выполнения SPR анализа из числа доступных на рынке, включая, но без ограничения следующие средства: набор BIAcore (Biacore AB; Uppsala, Sweden); набор IAsys (Affinity Sensors; Franklin, Massachusetts); систему IBIS (Windsor Scientific Limited; Berks, UK), систему SPR-CELLIA (Nippon Laser and Electronics Lab; Hokkaido, Japan) и детектор SPR Detector Spreeta (Texas Instruments; Dallas, Texas) (см., например, Mullett et al., *Methods*, 22:77-91(2000); Dong et al., *Reviews in Mol. Biotech.*, 82:303-323 (2002); Fivash et al., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 9:97-101(1998); and Rich et al., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 11:54-61 (2000)).

В некоторых вариантах биомолекулярные взаимодействия между двумя биомолекулами можно проанализировать с использованием системы BLI on an Octet (ForteBio Inc.). BLI представляет собой оптический аналитический способ без применения меток, в котором определяют связывание лиганда, иммобилизованного на наконечнике биосенсора, и анализируемого вещества в растворе, измеряя изменения плотности слоя белка на наконечнике биосенсора в режиме реального времени.

В некоторых вариантах для характеристики связывания двух биомолекул можно использовать анализы AlphaScreen (PerkinElmer). Аббревиатура ALPHA означает гомогенный анализ усиления люминесценции при сближении. AlphaScreen представляет собой анализ сближения на основе гранул, в котором определяют связывание молекул, связанных с донорными и акцепторными гранулами, измеряя сигнал, продуцируемый при переносе энергии между донорными и акцепторными гранулами. (см. например,

Eglen et al., *Curr. Chem. Genomics*, 1:2-10 (2008)).

В некоторых вариантах осуществления для характеристики связывания двух биомолекул можно использовать анализы AlphaLISA® (PerkinElmer). AlphaLISA представляет собой модифицированную форму анализа AlphaScreen, описанного выше, включающую акцепторные гранулы, содержащие европий, которая применяется в качестве альтернативы традиционным анализам ELISA (см. например, Eglen et al., *Curr. Chem. Genomics*, 1:2-10 (2008)).

Можно использовать ряд способов иммунологического анализа, включая конкурентные и неконкурентные иммунологические анализы. Термин "иммунологический анализ" охватывает способы, включающие без ограничения проточную цитометрию, FACS, иммуноферментные анализы (EIA), такие как способ иммунологического анализа с ферментативным усилением (EMIT), твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), ELISA с захватом антител IgM (MAC ELISA) и иммуноферментный анализ на микрочастицах (MEIA), а также иммунологические анализы с капиллярным электрофорезом (CEIA), радиоиммунологические анализы (RIA), количественный радиоиммунный анализ (IRMA), иммунологические анализы с поляризацией флуоресценции (FPIA) и анализы хемилюминесценции (CL). При желании такие иммунологические анализы можно автоматизировать. Иммунологические анализы также можно использовать в сочетании с индуцируемой лазером флуоресценцией.

Также для использования по настоящему изобретению пригодны липосомные иммунологические анализы, такие как проточно-инъекционные липосомные иммунологические анализы и липосомные иммуносенсорные анализы. Кроме того, для использования в способах по настоящему изобретению пригодны нефелометрические анализы, в которых, например, формирование комплексов биомолекул приводит к увеличенному светорассеянию, которое преобразуется в функцию максимума интенсивности сигнала от концентрации маркера. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения продукты инкубации детектируют посредством ELISA, RIA, иммунофлуоресцентного анализа (FIA) или иммунологического анализа растворимых частиц (SPIA).

В некоторых вариантах связывание двух биомолекул можно оценивать способами термоденатурации, включая дифференциальную сканирующую флуориметрию (DSF) и дифференциальное статическое светорассеяние (DSLS).

В некоторых вариантах связывание двух биомолекул можно оценивать методами на основе масс-спектрометрии, такими как в качестве неограничивающих примеров основанными на аффинной селекции, сопряженной с масс-спектрометрией (AS-MS). Он представляет собой метод без использования метки, в котором инкубируют белок и тестируемое соединение, несвязанные молекулы отмывают, а затем комплексы белок-лиганд анализируют посредством MS с идентификацией лиганда после стадии разрушения комплексов.

В некоторых вариантах связывание двух биомолекул можно количественно определять с использованием, например, меченных детектируемой меткой белков, таких как радиоактивно меченные (например, ³²P, ³⁵S, ¹⁴C или ³H), флуоресцентно меченные (например, FITC) или ферментативно меченные биомолекулы, посредством иммунологического анализа или посредством хроматографической детекции.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к применению анализов поляризации флуоресценции и анализов резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET) при определении, прямым или непрямым способом, степени взаимодействия двух биомолекул.

Частицы.

Как используется в настоящем документе, термин "частица" относится к небольшой массе, которая может содержать определенное количество материала, такого как оксид алюминия, металл (например, золото или платина), стекло, диоксид кремния, латекс, пластик, агароза, полиакриламид, метакрилат или любой другой полимерный материал, и которая может иметь любые размеры и формы. В некоторых вариантах осуществления частица или частицы содержат кремний (см., например, публикации международных патентных заявок WO 2013/011764, WO 2013/029278 и WO 2014/151381 и публикацию патентной заявки США № 2014/0271886, раскрытия которых полностью включено сюда посредством ссылки). В некоторых вариантах частицы могут содержать крахмал или состоят из него (см., например, публикацию международной патентной заявки WO 2010/084088). В некоторых вариантах осуществления частица или частицы состоят из нуклеиновой кислоты (например, из природной или не встречающейся в природе нуклеиновой кислоты). Способы получения таких нуклеиновых кислот на основе микроскопических структур известны в данной области техники и описаны, например, в публикациях Douglas et al., *Nucl. Acids. Res.*, 37 (15):5001-5006 (2009); Douglas et al., *Nature*, 459(7245):414-428 (2009); Voigt et al., *Nat. Nanotechnol.*, 5(3):200-203 (2010); и Endo et al., *Curr. Protoc. Nucleic. Acid Chem. Chapter, 12 (Unit 12.8)* (2011).

В предпочтительных вариантах частица является нерастворимой в водном растворе (например, частица может быть нерастворимой в воде, сыворотке крови, плазме крови, внеклеточной жидкости и/или в межклеточной жидкости). Например, частица может быть отделена от водного раствора путем центрифугирования раствора, содержащего частицу, например, на скоростях, которые достаточны для отделения клеток из клеточной суспензии в водном растворе клеточной суспензии. Однако частицы также могут оставаться в виде суспензии в водном растворе, например, при небольшом встряхивании или пере-

мешивании множества частиц в водном растворе, которое является достаточным для суспендирования частиц в растворе. В некоторых вариантах частица не является гидрогелем. В некоторых вариантах частица не содержит гидрогеля. В некоторых вариантах частица не содержит полимер.

Предпочтительно, когда частица имеет достаточно большой размер, чтобы связываться более чем с одной биомолекулой и ингибировать взаимодействие более чем одной связанной биомолекулой с ее партнером по связыванию. Например, частица может иметь размер от приблизительно 50 нм до приблизительно 10 мкм. Частица может иметь размер от 1 до 5 мкм, от 1,2 до 4 мкм, от 1,5 до 4 мкм или от 2 до 4 мкм.

Частицы с размерами менее 300 нм, например менее 200 нм или менее 150 нм, являются предпочтительными для применений, в которых частицы предназначены для ввода и/или вывода из сосудистой сети субъекта, так как частицы могут быть введены подкожными инъекциями. Однако более крупные частицы также хорошо подходят для подкожной инъекции для реализации методов, в которых частицы не предназначены для попадания в сосудистую сеть. Частицы с размерами от приблизительно 1 мкм до приблизительно 5 мкм являются предпочтительными для применений, в которых частицы предназначены для циркуляции в сосудистой системе субъекта, например, после внутривенного введения. Частицы с размерами более 5 мкм могут быть предпочтительными для применений, в которых частицы предназначены для удержания на месте их имплантации, например, в пределах или вблизи опухоли; однако частицы менее 5 мкм могут также быть пригодны для имплантации. Частицы любого размера могут быть использованы для применения в условиях *in vitro*.

Также здесь предоставлены системы частиц. В некоторых вариантах множество частиц обладает узкой или широкой полидисперсностью. Как используется в настоящем документе, "полидисперсность" относится к показателю диапазона размеров частиц в конкретной группе частиц. Например, очень полидисперсная система может содержать частицы со средним размером, например 1 мкм, но при этом индивидуальные частицы будут иметь размеры в диапазоне от 0,1 до 4 мкм. В некоторых вариантах предпочтительна "узкая полидисперсность". Это значит, что при конкретном среднем размере частиц по изобретению предпочтительно, чтобы отдельные частицы во всем множестве частиц отличались по размеру от среднего размера частиц не более чем на $\pm 20\%$, предпочтительно не более чем на $\pm 15\%$, а наиболее предпочтительно для данного случая не более чем на $\pm 10\%$. Более конкретно средний размер частиц во всем множестве частиц предпочтительно составляет от приблизительно 0,5 мкм до приблизительно 2 мкм и более предпочтительно для данного случая от приблизительно 0,8 мкм до приблизительно 1,5 мкм. Таким образом, если выбран средний размер частицы 1 мкм, то наиболее предпочтительно, когда индивидуальные частицы в этом множестве частиц имеют размер в диапазоне от приблизительно 0,8 мкм до приблизительно 1,2 мкм. В некоторых вариантах средний размер частиц во всем множестве частиц составляет от приблизительно 0,3 мкм до приблизительно 1 мкм, например от приблизительно 0,4 мкм до приблизительно 0,9, от приблизительно 0,5 мкм до приблизительно 0,9 мкм, от приблизительно 0,4 мкм до приблизительно 0,8 мкм, от приблизительно 0,5 мкм до приблизительно 0,7 мкм, от приблизительно 0,3 мкм до приблизительно 0,9 мкм или от приблизительно 0,3 мкм до приблизительно 0,7 мкм.

В некоторых вариантах средний размер частиц во всем множестве частиц составляет от приблизительно 1 мкм до приблизительно 10 мкм, например от приблизительно 1,1 мкм до приблизительно 4,8 мкм, от приблизительно 1,2 мкм до приблизительно 4,6 мкм, от приблизительно 1,4 мкм до приблизительно 4,4 мкм, от приблизительно 1,6 мкм до приблизительно 4,2 мкм, от приблизительно 1,8 мкм до приблизительно 4,0 мкм или от приблизительно 2,0 мкм до приблизительно 3,8 мкм.

В некоторых вариантах здесь предоставлены системы частиц или множество частиц, имеющих определенный средний размер частиц. Используемый здесь термин "средний размер частиц" получен путем измерения размера всех отдельных частиц, а затем деления на общее количество частиц. Определение среднего размера частиц хорошо известно в данной области техники. Как правило, наибольший средний размер частиц составляет не более 4 мкм. В некоторых вариантах, наибольший средний размер частиц не превышает 3,9 мкм (например, не более 3,8, 3,7, 3,6, 3,5, 3,4, 3,3, 3,2, 3,1, 3,0, 2,9, 2,8, 2,7, 2,6, 2,5, 2,4, 2,3, 2,2, 2,1, 2,0, 1,9, 1,8, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,2, 1,1 или 1 мкм). В некоторых вариантах наибольший средний размер частиц не превышает 2,5, 2, 1,5 или 1,25 мкм. В некоторых вариантах наибольший средний размер частиц составляет по меньшей мере 1 мкм, но не более 4 мкм. В некоторых вариантах наибольший средний размер частиц составляет по меньшей мере 1 мкм, но не более 2 мкм. В некоторых вариантах наибольший средний размер частиц составляет по меньшей мере 1 мкм, но не более 1,5 мкм. В некоторых вариантах наибольший средний размер частиц составляет по меньшей мере 0,5 мкм (например, по меньшей мере 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4 или 1,5 мкм), но не более 4,0 мкм (например, не более 3,9, 3,8, 3,7, 3,6, 3,5, 3,4, 3,3, 3,2, 3,1, 3,0, 2,9, 2,8, 2,7, 2,6, 2,5, 2,4, 2,3, 2,2, 2,1, 2, 1,9, 1,8, 1,7 или 1,6 мкм).

В некоторых вариантах частицы представляют собой наночастицы. В некоторых вариантах наибольший средний размер частиц составляет не более 900 нм (например, 850, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400, 450, 400, 350, 300, 250, 200 или 150 нм). В некоторых вариантах частицам приданы форма и размер для циркуляции в крови или в сосудистой системе (например, в артериях, венах и капиллярах)

субъекта (например, человека). Схематическая структура иллюстративных частиц приведены на фиг. 1-6.

В некоторых вариантах осуществления, наибольший размер частиц составляет от приблизительно 50 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 100 нм до приблизительно 4,5 мкм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 300 нм до приблизительно 3,5 мкм, или от приблизительно 400 нм до приблизительно 3 мкм. В некоторых вариантах наименьший размер частиц составляет по меньшей мере приблизительно 300 нм, например от приблизительно 300 нм до приблизительно 4 мкм или от приблизительно 400 нм до приблизительно 3 мкм.

В некоторых вариантах частицы во множестве частиц являются многогранными структурами, например кубическими. В некоторых вариантах частицы во множестве частиц являются сферическими. В некоторых вариантах любая из частиц, описываемых в настоящем документе, может быть пористой. Такие пористые частицы обладают внешней поверхностью и внутренними поверхностями пор частиц. Агент можно иммобилизовать, например, на внутренних поверхностях. В некоторых вариантах размер множества пор в поперечном сечении составляет по меньшей мере 50 нм. В некоторых вариантах размер множества пор в поперечном сечении составляет по меньшей мере 100 нм. Пористые наночастицы описаны, например, в публикациях патентных заявок США US 2014/0199352, US 2008/0277346 и US 2004/0105821, содержание каждой из них полностью включено сюда посредством ссылки. Сферические частицы описаны, например, в патентах США US 8778830 и US 8586096, содержание каждого из них также включено сюда посредством ссылки.

В некоторых вариантах сферические частицы могут дополнительно содержать два пересекающихся выступа на сферической поверхности частицы, где наибольший размер каждой из структур составляет не более 4 мкм (например, не более 3,9, 3,8, 3,7, 3,6, 3,5, 3,4, 3,3, 3,2, 3,1, 3,0, 2,9, 2,8, 2,7, 2,6, 2,5, 2,4, 2,3, 2,2, 2,1, 2,0, 1,9, 1,8, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,2, 1,1 или 1 мкм) и где выступы расположены и ориентированы (i) для ингибирования связывания или активирования рецепторного белка клеточной поверхности агентом, иммобилизованным на поверхности сферической частицы, и/или (ii), когда растворимая биомолекула связана с агентом, для ингибирования взаимодействия растворимой биомолекулы и второго участника пары специфического связывания, где растворима биомолекула является первым участником.

В некоторых вариантах частицы во множестве частиц являются тороидальными. В таких вариантах агент может быть иммобилизован на внутренней кольцевой поверхности частицы (например, вокруг отверстия; см. фиг. 2). В некоторых вариантах диаметр частицы составляет не более 4 мкм (например, 3,9, 3,8, 3,7, 3,6, 3,5, 3,4, 3,3, 3,2, 3,1, 3,0, 2,9, 2,8, 2,7, 2,6, 2,5, 2,4, 2,3, 2,2, 2,1, 2,0, 1,9, 1,8, 1,7, 1,6, 1,5, 1,4, 1,3, 1,2, 1,1 или 1 мкм). В некоторых вариантах диаметр частицы составляет не более 900 нм (например, 850, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450, 400, 350, 300, 200 или 150 нм).

В некоторых вариантах частицы, описанные в настоящем документе, имеют дендритическую форму. Такие частицы описаны, например, в Du et al., Small, 11(4):392-413 (2015); Siegwart, D.J. et al., Proceedings National Academy Sciences, USA, 108(32):12996 (2011); патентах США US 5814272 и US 7932311; и в публикации патентной заявки США US 2004/0166166, описание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Как будет показано ниже, в некоторых вариантах выполнения геометрия дендритных частиц является такой, что агент, иммобилизованный на внутренней поверхности частицы имеет сниженную или значительно сниженную способность взаимодействия с биомолекулой на поверхности клетки, и/или растворимая биомолекула, связанная с частицей с помощью агента, обладает сниженной или значительно сниженной способностью взаимодействовать с распознаваемым ей лигандом (вторым участником пары специфического связывания).

В некоторых вариантах частицы во множестве частиц являются многогранными, например октаэдрическими или икосаэдрическими (см., например, фиг. 3), правильными или неправильными. Частицы могут иметь по меньшей мере один выступ по меньшей мере на одной из вершин (см., например, фиг. 3). Частицы могут иметь более одного (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 или более) выступа на вершинах. Такие выступы могут быть расположены и/или ориентированы, например, (i) для ингибирования связывания или активации рецепторного белка клеточной поверхности агентом, иммобилизованным на поверхности сферической частицы, и/или (ii) когда растворимая биомолекула связана с агентом, то для ингибирования взаимодействия растворимой биомолекулы и второго участника пары специфического связывания, в которой растворимая биомолекула является первым участником.

Частица может иметь пустое пространство, упоминаемое как "пустота" или "пустоты" в данном описании. Пустота это пространство в частице, которое заполнено жидкостью (например, жидкостью, которая может содержать биомолекулы, или газом, например, когда частица находится в сухом состоянии) или остается пустым пространством (например, когда частица находится в вакууме, например, после лиофилизации). Объем пустот частицы может включать в себя, например, объем пор частицы и/или объем внутренней части полой частицы со структурой ядро/оболочка, объем просвета трубки, тора или кольца.

В некоторых вариантах частица имеет такую конфигурацию, что плазма крови может свободно входить и/или выходить из пустого пространства частицы, например, когда частица находится в сосудистой сети субъекта. В некоторых вариантах частица имеет такую конфигурацию, что плазма крови может свободно входить и/или выходить из пустого пространства частицы, например, когда частица находится

в сосудистой сети субъекта. В предпочтительных вариантах частица сконфигурирована таким образом, что клетки крови не могут войти в пустое пространство частицы. В некоторых вариантах частица имеет такую конфигурацию, что тромбоциты не могут войти в пустое пространство частицы. Тем не менее частица может обеспечить возможность тромбоцитам входить в пустое пространство, например, когда частица сконфигурирована для использования в условиях *in vitro* или когда частица сконфигурирована для связывания вирусов, бактерий, протистов, грибов или дрожжевых клеток, или других больших мишеней, таких, как мишени размером от приблизительно 100 нм до приблизительно 2 мкм.

В некоторых вариантах частица имеет такую конфигурацию, что внеклеточная жидкость может свободно входить и/или выходить из пустого пространства частицы. В некоторых вариантах осуществления частица имеет такую конфигурацию, что интерстициальная жидкость может свободно входить и/или выходить из пустого пространства частицы. В некоторых вариантах осуществления частица имеет такую конфигурацию, что спинномозговая жидкость может свободно входить и/или выходить из пустого пространства частицы.

Объем пустого пространства в частицах преимущественно достаточно большой, чтобы вместить более одной биомолекулы, например общий объем пустот частицы преимущественно достаточно большой, чтобы вместить каждую биомолекулу, которая связана с частицей. Тем не менее пустота может быть меньше, чем общий объем каждой связанной биомолекулы до тех пор, пока частица обладает способностью ингибировать взаимодействие между каждой связанной биомолекулой и вторыми членами связывающих пар, которые включают каждую биомолекулу. Например, с помощью частицы может быть необходимо только изолировать сайт связывания с биомолекулой для ингибирования взаимодействия между биомолекулой и вторым членом связывания пары, то такая частица может содержать объем пустот, который вмещает сайт связывания каждой биомолекулы, но позволяет другим частям одной или более биомолекул оставаться снаружи пустого пространства.

В некоторых вариантах частица может содержать от приблизительно 5% до приблизительно 95% пустого пространства. Частица, содержащая выступы, могут содержать небольшой объем пустого пространства или вообще не содержать его, например, из-за того, что выступы могут ингибировать взаимодействие между связанной биомолекулой и вторым членом связывающей пары. Частица, содержащая трубку, может содержать большое количество пустот, например, потому что трубка может содержать большой внутренний объем по отношению к толщине стенок трубки. Тем не менее частицы со схожей геометрии могут иметь различные объемы пустот; например, трубки, имеющие стенки одинаковой толщины, могут иметь значительные отличия в доле объема пустот в зависимости от диаметра трубки.

Частица может содержать от 0% до приблизительно 40% пустого пространства, от приблизительно 20% до приблизительно 60% пустого пространства, от приблизительно 40% до приблизительно 80% пустого пространства или от приблизительно 60% до 100% пустого пространства. Частица может содержать от 0% до приблизительно 20% пустого пространства, от приблизительно 10% до приблизительно 30% пустого пространства, от приблизительно 20% до приблизительно 40% пустого пространства, от приблизительно 30% до приблизительно 50% пустого пространства, от приблизительно 40% до приблизительно 60% пустого пространства, от приблизительно 50% до приблизительно 70% пустого пространства, от приблизительно 60% до приблизительно 80% пустого пространства, от приблизительно 70% до приблизительно 90% пустого пространства или от приблизительно 80% до 100% пустого пространства. Частица может содержать от 0% до приблизительно 10% пустого пространства, от приблизительно 5% до приблизительно 15% пустого пространства, от приблизительно 10% до приблизительно 20% пустого пространства, от приблизительно 15% до приблизительно 25% пустого пространства, от приблизительно 10% до приблизительно 20% пустого пространства, от приблизительно 15% до приблизительно 25% пустого пространства, от приблизительно 10% до приблизительно 20% пустого пространства, от приблизительно 15% до приблизительно 25% пустого пространства, от приблизительно 10% до приблизительно 20% пустого пространства, от приблизительно 15% до приблизительно 25% пустого пространства, от приблизительно 20% до приблизительно 30% пустого пространства, от приблизительно 25% до приблизительно 35% пустого пространства, от приблизительно 30% до приблизительно 40% пустого пространства, от приблизительно 35% до приблизительно 45% пустого пространства, от приблизительно 40% до приблизительно 50% пустого пространства, от приблизительно 45% до приблизительно 55% пустого пространства, от приблизительно 50% до приблизительно 60% пустого пространства, от приблизительно 55% до приблизительно 65% пустого пространства, от приблизительно 60% до приблизительно 70% пустого пространства, от приблизительно 65% до приблизительно 75% пустого пространства, от приблизительно 70% до приблизительно 80% пустого пространства, от приблизительно 75% до приблизительно 85% пустого пространства, от приблизительно 80% до приблизительно 90% пустого пространства, от приблизительно 85% до приблизительно 95% пустого пространства или от приблизительно 90% до 100% пустого пространства.

Частица может иметь нейтральный заряд при физиологическом значении pH (например, при pH 7,4). Частица может иметь незначительный отрицательный или незначительный положительный заряд при физиологическом значении pH. Поверхность частицы (например, наружная поверхность) может иметь незначительный отрицательный или незначительный положительный заряд при физиологическом

значении рН. В предпочтительных вариантах осуществления поверхность частицы (например, наружная поверхность) имеет небольшой отрицательный или нейтральный заряд при физиологическом значении рН. Изоэлектрическая точка частицы может быть от приблизительно 5 до приблизительно 9, предпочтительно от приблизительно 6 до приблизительно 8. Частицы, содержащие нуклеиновую кислоту, могут иметь изоэлектрическую точку от приблизительно 4 до приблизительно 7. В некоторых вариантах частицы имеют изоэлектрическую точку менее 7,4, т.е. такую, при которой частица имеет отрицательный заряд при физиологическом значении рН. Например, частица может иметь изоэлектрическую точку от приблизительно 6,0 до приблизительно 7,4, например от приблизительно 6,4 до приблизительно 7,4. Частица, имеющая полный отрицательный заряд при физиологическом значении рН с меньшей вероятностью взаимодействует с эукариотическими клетками (например, с клетками млекопитающих), так как эукариотические клетки обычно имеют клеточные мембраны с полным отрицательным зарядом. Предпочтительно, когда частица не имеет заряда (и/или плотности заряда), достаточного для участия в неспецифических взаимодействиях с другими заряженными молекулами.

Частицы, содержащие поры.

В некоторых вариантах осуществления изобретения пористость материала, используемого для получения частиц (например, кремния), может составлять от приблизительно 40% до приблизительно 95%, например от приблизительно 60% до приблизительно 80%. Как используется в настоящем документе, пористость представляет собой меру пустых пространств в материале и она представляет собой долю объема пустот относительно общего объема материала. В некоторых вариантах осуществления пористость материала-носителя составляет по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80% или даже по меньшей мере приблизительно 90%. В других вариантах пористость превышает приблизительно 40%, например превышает приблизительно 50%, превышает приблизительно 60% или даже превышает приблизительно 70%.

В некоторых вариантах осуществления изобретения агент распределен на глубину пор от поверхности материала, составляющей по меньшей мере приблизительно 0,005 мкм, по меньшей мере 0,05 мкм, по меньшей мере приблизительно 0,1 мкм, по меньшей мере приблизительно 0,2 мкм, по меньшей мере приблизительно 0,3 мкм, по меньшей мере приблизительно 0,4 мкм, по меньшей мере приблизительно 0,5 мкм, по меньшей мере приблизительно 0,6 мкм или по меньшей мере приблизительно 0,7 мкм. В некоторых вариантах агент распределен в порах материала-носителя по существу равномерно.

Агент можно добавлять в частицу до глубины, которую определяют как отношение к общему размеру частицы. В некоторых вариантах агент распределено в частице до глубины, составляющей по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50% или по меньшей мере приблизительно 60%.

Способы иммобилизации агента на пористых частицах известны, и они включают методы, такие как иммобилизация агента к первой поверхности частицы и иммобилизацию другой молекулы (например, покрытия) на вторую поверхность частицы (см., например, публикации Cauda, V. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 131(32):11361-11370 (2009); и Guan, B. et al., *Langmuir*, 27(1):328-334 (2011), каждая из которых включена во всей ее полноте в данное описание посредством ссылки). Кроме того, такие методы, как правило, применяются для изготовления любой из частиц, описанных в настоящей заявке.

Для контроля высвобождения биомолекулы размер пор можно предварительно устанавливать согласно пространственным характеристикам агента и биомолекулы-мишени. Как правило, размеры пор, которые являются слишком маленькими, препятствуют загрузке агента и/или связыванию биомолекулы. Например, средний диаметр пор материала можно выбирать из более крупных пор, например, от 15 до 40 нм для молекул с большой молекулярной массой, например 200000-500000 а.е.м., и менее крупных пор, например, от 2 до 10 нм для молекул с меньшей молекулярной массой, например 10000-500000 а.е.м. Например, средние размеры пор, составляющие приблизительно 6 нм в диаметре, могут подходить для молекул с молекулярной массой от приблизительно 14000 до 15000 а.е.м., например приблизительно 14700 а.е.м. Средние размеры пор, составляющие приблизительно 10 нм в диаметре, можно выбирать для молекул с молекулярной массой от приблизительно 45000 до 50000 а.е.м., например приблизительно 48000 а.е.м. Средние размеры пор, составляющие приблизительно 25-30 нм в диаметре, можно выбирать для молекул с молекулярной массой приблизительно 150000 нм.

Размер пор можно предварительно устанавливать таким, чтобы он был адаптирован к молекулярным радиусам агента или биомолекулы. Например, средние размеры пор с размером от приблизительно 25 нм до приблизительно 40 нм в диаметре могут подходить для молекул с наибольшим молекулярным радиусом, составляющим от приблизительно 6 нм до приблизительно 8 нм. Молекулярные радиусы можно рассчитывать любым подходящим способом, например, с использованием физических размеров молекулы на основе данных рентгеноструктурной кристаллографии или с использованием гидродинамического радиуса, который представляет собой размер молекулы в растворенном состоянии. Так как расчет для растворенного состояния зависит от характеристик раствора, для которого производится расчет,

то для некоторых измерений предпочтительным может являться использование физических размеров молекулы на основе данных рентгеноструктурной кристаллографии. Как используется в настоящем документе, наибольший молекулярный радиус отражает половину наибольшего размера терапевтического агента.

В некоторых вариантах средний диаметр пор частиц выбран так, чтобы ограничивать агрегацию молекул, например белков, в поре. Предотвращение агрегации биомолекул, таких как белки, в материале-носителе может являться предпочтительным, так как считается, что агрегация препятствует контролируемому высвобождению молекул в биологическую систему. Таким образом, пора, которая, например, ввиду соответствия ее размера и размера биомолекулы позволяет вхождение в пору в один момент времени только одной биомолекулы, является предпочтительной порой, которая позволяет вхождение в пору и агрегацию внутри поры сразу нескольких биомолекул. В некоторых вариантах осуществления в пору частицы могут входить несколько биомолекул, но из-за глубины поры белки, распределенные по всей глубине поры, агрегируют в меньшей степени.

Частицы, содержащие по меньшей мере одну трубку.

В некоторых вариантах осуществления изготовления частица содержит по меньшей мере одну трубку. В предпочтительных вариантах по меньшей мере одна трубка имеет один открытый конец или два открытых конца.

Термин "трубка" относится к трехмерной форме, имеющей длину вдоль оси (т.е. одномерной оси в декартовом пространстве) и внутреннюю полость, просвет, пустоту или свободный объем по всей своей длине. В некоторых вариантах перпендикулярные сечения трубки вдоль оси имеют по существу одинаковые формы и/или размеры. Термин "поперечное сечение", используемый по отношению к трубке, относится к двумерному сечению трубки, перпендикулярному к ее оси. Большая структура может содержать трубку. Так, например, шприц содержит трубку, но трубка не содержит поршень шприца. Частица или другое изделие может содержать более чем одну трубку. Так, например, шприц может включать в себя две трубки, соответствующие игле шприца и цилиндру шприца или параллельные емкости в двойном шприце (например, как в шприце, используемом для эпоксидных композиций).

Трубка может иметь диаметр, который является средней длиной отрезков, перпендикулярных к оси трубки, в которой каждый отрезок ограничена двумя точками на внешней поверхности трубки. Трубка может иметь ширину и высоту, где ширина трубки является самым длинным отрезком, определенным двумя точками на внешней поверхности трубки, перпендикулярным к оси трубки, а высота трубки является отрезком, определенным двумя точками на внешней поверхности трубки, который перпендикулярен как к оси трубки, так и к отрезку линии, определяющему ширину трубки.

Трубка может иметь внутренний диаметр, который является средней длиной отрезков, перпендикулярных к оси трубки, где каждый отрезок ограничен двумя точками на внутренней поверхности трубки. Трубка может иметь внутреннюю ширину и внутреннюю высоту, где внутренняя ширина трубки соответствует самому длинному отрезку, который определен двумя точками на внешней поверхности трубки, перпендикулярному к оси трубки, а внутренняя высота трубки является отрезком, определенным двумя точками на внутренней поверхности трубки, который перпендикулярен как к оси трубки, так и к отрезку линии, определяющему ширину трубки.

Трубка может быть по существу цилиндрической. Трубка может иметь по существу круглое поперечное сечение. Поперечное сечение трубки может быть эллипсоидным, таким как круг.

Поперечное сечение трубки может быть многоугольным, таким как правильный многоугольник. Поперечное сечение трубки может быть треугольным, например, в виде равностороннего треугольника. Поперечное сечение трубки может быть четырехугольным, например, в виде тетрагона, прямоугольника или квадрата. Поперечное сечение трубки может быть пятиугольным, таким как обычный пятиугольник. Поперечное сечение трубки может быть шестиугольным, таким как правильный шестиугольник. Трубка может быть трубкой с треугольным сечением, трубкой с квадратным сечением, с пятиугольным сечением, шестигранной трубкой, трубкой с семиугольным сечением или с октаэдрическим сечением.

Длина трубки может составлять от приблизительно 5 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 5 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 5 нм до приблизительно 1 мкм. Длина трубки может составлять от приблизительно 50 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 50 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 50 нм до приблизительно 1 мкм. Длина трубки может составлять от приблизительно 100 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 100 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 100 нм до приблизительно 1 мкм. Длина трубки может составлять от приблизительно 300 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 300 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 300 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 300 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 300 нм до приблизительно 1 мкм. Длина трубки может составлять от приблизительно 500 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 500 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 500 нм до приблизительно 3 мкм,

от приблизительно 500 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 500 нм до приблизительно 1 мкм.

Диаметр, ширина и/или высота трубки может составлять от приблизительно 5 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 5 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 200 нм или от приблизительно 5 нм до приблизительно 100 нм. Диаметр, ширина и/или высота трубки может составлять от приблизительно 50 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 50 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 200 нм или приблизительно 50 нм до приблизительно 100 нм.

Внутренний диаметр, внутренняя ширина и/или внутренняя высота трубки являются предпочтительно достаточно большими, чтобы поместить как агент, так и биомолекулу. Внутренний диаметр, внутренняя ширина и/или внутренняя высота трубки являются преимущественно достаточно малыми, чтобы исключить вход клетки во внутрь трубки (например, ядросодержащей эукариотической клетки, такой как ядросодержащей клетка человека или диплоидной клетки человека). Внутренний диаметр, внутренняя ширина и/или внутренняя высота трубки может составлять от приблизительно 5 нм до приблизительно 4 мкм, например от приблизительно 5 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 200 нм или приблизительно 5 нм до приблизительно 100 нм. Внутренний диаметр, внутренняя ширина и/или внутренняя высота трубки может составлять от приблизительно 20 нм до приблизительно 4 мкм, например от приблизительно 20 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 200 нм или приблизительно 20 нм до приблизительно 100 нм. Внутренний диаметр, внутренняя ширина и/или внутренняя высота трубки может составлять от приблизительно 40 нм до приблизительно 4 мкм, например от приблизительно 40 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 200 нм или приблизительно 40 нм до приблизительно 100 нм.

В некоторых предпочтительных вариантах частица содержит множество трубок. Каждая трубка во множестве трубок может быть по существу параллельна другой трубке. В некоторых вариантах по меньшей мере две трубки во множестве трубок не являются параллельными. В некоторых вариантах ни одна из трубок во множестве трубок не являются параллельными. Трубки могут быть расположены в конфигурации, иной, чем параллельной друг другу, распределяя отверстия трубок по различным поверхностям частиц или обеспечивая частицам возможность хаотического движения в потоке (например, в ламинарном потоке или в турбулентном потоке).

Множество трубок может иметь конфигурацию в виде решетки или узла из трубок.

Множество трубок может иметь конфигурацию в виде многогранника, например в виде правильного многогранника.

Множество трубок может иметь конфигурацию в виде тетраэдра, например правильного тетраэдра. Множество трубок может иметь конфигурацию в виде шестигранника, такого как кубический, прямоугольный, или в виде куба. Множество трубок может иметь конфигурацию в виде октаэдра, например в виде правильного октаэдра. Множество трубок может иметь конфигурацию в виде додекаэдра, например в виде правильного додекаэдра. Множество трубок может иметь конфигурацию в виде икосаэдра, например в виде правильного икосаэдра. В некоторых вариантах каждое ребро многогранника соответству-

ет одной трубке. В некоторых вариантах не каждое ребро многогранника соответствует одной трубке (например, когда трубки по существу параллельны друг другу).

Множество трубок может иметь конфигурацию в виде пирамиды, например в виде треугольной пирамиды, ромбической пирамиды, прямоугольной пирамиды, квадратной пирамиды, пятиугольной пирамиды, шестиугольной пирамиды, семиугольной пирамиды или восьмиугольной пирамиды. Множество трубок может иметь конфигурацию в виде правильной пирамиды или наклонной пирамиды. В некоторых вариантах каждое ребро пирамиды соответствует одной трубке. В некоторых вариантах не каждое ребро пирамиды соответствует одной трубке (например, когда трубки по существу параллельны друг другу).

Множество трубок может иметь конфигурацию в виде призмы, например треугольной призмы, прямоугольной призмы, квадратной призмы, пятиугольной призмы, гексагональной призмы, семиугольной призмы или восьмиугольной призмы. Множество труб может иметь конфигурацию в виде прямой призмы, наклонной призмы или усеченной призмы. В некоторых вариантах каждое ребро призмы соответствует одной трубке. В некоторых вариантах не каждое ребро определяется одной трубкой. В некоторых вариантах не каждое ребро призмы соответствует одной трубке (например, когда трубки по существу параллельны друг другу).

Множество трубок может иметь конфигурацию структуры, которая имеет длину, ширину и высоту, где ни один размер не превышает более чем в 5 раз любое другое измерение. Например, множество трубок могут иметь конфигурацию, где ни один размер не превышает более чем в 4 раза любое другое измерение или более чем 3 раза любое другое измерение. Такие конфигурации являются благоприятными, например, для внутривенного введения частиц, так как продолговатые частицы не могут хорошо двигаться в кровотоке пациента.

Множество трубок может иметь конфигурацию структуры, имеющей длину и диаметр, где длина конфигурации не более чем в 5 раз превышает его диаметр. Для множества трубок могут быть использована конфигурация, в которой длина конфигурации не более чем в 4 раза превышает ее диаметр или длина конфигурации не более чем в 3 раза превышает ее диаметр. Такие конфигурации являются благоприятными, например, для внутривенного введения частиц, так как продолговатые частицы не могут хорошо двигаться в кровотоке пациента.

Частица может содержать от 1 до 500 трубок, например от 1 до 100 трубок. Частица может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100 трубок.

Множество трубок может включать от 1 до 500 трубок, например от 1 до 100 трубок. Множество труб может включать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100 трубок.

Все трубки во множестве трубок могут иметь одинаковую длину, или трубки во множестве трубок могут иметь различную длину. Средняя длина трубки может составлять от приблизительно 5 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 5 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 5 нм до приблизительно 1 мкм. Средняя длина трубки может составлять от приблизительно 50 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 50 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 50 нм до приблизительно 1 мкм. Средняя длина трубки может составлять от приблизительно 100 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 100 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 100 нм до приблизительно 1 мкм. Средняя длина трубки может составлять от приблизительно 300 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 300 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 300 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 300 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 300 нм до приблизительно 1 мкм. Средняя длина трубки может составлять от приблизительно 500 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 500 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 500 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 500 нм до приблизительно 2 мкм или от приблизительно 500 нм до приблизительно 1 мкм.

Все трубки во множестве трубок могут иметь одинаковый диаметр, ширину и/или высоту, или трубки во множестве трубок могут иметь различный диаметр, ширину и/или высоту. Средний диаметр, ширина и/или высота трубки может составлять от приблизительно 5 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 5 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно

400 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 200 нм или от приблизительно 5 нм до приблизительно 100 нм. Средний диаметр, ширина и/или высота трубки может составлять от приблизительно 50 нм до приблизительно 5 мкм, например от приблизительно 50 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 50 нм до приблизительно 200 нм или от приблизительно 50 нм до приблизительно 100 нм.

Все трубки во множестве трубок могут иметь одинаковый внутренний диаметр, внутреннюю ширину и/или внутреннюю высоту, или трубки во множестве трубок могут иметь различные внутренние диаметры, ширину и/или высоту. Средние значения внутреннего диаметра, внутренней ширины и/или внутренней высоты трубки могут составлять от приблизительно 5 нм до приблизительно 4 мкм, например от приблизительно 5 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 5 нм до приблизительно 200 нм или приблизительно 5 нм до приблизительно 100 нм. Средние значения внутреннего диаметра, внутренней ширины и/или внутренней высоты трубки могут составлять от приблизительно 20 нм до приблизительно 4 мкм, например от приблизительно 20 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 200 нм или приблизительно 20 нм до приблизительно 100 нм. Средние значения внутреннего диаметра, внутренней ширины и/или внутренней высоты трубки могут составлять от приблизительно 40 нм до приблизительно 4 мкм, например от приблизительно 40 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 1 мкм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 900 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 700 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 500 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 300 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 200 нм или от приблизительно 40 нм до приблизительно 100 нм.

Трубка может включать в своем составе, например, полимер. Полимер может быть природным полимером или синтетическим полимером. Полимер может быть, например, нуклеиновой кислотой (например, ДНК) или белком.

Частицы, содержащие каркасные структуры ДНК.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частица содержит каркасные структуры ДНК, например частица может содержать каркасную структуру типа ДНК-оригами (см., например, патенты США US 8554489 и US 7842793; публикации патентных заявок США US 2013/0224859 и US 2010/0216978; публикацию заявки PCT WO 2014/170898, каждая из которых включена в данное описание посредством ссылки).

Частица может содержать каркасную структуру ДНК, и каркасная структура ДНК может содержать по меньшей мере одну трубку или множество трубок, как описано здесь. Например, каркасная структура ДНК может содержать по меньшей мере одну по существу шестиугольную трубку (см., например, публикацию заявки на патент США US 2013/0224859, включенную сюда посредством ссылки).

Каркасная структура ДНК может содержать структуры в виде сот или решетки, например в виде шестигранной решетки или четырехугольной решетки (см., например, патент США US 8554489, включенный в данное описание посредством ссылки).

В некоторых вариантах частица содержит каркасную структуру ДНК и каркасная структура ДНК не содержит трубок. Например, каркасная структура ДНК может иметь трехмерную форму, например форму в виде многогранника, и агент может быть иммобилизован на внутренней поверхности этой структуры.

Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде многогранника, такого как правильный многогранник. Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде тетраэдра, например в виде правильного тетраэдра. Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде шестигранника, такого как кубического, прямоугольного или в виде куба. Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде октаэдра, например правильного октаэдра. Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде додекаэдра, например в виде правильного додекаэдра. Каркасная структура ДНК может иметь структуру в

виде икосаэдра, например в виде правильного икосаэдра.

Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде пирамиды, например треугольной пирамиды, ромбической пирамиды, прямоугольной пирамиды, квадратной пирамиды, пятиугольной пирамиды, шестиугольной пирамиды, семиугольной пирамиды или восьмиугольной пирамиды. Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде правильной пирамиды или косой пирамиды.

Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде призмы, например в виде треугольной призмы, прямоугольной призмы, квадратной призмы, пятиугольной призмы, гексагональной призмы, семиугольной призмы или восьмиугольной призмы. Каркасная структура ДНК может иметь структуру в виде правильную призмы, наклонной призмы или усеченной призмы.

Каркасная структура ДНК может иметь структуру, которая имеет длину, ширину и высоту, где ни один размер не превышает более чем в 5 раз любое другое измерение. Например, ни один размер не превышает более чем в 4 раза любое другое измерение или более чем 3 раза любое другое измерение. Такие конфигурации являются благоприятными, например, для внутривенного введения частиц, так как продолговатые частицы не могут хорошо двигаться в кровотоке пациента.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, агент иммобилизован в каркасной структуре ДНК. В некоторых вариантах осуществления агент связывается с нуклеиновой кислотой, содержащей нуклеотидную последовательность, которая является комплементарной нуклеотидной последовательности каркасной ДНК, т.е. нуклеотидная последовательность имеет идентичность последовательности по меньшей мере приблизительно на 95, 96, 97, 98, 99 или 100% к последовательности, имеющей обратную комплементарную нуклеотидную последовательность к каркасной ДНК. Таким образом, агент может быть иммобилизован на поверхности частицы с помощью гибридизации нуклеиновой кислоты к каркасной ДНК.

Частицы, содержащие защиту.

Частица может включать субчастицу в виде ядра с защитой, где защита, например, ингибирует биомолекулы, присоединенные к субчастице ядра от взаимодействия с молекулами на поверхности клетки. Защита может содержать множество защитных компонентов. Субчастица ядра может содержать диоксид кремния. Например, субчастица ядра может иметь поверхность из оксида кремния. Субчастица ядра может содержать золото, кремний или полимер. Так, например, субчастица ядра может иметь поверхность из золота, кремния или полимера.

Частица, содержащая субчастицу ядра и наружную защиту, содержащую множество компонентов защиты, прикрепленных к ядру субчастицы, может включать субчастицу ядра, имеющую поверхность из оксида кремния, где такая субчастица состоит из твердого диоксида кремния, пористого диоксида кремния или является наночастицей с оболочкой из диоксида кремния, внутренняя часть которой не содержит кремния. Субчастица ядра может содержать материал ядра, который не является оксидом кремния, такой как кремний или золото, покрытый диоксидом кремния. Компоненты защиты могут быть в форме защитных субчастиц, меньших, чем субчастицы ядра, таких как наносферы, и могут включать оксид кремния или другой материал, такой как золото или полимер. Материал поверхности субчастицы ядра и компонентов защиты может быть выбран из различных материалов, чтобы позволить им вступать в различные химические взаимодействия, которые можно использовать для связывания дополнительных компонентов или активных веществ с поверхностями. Субчастицы ядра могут иметь на своей поверхности реакционноспособную группу, а компоненты защиты могут содержать функциональную группу, способную к взаимодействию с реакционноспособной группой, с образованием ковалентной связи между поверхностью субчастиц ядра и поверхностью компонентов защиты или с поверхностью субчастиц защиты, как описано в настоящем документе.

Агент может быть представлен на поверхности субчастицы ядра, но в меньшей степени или предпочтительно не всегда на поверхности компонентов защиты. Например, агент может быть присоединен к поверхности субчастицы ядра из оксида кремния посредством связи (например, ионной, ковалентной связи или путем электростатического взаимодействия), что приводит к образованию преимущественно (или исключительно) субчастиц с ядром из оксида кремния, но без субчастиц защиты, например, как в случае частиц с поверхностью из золота вместо поверхности из оксида кремния.

В некоторых вариантах такая частица может содержать ядро из оксида кремния, например, по существу сферическое ядро из оксида кремния и защиту, включающую множество наночастиц золота на поверхности ядра из оксида кремния, при этом наночастицы золота имеют поперечное сечение меньшее, чем размер поперечного сечения ядра, такого как диаметр ядра. Эти наночастицы золота могут быть по существу сферическими. Ядро субчастицы может быть твердым и непористым или может иметь пористую поверхность. Получение ядра из оксида кремния и получение ядер с наночастицами золота на их поверхности может быть выполнено способами, описанными в патенте США US 6344272 и в публикациях Sadtler, Wei, Chem. Comm. 1604-5 (2002); и Meuhlig et al., ACS Nano, 5(8):6586-6592 (2011) (каждый из которых включен во всей своей полноте в данное описание посредством ссылки). Например, наночастицы золота могут быть адсорбированы на ядре из оксида кремния с аминовым покрытием за счет электростатического притяжения или они могут быть связаны с ядром из оксида кремния, когда ядро содержит тиольные группы, конъюгированные на поверхности из оксида кремния, которые, в свою очередь, свя-

зываются с поверхностью наночастиц из золота.

Можно использовать линкерную группу между оксидом кремния ядра субчастицы, содержащей оксид кремния, и тиольными группами для присоединения компонентов защиты к субчастице ядра. Линкер может иметь длину, выбранную таким образом, чтобы установить максимальное расстояние между поверхностью оксида кремния и тиольными группами (или когда тиол присоединяется к поверхности из золота, то между поверхностью из оксида кремния и поверхностью из золота). Таким образом, расстоянием между поверхностью субчастицы из оксида кремния и субчастицы из золота можно варьировать в пределах диапазона некоторых значений, потенциально позволяющих обеспечить большее количество связей (например, за счет того что большее количество субчастиц из золота может быть упаковано на большем расстоянии от ядра субчастицы из оксида кремния) и/или усилить связь между субчастицами из оксида кремния и золота (например, из-за того что при более коротких расстояниях большее количество мостиков от поверхности субчастицы из оксида кремния будут способны взаимодействовать с поверхностью субчастиц из золота, усиливая ассоциацию). Линкер может содержать алкиленовую цепь, длина которой может быть выбрана для изменения расстояния между поверхностью ядра субчастицы и защитой субчастицы.

Субчастицы ядра могут иметь размер в поперечном сечении, таким как диаметр сферической или цилиндрической субчастицы, от 50 нм до 4 мкм, например от 50 до 200 нм, от 100 до 500 нм, 200 нм до 1 мкм или от 500 нм до 4 мкм.

Частицы могут быть собраны из субчастиц ядра с различными диаметрами и различными диаметрами субчастиц защиты. Доступная площадь поверхности субчастицы ядра для захвата биомолекулы может зависеть от диаметра защитных субчастиц и эффективной высоты их расположения над поверхностью ядра субчастицы, необходимой для эффективного связывания комплекса мишень/агента с поверхностью, в том числе с поверхностью над любым линкером, между поверхностью и агентом захвата.

Количество агента, которое может быть связано с субчастицей ядра, может быть вычислено на основе площади поверхности субчастицы. Аналогично количество биомолекул-мишеней, которые могут быть связаны с субчастицами ядра, может быть вычислено таким же образом. Такие расчеты могут быть подтверждены, например, путем исследования связывания белков в условиях *in vitro*, и они могут быть использованы для прогнозирования дозы частиц, которые могут быть необходимы для связывания выбранного количества целевых биомолекул-мишеней (или в некоторых вариантах эффективную дозу частиц или композиции, содержащей эти частицы, для удаления или уменьшения концентрации целевых биомолекул-мишеней из системы, такой как система *in vitro*, или из кровотока пациента при лечении заболевания).

Частица может иметь доступную площадь поверхности для захвата мишени от 0,01 до 50 мкм², например от 0,01 до 0,1 мкм², от 0,05 до 0,5 мкм², от 0,1 до 1,0 мкм², от 0,5 до 5 мкм², от 1,0 до 10 мкм², от 5 до 25 мкм² или от 10 до 50 мкм². Для выбранной загрузки агентом единицы площади поверхности субчастицы ядра максимальная доза частиц может устанавливаться как пригодная для захвата требуемого количества целевых биомолекул-мишеней на основе диаметров субчастиц ядра и защиты.

Размер поперечного сечения, такого как диаметр, ядра частицы, защитной субчастицы может быть кратен размеру поперечного сечения, такого как диаметр, ядра частицы. Кратность может составлять, например, от 0,01 до 0,5, например от 0,02 до 0,2, например от 0,05 до 0,1.

Для эффективного доступа целевой биомолекулы-мишени к агенту мишень должна быть в состоянии диффундировать между компонентами защиты, чтобы достичь агента на поверхности субчастицы ядра. Так, например, мишени менее 100 кДа (например, TNF-R1/2) имеют размеры, которые позволяют легко диффундировать между защитными сферами диаметром 40 нм или более. Для меньших защитных сфер, эффективная длина пор между сферами является небольшой, и, таким образом, маловероятно, что защитные сферы с размером менее 40 нм будут препятствовать диффузии.

Частицы, содержащие субчастицы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частица может содержать субчастицу ядра и множество защитных субчастиц. Частица может содержать защиту, и эта защита может включать множество защитных субчастиц. Агент может быть иммобилизован на поверхности субчастицы ядра, например, когда поверхность субчастицы ядра является внутренней поверхностью. Множество защитных субчастиц может быть сконфигурировано для обеспечения возможности ингибирования взаимодействия биомолекулы со вторым членом группы специфического связывания, например, когда биомолекула связана с частицей. Множество защитных субчастиц может быть сконфигурировано, чтобы ингибировать взаимодействие между биомолекулой и клеткой, такой как клетка млекопитающего, например, когда биомолекула связана с частицей.

Защитные субчастицы могут определять внешнюю поверхность. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения агент не иммобилизован на поверхности защитных субчастиц.

Субчастица ядра предпочтительно достаточно велика, чтобы связываться с более чем одной молекулой агента. Например, субчастица ядра может иметь размер от приблизительно 20 нм до приблизительно 4 мкм, например от приблизительно 50 нм до приблизительно 2 мкм. Субчастица ядра может иметь размер от приблизительно 100 нм до приблизительно 1000 нм, от приблизительно 100 нм до при-

близительно 800 нм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 200 нм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 1000 нм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 1000 нм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 600 нм до приблизительно 1000 нм или от приблизительно 600 нм до приблизительно 800 нм. Субчастица ядра может иметь размер от приблизительно 100 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 600 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 600 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 600 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 800 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 800 нм до приблизительно 3 мкм или от приблизительно 800 нм до приблизительно 2 мкм.

Субчастица ядра может содержать металл, золото, оксид алюминия, оксид кремния, стекло, кремний, крахмал, агарозу, латекс, пластик, полиакриламид, метакрилат, полимер или нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах субчастица ядра содержит кремний, такой как пористый кремний.

Субчастица ядра может быть любой формы (например, кубической, пирамидальной, конической, сферической, цилиндрической, дискообразной, четырехгранной, шестигранной, октаэдрической, додекаэдрической или икосаэдрической) или у субчастицы может отсутствовать определенная форма.

Частица может содержать одну субчастицу ядра. Так, например, субчастица ядра может представлять собой частицу, описанную в патенте США US 7368295 или US 8920625 (каждый из которых включен сюда во всей своей полноте путем ссылки), которая дополнительно связана с множеством защитных субчастиц.

Частица может включать множество субчастиц ядра, например от 2 до 300 субчастиц ядра, от 2 до 200 субчастиц ядра, от 2 до 150 субчастиц ядра, от 2 до 100 субчастиц ядра, от 2 до 80 субчастиц ядра или от 2 до 42 субчастиц ядра (см, например, фиг. 4 и 5). В некоторых вариантах частица содержит множество субчастиц ядра, каждая из которых является преимущественно по существу сферической. Частица, содержащая множество сферических субчастиц ядра, имеет пустоты, позволяя тем самым диффундировать растворимым биомолекулам через внутреннюю часть частицы. Тем не менее субчастицы ядра, имеющие различные другие формы, могут также иметь пустоты. Частица, содержащая множество субчастиц ядра, может содержать субчастицы ядра различной формы и размеров.

Частица может содержать от 1 до приблизительно 10^6 субчастиц ядра, от 1 до приблизительно 10^5 субчастиц ядра, от 1 до приблизительно 10^4 субчастиц ядра, от 1 до приблизительно 1000 субчастиц ядра, от 1 до приблизительно 100 субчастиц ядра или от 1 до приблизительно 10 субчастиц ядра. Частица может содержать от 2 до приблизительно 10^6 субчастиц ядра, от 2 до приблизительно 10^5 субчастиц ядра, от 2 до приблизительно 10^4 субчастиц ядра, от 2 до приблизительно 1000 субчастиц ядра, от 2 до приблизительно 100 субчастиц ядра или от 2 до приблизительно 10 субчастиц ядра. Частица может содержать от приблизительно 10 до приблизительно 10^6 субчастиц ядра, от приблизительно 10 до приблизительно 10^5 субчастиц ядра, от приблизительно 10 до приблизительно 10^4 субчастиц ядра, от приблизительно 10 до приблизительно 1000 субчастиц ядра или от приблизительно 10 до приблизительно 100 субчастиц ядра.

Субчастицы ядра во множестве субчастиц ядра могут быть соединены с помощью линкера (например, ковалентными линкерами). Например, каждая субчастица ядра во множестве субчастиц ядра может быть соединена с другими субчастицами ядра с помощью линкера.

Субчастица ядра может содержать поры, т.е. субчастица ядра может быть пористой.

Защитная субчастица может содержать металл, золото, оксид алюминия, оксид кремния, стекло, кремний, крахмал, агарозу, латекс, пластик, полиакриламид, метакрилат, полимер или нуклеиновую кислоту. Некоторые защитные субчастицы преимущественно связаны с субчастицами ядра с помощью линкера, такого как ковалентный линкер. Тем не менее защитные субчастицы могут быть связаны с одним или несколькими субчастицами ядра без какого-либо ковалентного линкера. Защитные субчастицы могут быть связаны с другими защитными субчастицами с помощью линкеров, например ковалентных линкеров. Например, защитные субчастицы могут образовывать объемную структуру или сеть вокруг субчастиц ядра, тем самым удерживая субчастицы ядра внутри частицы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения каждая защитная субчастица из множества защитных субчастиц связана с субчастицей ядра с помощью линкера, такого как ковалентный линкер. В некоторых вариантах некоторые защитные субчастицы из множества защитных субчастиц связаны с субчастицей ядра и каждая из защитных субчастиц из множества субчастиц, которые непосредственно не связаны с субчастицей ядра, связана с защитной субчастицей, т.е. таким образом, что каждая защитная субчастица из множества субчастиц является непосредственно или косвенно связана с субчастицей ядра. Таким образом, частица может содержать один слой защитных субчастиц (например, когда по существу все защитные субчастицы непосредственно связаны с одной или несколькими субчастицами ядра), или

частицы могут содержать более чем один слой защитных субчастиц (например, когда существенная часть защитных субчастиц опосредованно связана с одной или несколькими субчастицами ядра с помощью прямых связей с другими защитными субчастицами).

В некоторых вариантах осуществления изобретения частица содержит первый слой защитных субчастиц, содержащих первый материал, а второй слой защитных субчастиц содержит второй материал. Например, первый материал может содержать оксид кремния или кремний, а второй материал может содержать золото.

Частица может быть собрана, например, путем связывания субчастиц первого слоя субчастиц с одной или несколькими субчастицами ядра, а затем путем связывания субчастиц второго слоя субчастиц с первым слоем субчастиц. Субчастицы второго слоя могут включать аналогичную поверхность, как и у субчастиц ядра, позволяя, таким образом, субчастицам первого слоя связываться как с субчастицей (субчастицами) ядра и субчастицами второго слоя с использованием аналогичной химии.

Частица может быть собрана с использованием метода "слой за слоем". Например, частица может быть образована сначала путем связывания множества субчастиц ядра. Множество субчастиц ядра может быть по существу однородным, например таким, что молекула может сшивать все субчастицы ядра. Множество субчастиц может содержать по меньшей мере два типа субчастиц, например, с различными формами, размерами и/или поверхностями, которые позволяют обеспечить желаемую функцию, в частности наличие пустот внутри частицы. После связывания множества субчастиц ядра множество защитных субчастиц может быть связано с множеством субчастиц ядра. После связывания множества защитных субчастиц с субчастицами ядра второе множество защитных субчастиц может быть связано с множеством защитных субчастиц. Однако частицы могут быть собраны и другими способами и многие различные стратегии "слой за слоем" могут быть использованы в зависимости от желаемых свойств частицы и желаемых химических реагентов, используемых для связывания субчастиц.

Методы сшивки субчастиц известны, и они включают методы сшивки субчастиц, которые содержат антитела для использования в условиях *in vivo* (см., например, публикацию Cheng, K. et al., ACS Appl Mater Interfaces, 2(9):2489-2495 (2010), содержание которой включено сюда в полном объеме путем ссылки). Такие методы могут быть адаптированы для получения частиц, описанных здесь, например путем простого изменения относительных размеров субчастиц.

Защитная субчастица может иметь размер от приблизительно 10 нм до приблизительно 4 мкм, например от приблизительно 10 нм до приблизительно 1 мкм или от приблизительно 20 нм до приблизительно 500 нм. Защитная субчастица может иметь размер от приблизительно 10 нм до приблизительно 200 нм, от приблизительно 10 нм до приблизительно 100 нм, от приблизительно 10 нм до приблизительно 80 нм, от приблизительно 10 нм до приблизительно 60 нм, от приблизительно 10 нм до приблизительно 40 нм, от приблизительно 10 нм до приблизительно 20 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 200 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 100 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 80 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 60 нм, от приблизительно 20 нм до приблизительно 40 нм, от приблизительно 30 нм до приблизительно 200 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 100 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 80 нм, от приблизительно 40 нм до приблизительно 60 нм, от приблизительно 60 нм до приблизительно 200 нм, от приблизительно 60 нм до приблизительно 100 нм или от приблизительно 60 нм до приблизительно 80 нм. Защитная субчастица может иметь размер от приблизительно 100 нм до приблизительно 1000 нм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 200 нм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 1000 нм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 400 нм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 1000 нм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 800 нм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 600 нм, от приблизительно 600 нм до приблизительно 1000 нм или от приблизительно 600 нм до приблизительно 800 нм. Защитная субчастица может иметь размер от приблизительно 100 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 100 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 200 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 400 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 600 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 600 нм до приблизительно 3 мкм, от приблизительно 600 нм до приблизительно 2 мкм, от приблизительно 800 нм до приблизительно 4 мкм, от приблизительно 800 нм до приблизительно 3 мкм или от приблизительно 800 нм до приблизительно 2 мкм.

Частица может содержать от 1 до приблизительно 10^6 защитных субчастиц, от приблизительно 4 до приблизительно 10^6 защитных субчастиц, от приблизительно 10 до приблизительно 10^6 защитных субчастиц, от 1 до приблизительно 10^5 защитных субчастиц, от приблизительно 10 до приблизительно 10^5 защитных субчастиц, от 1 до приблизительно 10^4 защитных субчастиц, от приблизительно 4 до приблизительно 10^4 защитных субчастиц, от приблизительно 10 до приблизительно 10^4 защитных субчастиц, от 1 до приблизительно 1000 защит-

ных субчастиц, от приблизительно 4 до приблизительно 1000 защитных субчастиц, от приблизительно 10 до приблизительно 1000 защитных субчастицы, от 1 до приблизительно 100 защитных субчастиц, от приблизительно 4 до приблизительно 100 защитных субчастиц или от приблизительно 10 до приблизительно 100 защитных субчастиц.

Субчастица ядра и защитная субчастица могут или не могут иметь аналогичные или идентичные формы, размеры и состав. Тем не менее субчастица ядра отличается от защитной субчастицы, поскольку (1) агент может быть иммобилизован на субчастице ядра, тогда как агент предпочтительно не иммобилизован на защитной субчастице, и (2) субчастицы ядра преимущественно расположены во внутренней части частицы, тогда как защитные субчастицы могут присутствовать на внешней поверхности частицы.

По существу 2-мерные частицы.

Частица может иметь 2-мерную форму. Например, частица может представлять собой круг, кольцо, крест, елочку, эллипс, треугольник, квадрат, пятиугольник, шестиугольник, семиугольник, восьмиугольник или звезду. Частица может быть звездой, и звезда может представлять собой вогнутый шестиугольник, вогнутый восьмиугольник, вогнутый десятиугольник или вогнутой двенадцатиугольник. Форма может быть правильной или неправильной. Примеры по существу 2-мерных частиц показаны на фиг. 6.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частица содержит первую сторону, вторую сторону и край. Первая и вторая стороны могут быть по существу одинаковой формы. Первая сторона и вторая сторона могут иметь длину и ширину. Кромка может иметь высоту, которая является расстоянием между первой стороной и второй стороной. Ширина и длина могут быть по меньшей мере в 4 раза больше чем высота, например, от 4 до 1000 раз больше, от 6 до 100 раз больше, от 8 до 75 раз больше, или от 10 до 50 раз больше чем высота. Ширина и/или длина могут быть от 0,2 до приблизительно в 20 раз больше, чем высота.

Кромка может содержать одну или несколько вогнутых или реэнтрантных частей. Агент может быть связан с вогнутыми или реэнтрантными участками кромки. Реэнтрантная часть представляет собой часть, в которой периметр частицы содержит две смежные части периметра с внешним углом между ними, который больше 270° , например, как у обеих сторон лучей звезды. Таким образом, агент захвата может быть защищен от контакта с мембраной клетки, находясь в контакте с частицей.

В некоторых вариантах первая сторона и/или вторая сторона по существу являются плоскими. В некоторых вариантах первая сторона и/или вторая сторона имеют вогнутую или реэнтрантную часть.

В некоторых вариантах частица находится в форме по существу плоской звезды, например, с реэнтрантными участками между лучами. Звезда может иметь 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 или более лучей. Частица может иметь правильные стороны или стороны неправильной формы.

В некоторых вариантах частица имеет форму креста или форму елочки, например, как основу с ответвлениями на каждой стороне от основы с реэнтрантными участками между ответвлениями. Ответвления в кресте или елочки могут дополнительно содержать боковые выступы.

Реэнтрантные ребра между лучами звезды или ответвлениями креста или елочки предпочтительно распространяются на расстояние от соединяющей лучи линии таким образом, что клеточная мембрана не может деформироваться между лучами и входить в контакт с краями. Например, число лучей и углы между ними могут определять глубину реэнтрантных краевых участков между лучами.

Частицы, пригодные для использования в настоящем изобретении, могут быть получены путем нанотехнологий, например, с помощью нанопринтинга или наноформования. Например, частицы могут быть получены с помощью технологии PRINT ("Particle Replication In Non-wetting Templates"; "Репликация частиц в несмачиваемых матрицах"): см., например, международную патентную заявку WO 2007/024323 и публикацию Perry, J.L. et al., Acc. Chem. Res., 44(10):990-998 (2011), которые включены в данное описание посредством ссылки. Частицы могут быть получены с помощью фотолитографии с использованием известных методов.

В некоторых вариантах осуществления изобретения агент может быть иммобилизован на краю частицы, а на первой и второй сторонах частицы он может быть не иммобилизован или иммобилизован в меньшей степени.

В некоторых вариантах осуществления изобретения желательно, когда площадь поверхности частицы находится в диапазоне от 0,2 до 25 мкм^2 . Защищенные краевые участки частиц могут быть получены методом наноформования в желаемом диапазоне.

Агент.

В некоторых вариантах осуществления изобретения агент, иммобилизованный на поверхности частицы, представляет собой низкомолекулярное соединение, макроциклическое соединение, полипептид, пептидомиметическое соединение, аптамер, нуклеиновую кислоту или аналог нуклеиновой кислоты. Как используется в настоящем документе, термин "низкомолекулярное соединение" предназначено для обозначения агента с молекулярной массой меньшей приблизительно 6 кДа, а наиболее предпочтительно меньшей приблизительно 2,5 кДа. Во многих фармацевтических компаниях имеются обширные библиотеки химических и/или биологических смесей, содержащих множества низкомолекулярных соединений, часто грибковые, бактериальные или водорослевые экстракты, которые можно подвергнуть скринингу с использованием любого из анализов, описанных здесь. В частности, описание предусматривает исполь-

зование малых химических библиотек, пептидных библиотек или коллекций природных продуктов. В публикации Tan et al. описана библиотека из более чем двух миллионов синтетических соединений, которая совместима с миниатюризированными клеточными анализами (*J. Am. Chem. Soc.*, 120:8565-8566 (1998)).

Пептидомиметики могут представлять собой соединения, в которых по меньшей мере часть исходного полипептида модифицирована и трехмерная структура пептидомиметика по существу остается такой же, как у исходного полипептида. Пептидомиметики могут представлять собой аналоги исходного полипептида по свойствам, и они могут представлять собой полипептиды, содержащие одну или несколько замен или другие модификации в исходной полипептидной последовательности. Альтернативно по меньшей мере часть последовательности исходного полипептида можно замещать непептидной структурой таким образом, чтобы сохранить по существу трехмерную структуру исходного полипептида. Другими словами, один, два или три аминокислотных остатка в последовательности исходного полипептида можно замещать непептидной структурой. Кроме того, непептидной структурой можно, но не обязательно заменять другие части исходного полипептида. Пептидомиметики (пептидные и непептидные аналоги) могут обладать улучшенными свойствами (например, сниженным протеолизом, увеличенным временем действия или увеличенной биодоступностью). Как правило, пептидомиметики обладают улучшенной пероральной доступностью, что делает их особенно подходящими для лечения людей или животных. Следует отметить, что пептидомиметики могут иметь или не имеют сходной двухмерной химической структуры, но обладают сходными трехмерными структурными свойствами и геометрией. Каждый пептидомиметик может дополнительно содержать один или несколько уникальных дополнительных связывающих элементов.

Аптамеры представляют собой короткие олигонуклеотидные последовательности, которые можно использовать для распознавания и специфического связывания почти любой молекулы, включая белки клеточной поверхности. Эффективным является способ систематической эволюции лигандов при экспоненциальном обогащении (SELEX), и его можно использовать для быстрой идентификации таких аптамеров. Аптамеры можно получать для широкого спектра белков, важных для терапии и диагностики, таких как факторы роста и клеточные поверхностные антигены. Эти олигонуклеотиды связывают свои мишени с аффинностями и специфичностями как у антител (см., например, Ulrich Handb. Exp. Pharmacol., 173:305-326 (2006)).

Агент может представлять собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (т.е. часть антитела), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с мишенью (например, с растворимой биомолекулой). Агент может содержать антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с мишенью (например, с растворимой биомолекулой). Термин "антитело" относится к целым антителам, включая антитела различных изотипов, таких как антитела IgM, IgG, IgA, IgD и IgE. Термин "антитело" включает поликлональное антитело, моноклональное антитело и химеризованное или химерное антитело, гуманизированное антитело, приматизированное антитело, деиммунизированное антитело и антитело, полностью принадлежащее человеку. Антитело можно получать или выделять из любого множества видов, например, млекопитающих, таких как люди, не являющихся человеком приматов (например, таких как орангутан, бабуин или шимпанзе), лошади, крупный рогатый скот, свиньи, овцы, козы, собаки, кошки, кролики, морские свинки, песчанки, хомяки, крысы и мыши. Антитело может быть очищенным или рекомбинантным антителом.

Термин "фрагмент антитела", "фрагмент, связывающий биомолекулу", "антигенсвязывающий фрагмент антитела" и аналогичные термины относятся к фрагменту антитела, который сохраняет способность связываться с антигеном-мишенью. Такие фрагменты включают, например, одноцепочечное антитело, одноцепочечный фрагмент Fv (scFv), фрагмент Fd, фрагмент Fab, фрагмент Fab' или фрагмент F(ab')₂. Фрагмент scFv представляет собой одну полипептидную цепь, которая содержит переменные области тяжелых и легких цепей антитела, из которого получен scFv. Кроме того, в определение антитела также включены и подходят для применения в способах, описанных в настоящем документе, интраантитела, миниантитела, триотела и диатела (см., например, Todorovska et al., *J. Immunol. Methods*, 248(1):47-66 (2001); Hudson and Kortt J., *Immunol. Methods*, 231(1):177-189 (1999); Poljak, *Structure*, 2(12):1121-1123 (1994); Rondon and Marasco, *Annual Review of Microbiology*, 51:257-283 (1997), содержание которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). Также термин "антитело" включает биспецифические антитела (включая антитела DVD-Ig).

Биспецифические антитела представляют собой моноклональные антитела, предпочтительно принадлежащие человеку или гуманизированные, которые специфически связываются по меньшей мере с двум различными антигенами.

Как используется в настоящем документе, термин "антитело" также охватывает, например, однодоменные антитела, такие как камелизированные однодоменные антитела. См., например, Muyldermans et al., *Trends Biochem. Sci.*, 26:230-235 (2001); Nuttall et al., *Curr. Pharm. Biotech.*, 1:253-263 (2000); Reichmann et al., *J. Immunol. Meth.*, 231:25-38 (1999); публикации заявок PCT WO 94/04678 и WO 94/25591 и патенты США US 6005079, US 6015695 и US 7794981, содержание которых полностью

включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах изобретение связано с однодоменными антителами, содержащими два домена VH с модификациями, которые образуют однодоменные антитела.

В некоторых вариантах агент представляет собой каркасный белок, не являющийся антителом. Как правило, эти белки получают посредством адаптации на основе комбинаторной химии предсуществующих лиганд- или антигенсвязывающих белков. Например, с использованием комбинаторной химии в трансферрине человека можно модифицировать участок связывания рецептора трансферрина человека с получением библиотеки различных вариантов трансферрина, некоторые из которых обладают приобретенной аффинностью к различным антигенам (см. Ali et al., *J. Biol. Chem.*, 274:24066-24073 (1999)). Часть трансферрина человека, не участвующая в связывании рецептора, остается неизменной и служит каркасом, подобно каркасным областям антител, презентирова варианты участков связывания. Затем библиотеку подвергают, как библиотеку антител, скринингу в отношении представляющего интерес антигена-мишени с идентификацией тех вариантов, которые обладают оптимальной селективностью и требуемой аффинностью к антигену-мишени. Считается, что не являющиеся антителами каркасные белки, которые имеют сходные с антителами функции, обладают рядом преимуществ по сравнению с антителами и они, в частности, имеют улучшенную растворимость и способность проникать в ткани при менее дорогом производстве и простоте конъюгации с другими молекулами, представляющими интерес (см. Hey et al., *TRENDS Biotechnol.*, 23 (10):514-522) (2005).

Специалисту в данной области понятно, что каркасная часть не являющегося антителом каркасного белка может включать, например, всю молекулу или часть Z-домена белка *A. S. aureus*, трансферрина человека, десятого домена типа III фибронектина человека, домена Куница ингибитора трипсина человека, CTLA-4 человека, белка с анкириновым повтором, липокалина человека, кристаллина человека, убиквитина человека или ингибитора трипсина *E. elaterium* (см. Hey et al., *TRENDS Biotechnol.*, 23(10):514-522 (2005)).

В некоторых вариантах агент представляет собой природный лиганд биомолекулы-мишени. Например, агент может представлять собой цитокин. Как используется в настоящем документе, термин "цитокин" относится к любому секретируемому полипептиду, который влияет на функции клеток и представляет собой молекулу, модулирующую взаимодействия между клетками в иммунном, воспалительном или гемопозитическом ответе. Цитокины в качестве неограничивающих примеров включают монокины и лимфокины независимо от того, какие клетки их продуцируют. Например, монокин, как правило, называют таким образом ввиду продукции и секреции его мононуклеарными клетками, такими как макрофаги и/или моноциты. Однако монокины также могут продуцироваться многими другими клетками, такими как клетки естественных киллеров, фибробласты, базофилы, нейтрофилы, эндотелиальные клетки, астроциты головного мозга, стромальные клетки костного мозга, эпидермальные кератиноциты и В-лимфоциты. Как правило, лимфокины называют так из-за продукции их лимфоцитами. Примеры цитокинов, в качестве неограничивающих примеров, включают интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-8 (IL-8), фактор некроза опухоли-альфа (TNF α) и фактор некроза опухоли бета (TNF β).

В некоторых вариантах агент представляет собой лиганд семейства факторов некроза опухоли (TNF), например, лиганд семейства TNF выбран из TNF α , TNF β , Fas-лиганда, лимфотоксина, лимфотоксина альфа, лимфотоксина бета, лиганда 4-1BB, лиганда CD30, EDA-A1, LIGHT (TNFSF14), TNF-подобного лиганда 1A (TL1A), TNF-связанного слабого индуктора апоптоза (TWEAK) и TNF-связанного апоптоз-индуцирующего лиганда (TRAIL). Агент может представлять собой лиганд CD40, лиганд CD27, лиганд OX40, В-клеточный фактор активации (BAFF; TNFSF13B; BLYS), эктодисплазин А (EDA), лиганд рецептора семейства активационно-индуцибельного TNFR (AITRL), ингибитор роста эндотелия сосудов (VEGI), индуцирующий пролиферацию лиганд (APRIL) или лиганд рецептора активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL). В некоторых вариантах мишень представляет собой TNF α , TNF β , Fas-лиганд, лимфотоксин, лимфотоксин альфа, лимфотоксин бета, лиганд 4-1BB, лиганд CD30, EDA-A1, LIGHT (TNFSF14), TL1A, TWEAK, TRAIL, лиганд CD40, лиганд CD27, лиганд OX40, В-клеточный фактор активации (BAFF; TNFSF13B; BLYS), эктодисплазин А (EDA), лиганд рецептора семейства активационно-индуцибельного TNFR (AITRL), ингибитор роста эндотелия сосудов (VEGI), индуцирующий пролиферацию лиганд (APRIL) или лиганд рецептора активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL).

В некоторых вариантах агент представляет собой вирусный белок или его часть, специфически связывающийся с мишенью (например, с растворимой формой мембранного белка). В некоторых вариантах агент представляет собой vTNF, который является белком, способным специфически связывать TNF, который не кодируется геномом организма, включающим рецепторы TNF и TNF. vTNF включает TNF-связывающие белки вирусов, таких как поксвирусы (например, Yataroxvirus, такой как вирус Yaba-подобной болезни, вирус Тапарох и вирус опухоли обезьян Yaba; вирус коровьей оспы, вирус миксомы и вирус мышьяной оспы) и ретровирусы (например, вирус пеннистости обезьян). Например, vTNF может представлять собой белок Crm B, Crm C, Crm D или Crm E вируса коровьей оспы, M-T2 вируса миксомы, S-T2 вируса пеннистости обезьян, VCD30 вируса коровьей оспы или TPV2L вируса Тапарох. В некоторых

вариантах агент представляет собой белок Е6 или Е7 вируса папилломы человека, который связывается с TNFR1 или ортологом TRAILR2, белок CAR1 вируса птичьей саркомы и лейкоза, который связывается с TNFRs.

В некоторых вариантах агент представляет собой вариант природного лиганда биомолекулы-мишени, например вариант полипептида интерлейкина, такой как вариант IL-2 или вариант TNF α . Варианты в соответствии с вариантами осуществления изобретения могут содержать одну или несколько замен, делеций или вставок аминокислот. Замены могут являться консервативными или неконсервативными. Как используется в настоящем документе, термин "консервативная замена" относится к замене аминокислоты, находящейся в природной последовательности данного полипептида, на природную или неприродную аминокислоту со схожими стерическими свойствами. Когда боковая цепь природной аминокислоты, предназначенная для замены, является полярной или гидрофобной, консервативную замену проводят с использованием природной аминокислотой или неприродной аминокислотой, которая также является полярной или гидрофобной и необязательно обладающей такими же или схожими стерическими свойствами, как и боковая цепь в заменяемой аминокислоте. Как правило, консервативные замены включают замены в пределах следующих групп: глицин и аланин; валин, изолейцин и лейцин; аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота; аспарагин, глутамин, серин и треонин; лизин, гистидин и аргинин; и фенилаланин и тирозин. Однобуквенные сокращения аминокислот являются следующими: аланин (A); аргинин (R); аспарагин (N); аспарагиновая кислота (D); цистеин (C); глицин (G); глутамин (Q); глутаминовая кислота (E); гистидин (H); изолейцин (I); лейцин (L); лизин (K); метионин (M); фенилаланин (F); пролин (P); серин (S); треонин (T); триптофан (W), тирозин (Y) и валин (V). Варианты также включают фрагменты полноразмерных природных лигандов дикого типа, а также фрагменты, которые содержат одну или несколько замен, вставок или делеций аминокислот, по сравнению с полноразмерным природным лигандом дикого типа, из которого получен этот фрагмент.

Как используется в настоящем документе, фраза "неконсервативные замены" относится к замене аминокислоты, присутствующей в исходной последовательности, на другую природную или неприродную аминокислоту с другими электрохимическими и/или стерическими свойствами. Таким образом, боковая цепь замещающей аминокислоты может являться значительно большей (или меньшей), чем боковая цепь замещаемой природной аминокислоты и/или может содержать функциональные группы, которые значительно отличаются от замещаемой аминокислоты электронными свойствами.

В некоторых вариантах осуществления изобретения вариант полипептида содержит по меньшей мере 2 (например, по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 или более 100) замен, делеций или вставок аминокислот по отношению полноразмерного полипептида дикого типа, из которого он получен. В некоторых вариантах осуществления изобретения вариант полипептида содержит не более 150 (например, не более 145, 140, 135, 130, 125, 120, 115, 110, 105, 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2) замен, делеций или вставок аминокислот, по отношению полноразмерного полипептида дикого типа, из которого он получен.

В некоторых вариантах осуществления изобретения вариант полипептида (например, вариант полипептида IL-2 или TNF α) сохраняет по меньшей мере 10% (например, по меньшей мере 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100%) способности полноразмерного полипептида дикого типа, из которого он получен, к связыванию биомолекулы-мишени (например, участника пары специфического связывания, участником которой является полноразмерный полипептид дикого типа). В некоторых вариантах осуществления изобретения вариант полипептида обладает большей аффинностью к биомолекуле-мишени, чем полноразмерный полипептид дикого типа, из которого получен этот вариант. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения вариант полипептида обладает в 2 раза (в 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 500 или даже 1000 раз) большей аффинностью к биомолекуле-мишени, чем полноразмерный полипептид дикого типа, из которого получен этот вариант полипептида. Способы детекции или определения уровня взаимодействия двух белков известны в данной области и описаны выше.

В некоторых вариантах осуществления изобретения полноразмерный природный лиганд дикого типа модулирует активность рецептора клеточной поверхности. Таким образом, варианты природных лигандов могут обладать повышенной или сниженной активностью по сравнению с активностью природного лиганда дикого типа в отношении способности модулировать активность рецептора. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения вариант полипептида обладает менее 90% (например, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или менее 5%) способности полноразмерного полипептида дикого типа, из которого получен вариант, активировать рецепторный белок клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления изобретения вариант полипептида не активирует рецептор, с которым он связывается.

Такие иллюстративные варианты полипептидов известны в данной области. Например, в публикации международной патентной заявки WO 2012/085891 описаны варианты лигандов семейства TNF со сниженной способностью к тримеризации и, таким образом, со сниженной способностью активировать

рецепторы семейства TNF (публикация патентной заявки США US 2014/0096274, включенная сюда посредством ссылки). Дополнительные варианты лигандов TNF сохраняют способность связываться с рецепторами семейства TNF. Подходящие способы сравнения активности вариантов и природных лигандов дикого типа известны в данной области.

В некоторых вариантах растворимая биомолекула представляет собой лиганд рецептора клеточной поверхности, например цитокина или хемокина (например, MCP-1/CCL2, CCL5, CCL11, CCL12 или CCL19), т.е. любого из известных в данной области или описываемых в настоящем документе. В некоторых вариантах лиганд представляет собой лиганд семейства фактора некроза опухоли (TNF) или его вариант. В некоторых вариантах лиганд семейства TNF представляет собой TNF α или его вариант. В некоторых вариантах лиганд семейства TNF представляет собой Fas-лиганд, лимфотоксин, лимфотоксин альфа, лимфотоксин бета, лиганд 4-1BB, лиганд CD30, EDA-A1, LIGHT, TL1A, TWEAK, TNF β , TRAIL или вариант любого из указанных выше). В некоторых вариантах лиганд представляет собой лиганд суперсемейства TGF- β или его вариант, например активин А, активин В, антимюллеровский гормон, фактор дифференциации роста (например, GDF1 или GDF11), костный морфогенетический белок (BMP), ингибин (например, ингибин альфа, ингибин бета), лефти, персефин, нодал, нейротурин, TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 или миостатин. В некоторых вариантах лиганд представляет собой гормон (например, пептидный гормон), например грелин.

В некоторых вариантах растворимая биомолекула представляет собой гаптоглобин или бета-2-микроглобулин.

В некоторых вариантах растворимая биомолекула представляет собой молекулу, указанную в табл. 2.

Таблица 2

Иллюстративные растворимые биомолекулы и/или агенты

<u>Первый участник пары специфического связывания (растворимая биомолекула или агент)</u>	<u>Сокр. название гена</u>	<u>Класс молекул</u>	<u>Ассоциированное заболевание или состояние</u>	<u>Второй участник пары специфического связывания</u>
Фактор некроза опухоли альфа	TNF	Цитокин	AD, ожирение, диабет типа II (T2D), болезнь Альцгеймера (AD)	sTNF-R
Растворимый рецептор интерлейкина-2	IL2RA	Ловушка	Рак	sIL-2R
Грелин	GHRL	Гормон	Ожирение	Рецептор грелина (GHSR1); антитела против грелина
Растворимый рецептор фактора некроза опухоли-1	TNFRSF1A	Ловушка	Рак	rTNF
Растворимый рецептор фактора некроза опухоли-2	TNFRSF1B	Ловушка	Рак	rTNF

Трансформирующий фактор роста бета 1	LTBP1	Фактор роста	Мышечная дегенерация, дис- дифференциация	
Лиганд 11 с мотивом C-C, или хемотактический белок эозинофилов, эотаксин-1	CCL11	Цитокин	Сниженный нейрогенез и познавательная способность	
Интерлейкин-2	IL2	Цитокин	AD	sIL-2R, бриакинумаб
Интерлейкин-6	IL6	Цитокин	AD	sIL-6R, олокизумаб, сарилумаб, силтуксимаб
Интерлейкин-8	CXCL8	Цитокин	AD	IL-8R
Интерлейкин-1A	IL1A	Цитокин	AD	sIL-1RA
Интерлейкин-1B	IL1B	Цитокин	Воспаление, диабет	канакинумаб, гевокизумаб
Хемокин 10 с мотивом C-X-C 10	CXCL10	Хемокин	Активация иммунной системы	CXCR3
Фактор дифференциации роста 8, или миостатин	MSTN	Фактор роста	Саркопения	Рецептор активина (ActRIIB)
Рецептор-ловушка-3	FAS	Ловушка	Рак	FAS-L
Растворимый рецептор смерти-4	TNFRSF10A	Ловушка	Рак	TRAIL-R ₁
Растворимый рецептор смерти-5	TNFRSF10B	Ловушка	Рак	TRAIL-R ₂ , дротизумаб
Gas-лиганд	FASLG	Цитокин	AD	sDcR3
Лиганд TNF- связанного индуктора апоптоза	TNFSF10	Цитокин	AD, T2D	sDR4/5
Лиганд 1 хемокинов (мотив C-X-C) (стимулирующий активность роста меланомы, Альфа)	CXCL1	Хемокин	Старение/рак	
Амилоид бета	APP	Фрагмент	AD	Антитела против амилоида бета, например, адуканумаб

Микроглобулин β2	B2M	Белок	Старение	
TNF-связанный слабый индуктор апоптоза	TNFSF12	Цитокин	TBD	sDR3
Матриксная металлопептидаза 1 (интерстициальная коллагеназа)	MMP1	Протеаза	Старение/рак	
Матриксная металлопептидаза 2 (желатиназа А, желатиназа 72 кДа, коллагеназа 72 кДа типа IV)	MMP2	Протеаза	ОА/рак	
Матриксная металлопептидаза 3 (стромелизин 1, прожелатиназа)	MMP3	Протеаза	Старение/рак	
Матриксная металлопептидаза 9 (желатиназа В, желатиназа 92 кДа, коллагеназа 92 кДа типа IV)	MMP9	Протеаза	Старение/рак	
Матриксная металлопептидаза 10 (стромелизин 2)	MMP10	Протеаза	Старение/рак	
Матриксная металлопептидаза 12 (макрофагальная эластаза)	MMP12	Протеаза	Старение/рак	
Индоламин-2,3-диоксигеназа	IDO1	Фермент	Рак	
Белок-гомолог 1 нейrogenного локуса белка notch	NOTCH1	Цитокин	Дисфункция стволовых клеток	
Белок-гомолог 2 нейrogenного локуса белка notch	NOTCH2	Цитокин	Дисфункция стволовых клеток	
Белок-гомолог 3 нейrogenного локуса белка notch	NOTCH3	Цитокин	Дисфункция стволовых клеток	
Белок-гомолог 4 нейrogenного локуса белка notch	NOTCH4	Цитокин	Дисфункция стволовых клеток	

Интерлейкин-5	IL5	Цитокин	AD	Меполизумаб, резлизумаб
Растворимый рецептор интерлейкина-5	IL5RA	Ловушка	Рак	IL-5
Растворимый рецептор интерлейкина-6	IL6R	Ловушка	Рак	IL-6, тоцилизумаб
Растворимый рецептор интерлейкина-8	CXCR1	Ловушка	Рак	IL-8
Растворимый рецептор интерлейкина-1A	IL1R1	Ловушка	Рак	IL-1A
С-реактивный белок	CRP	Белок	Маркер воспаления	
Гаптоглобин	HP	Белок	Сердечные заболевания	
Растворимый рецептор смерти-3	TNFRSF25	Ловушка		TWEAK
CD47	CD47	Белок	Рак	Тромбоспондин -1; сигнал- регулирующий белок альфа

"AD" относится к аутоиммунным нарушениям и/или воспалительным нарушениям. "OA" относится к остеоартриту.

В некоторых вариантах агент может связываться (например, специфически связываться) с биомолекулой, выбранной из TNF α , TNF β , растворимого рецептора TNF, растворимого TNFR-1, растворимого TNFR-2, лимфотоксина, лимфотоксина альфа, лимфотоксина бета, лиганда 4-1BB, лиганда CD30, EDA-A1, LIGHT, TL1A, TWEAK, TRAIL, растворимого рецептора TRAIL, IL-1, растворимого рецептора IL-1, IL-1A, растворимого рецептора IL1A, IL-1B, растворимого рецептора IL-1B, IL-2, растворимого рецептора IL-2, IL-5, растворимого рецептора IL-5, IL-6, растворимого рецептора IL-6, IL-8, IL-10, растворимого рецептора IL-10, CXCL1, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CX3CL1, лиганда FAS, растворимого рецептора смерти-3, растворимого рецептора смерти-4, растворимого рецептора смерти-5, TNF-связанного слабого индуктора апоптоза, MMP1, MMP2, MMP3, MMP9, MMP10, MMP12, CD28, растворимого члена семейства B7, растворимого CD80/B7-1, растворимого CD86/B7-2, растворимого CTLA4, растворимого PD-L1, растворимого PD-1, растворимого Tim3, Tim3L, галектина 3, галектина 9, растворимого CEACAM1, растворимого LAG3, TGF- β , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, антимюллерова гормона, артемина, нейротрофического фактора глиальных клеток (GDNF), морфогенетического костного белка (например, BMP2, BMP3, BMP3B, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8A, BMP8B, BMP10, BMP11, BMP12, BMP13, BMP15), фактора дифференциации роста (например, GDF1, GDF2, GDF3, GDF3A, GDF5, GDF6, GDF7, GDF8, GDF9, GDF10, GDF11, GDF15), ингибина альфа, ингибина бета (например, ингибина бета A, B, C, E), лфти, нодала, нейротрурина, персефина, миостатина, грелина, sLR11, CCL2, CCL5, CCL11, CCL12, CCL19, интерферона альфа, интерферона бета, интерферона гамма, кластерина, VEGF-A, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), простагландина E2, фактора роста гепатоцитов, фактора роста нервов, склеростина, компонента C5, ангиопоэтина 2, ангиопоэтина 3, PCSK9, амилоида бета, активина, активина A, активина B, микроглобулина β 2, растворимого NOTCH1, растворимого NOTCH2, растворимого NOTCH3, растворимого NOTCH4, растворимого Jagged1, растворимого Jagged2, растворимого DLL1, растворимого DLL3, растворимого DLL4, гаптоглобина, фибриногена альфа-цепи, кортикотропин-высвобождающего фактора, кортикотропин-высвобождающего фактора типа 1, кортикотропин-высвобождающего фактора типа 2, урокортина 1, урокортина 2, урокортина 3, CD47, аутоантитела против интерферона γ , аутоантитела против интерлейкина 6, аутоантитела против интерлейкина 17, аутоантитела против грелина, Wnt, индоламин-2,3-диоксигеназы, С-реактивного белка, gp120 вируса HIV-1, эндотоксина, токсина рицина, эpsilon токсина из Clostridium perfringens, энтеротоксина B из Staphylococcus и ботулинического токсина.

В некоторых вариантах осуществления изобретения агент может содержать антитело (или его антигенсвязывающий фрагмент), которое специфически связывается с TNF α , TNF β , растворимым рецепто-

ром TNF, растворимым TNFR-1, растворимым TNFR-2, лимфотоксином, лимфотоксином альфа, лимфотоксином бета, лигандом 4-1BB, лигандом CD30, EDA-A1, LIGHT, TL1A, TWEAK, TRAIL, растворимым рецептором TRAIL, IL-1, растворимым рецептором IL-1, IL-1A, растворимым рецептором IL-1A, IL-1B, растворимым рецептором IL-1B, IL-2, растворимым рецептором IL-2, IL-5, растворимым рецептором IL-5, IL-6, растворимым рецептором IL-6, IL-8, IL-10, растворимым рецептором IL-10, CXCL1, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CX3CL1, лигандом FAS, растворимым рецептором смерти-3, растворимым рецептором смерти-4, растворимым рецептором смерти-5, TNF-связанным слабым индуктором апоптоза, MMP1, MMP2, MMP3, MMP9, MMP10, MMP12, CD28, растворимым членом семейства B7, растворимым CD80/B7-1, растворимым CD86/B7-2, растворимым CTLA4, растворимым PD-L1, растворимым PD-1, растворимым Tim3, Tim3L, галектином 3, галектином 9, растворимым CEACAM1, растворимым LAG3, TGF- β , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, антимюллеровым гормоном, артемином, нейротрофическим фактором глиальных клеток (GDNF), морфогенетическим костным белком (например, BMP2, BMP3, BMP3B, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8A, BMP8B, BMP10, BMP11, BMP12, BMP13, BMP15), фактором дифференциации роста (например, GDF1, GDF2, GDF3, GDF3A, GDF5, GDF6, GDF7, GDF8, GDF9, GDF10, GDF11, GDF15), ингибином альфа, ингибином бета (например, ингибином бета A, B, C, E), лфти, нодалом, нейротрофином, персефином, миостатином, грелином, sLR11, CCL2, CCL5, CCL11, CCL12, CCL19, интерфероном альфа, интерфероном бета, интерфероном гамма, кластерином, VEGF-A, гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF), простагландином E2, фактором роста гепатоцитов, фактором роста нервов, склеростинном, комплементом C5, ангиопоэтином 2, ангиопоэтином 3, PCSK9, амилоидом бета, активинном, активинном A, активинном B, микроглобулином β 2, растворимым NOTCH1, растворимым NOTCH2, растворимым NOTCH3, растворимым NOTCH4, растворимым Jagged1, растворимым Jagged2, растворимым DLL1, растворимым DLL3, растворимым DLL4, гаптоглобином, фибриногеном альфа-цепи, кортикотропин-высвобождающим фактором, кортикотропин-высвобождающим фактором типа 1, кортикотропин-высвобождающим фактором типа 2, урокортином 1, урокортином 2, урокортином 3, CD47, аутоантителом против интерферона γ , аутоантителом против интерлейкина 6, аутоантителом против интерлейкина 17, аутоантителом против грелина, Wnt, индоламин-2,3-диоксигеназой, C-реактивным белком, gp120 вируса HIV-1, эндотоксином, токсином рицином, эpsilon токсином из Clostridium perfringens, энтеротоксином B из Staphylococcus и ботулиническим токсином.

Агент может содержать ипилимумаб, пембролизумаб, ниволумаб, инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб (например, цертолизумаб регол), голимумаб, этанерцепт, стамулумаб, фресолимуумаб, метелимуумаб, демцизумаб, тарекстумаб, бронтиктузумаб, меполизумаб, урелумамб, канакинумаб, даклизумаб, белимуумаб, деносумаб, экулизумаб, тоцилизумаб, атлизумаб, устекинумаб, паливизумаб, адуканумаб, бевацизумаб, бролицизумаб, ранибизумаб, афлиберсепт, актоксумаб, элсалимомаб, силтуксимаб, афелимомаб, нерелимомаб, озорализумаб, патеклизумаб, сирукумаб, омализумаб, адуканумаб, бапинеизумаб, кренезумаб, гантенеурамаб, понезумаб, соланезумаб, дапироллизумаб, раплизумаб, торализумаб, энотикумаб, алацизумаб, цетуксимаб, футуксимаб, икрукумаб, имгатузумаб, матузумаб, нецитумумаб, нимотузумаб, панитумумаб, рамуцирумаб, залутумумаб, дулиготумаб, патритумаб, эртумаксумаб, пертузумаб, трастузумаб, алирокумаб, анрукинумаб, диридавумаб, дрозитумаб, дупилумаб, дузиджитумаб, экулизумаб, эдобакомаб, эфангумаб, элделумаб, эноблитузумаб, энокизумаб, эвинакумаб, эволокумаб, эксбивирумаб, эксбивирумаб, фазинумаб, фельвизумаб, фезакинумаб, фиклатузумаб, фиривумаб, флетикумаб, форалумаб, форавирумаб, фулранумаб, фаликсимаб, ганитумаб, гевокизумаб, фузелкумаб, идаруцизумаб, ималумаб, инолимумаб, иратумумаб, иксекизумаб, лампализумаб, лебрикизумаб, ленцилумаб, лерделимуумаб, лексатумумаб, либивирумаб, лигелизумаб, лоделцизумаб, лулизумаб, мапатумумаб, мотавизумаб, намилумаб, небакумаб, несвакумаб, обилтоксаксимаб, олокизумаб, ортикумаб, пажжибаксимаб, паливизумаб, панобакумаб, пасколизумаб, перакизумаб, пидилизумаб, пекселизумаб, притоксаксимаб, куилизумаб, радретумаб, рафивирумаб, ралпанцизумаб, раксибакумаб, регавирумаб, реслизумаб, рилотумумаб, ромозозумаб, ронтализумаб, сарилумаб, секукинумаб, сетоксаксимаб, севирумаб, сифалимуумаб, силтуксимаб, сувизумаб, табалумаб, такатузумаб, тализумаб, танезумаб, тефибазумаб, TGN1412, тилдракизумаб, тигатузумаб, TNX-650, тозатоксумаб, тралокинумаб, тремелимуумаб, тревогрумаб, тувирумаб, уртоксазумаб, вантуктумаб, вануцизумаб или антигенсвязывающий фрагмент любого из вышеперечисленных антител.

В некоторых вариантах осуществления изобретения агент содержит TNF α , TNF β , растворимый рецептор TNF, растворимый TNFR-1, растворимый TNFR-2, vTNF, лимфотоксин, лимфотоксин альфа, лимфотоксин бета, лиганд 4-1BB, лиганд CD30, EDA-A1, LIGHT, TL1A, TWEAK, TRAIL, растворимый рецептор TRAIL, IL-1, растворимый рецептор IL-1, IL-1A, растворимый рецептор IL-1A, IL-1B, растворимый рецептор IL-1B, IL-2, растворимый рецептор IL-2, IL-5, растворимый рецептор IL-5, IL-6, растворимый рецептор IL-6, IL-8, IL-10, растворимый рецептор IL-10, CXCL1, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CX3CL1, лиганд FAS, растворимый рецептор смерти-3, растворимый рецептор смерти-4, растворимый рецептор смерти-5, TNF-связанный слабый индуктор апоптоза, MMP1, MMP2, MMP3, MMP9, MMP10, MMP12, CD28, растворимый член семейства B7, растворимый CD80/B7-1, растворимый CD86/B7-2, рас-

творимый CTLA4, растворимый PD-L1, растворимый PD-1, растворимый Tim3, Tim3L, галектин 3, галектин 9, растворимый CEACAM1, растворимый LAG3, TGF- β , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, sLR11, CCL2, CCL5, CCL11, CCL12, CCL19, активин, активин А, активин В, растворимый NOTCH1, растворимый NOTCH2, растворимый NOTCH3, растворимый NOTCH4, растворимый Jagged1, растворимый Jagged2, растворимый DLL1, растворимый DLL3, растворимый DLL4 или гаптоглобин.

В некоторых вариантах каждая частица содержит множество агентов. Множество агентов может содержать от 10 до приблизительно 10^9 копий агента, например от приблизительно 10^3 до 10^7 копий агента или от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^6 копий агента.

Способы получения антител.

Как указано выше, в некоторых вариантах осуществления изобретения агенты, иммобилизованные на поверхности частицы или частиц, представляют собой антитела или их антигенсвязывающие фрагменты. Антитела можно получать известными в данной области способами. Например, млекопитающего, такого как мышь, хомяк или кролик, можно иммунизировать иммуногенной формой растворимой биомолекулы (например, растворимого TNFR, токсина или вирусного белка). Альтернативно иммунизацию можно проводить с использованием нуклеиновой кислоты, которая в условиях *in vivo* обеспечивает экспрессию биомолекулы (например, растворимого белка), приводящая к наблюдаемому иммунному ответу. Способы придания иммуногенности белку или пептиду включают конъюгацию с носителями или другие способы, хорошо известные в данной области. Например, пептидную часть полипептида по изобретению можно вводить в присутствии адъюванта. Прохождение иммунизации можно контролировать посредством детекции титров антител в плазме или сыворотке. Для оценки концентрации антител можно использовать стандартный анализ ELISA или другие иммунологические анализы с иммуногеном в качестве антигена.

После иммунизации можно получать антисыворотки, реагирующие с полипептидом по изобретению, и при желании выделять из сывороток поликлональные антитела. Для получения моноклональных антител у иммунизированного животного можно получить продуцирующие антитела клетки (лимфоциты) и стандартными способами слияния соматических клеток сливать с иммортализованными клетками, такими как миеломные клетки, с получением гибридомных клеток. Такие способы хорошо известны в данной области и включают, например, гибридомный способ (впервые разработанный Kohler and Milstein, (1975) *Nature*, 256:495-497), такой как способ В-клеточных гибридом человека (Kozbar et al. (1983), *Immunology Today*, 4:72) и способ гибридом с EBV с получением моноклональных антител человека (Cole et al. (1985), *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., p. 77-96). Гибридомные клетки можно подвергать скринингу иммунохимическим способом с получением антител, специфически реагирующих с полипептидами по изобретению, и выделять моноклональные антитела.

Расположение агента на частице.

В некоторых вариантах осуществления изобретения геометрия частицы такова, что у иммобилизованного агента уменьшена или существенно уменьшена способность взаимодействовать с биомолекулой на поверхности клетки, такой как иммунная клетка, клетка крови или лимфоцит. Иммобилизованный агент может иметь менее 50% (например, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1%) способности связываться с биомолекулой на поверхности клеток по сравнению со свободной растворимой формой агента. Например, в некоторых вариантах TNF α или IL-2, иммобилизованный на поверхности частицы, описанной здесь, имеет менее 50% (например, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1%) способности по сравнению со свободным TNF α или IL-2 связываться с рецептором TNF α или рецептором IL-2 на поверхности клетки.

В некоторых вариантах осуществления изобретения растворимая биомолекула, связанная с частицей, имеет сниженную или в значительной степени сниженную способность взаимодействовать с родственными лигандами (вторым членом специфического связывания пары). Биомолекула может быть связана с частицей за счет агента. Биомолекула связанная с частицей может иметь менее 50% (например, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1%) способности взаимодействовать с своим родственными лигандами по сравнению со способностью несвязанной биомолекулы. Например, растворимый TNFR, связанный с частицей, описанной здесь, имеет менее 50% (например, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1%) способности свободного растворимого TNFR по взаимодействию со свободным TNF α . В другом примере растворимый вирион, связанный с частицей, описанной здесь, имеет менее 50% (например, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1%) способности свободного вириона взаимодействовать с родственными рецепторами (или рецепторами) клеточной поверхности и инфицировать клетку.

В некоторых вариантах осуществления изобретения агент может быть иммобилизован на внутреннюю поверхность частицы (например, в поры пористой частицы или во внутренней поверхности трубки). В некоторых вариантах агент может быть иммобилизован на внешней поверхности частицы, но при этом стерически исключено его взаимодействие с клеточной поверхностью за счет одного или нескольких выступов частицы. В некоторых вариантах осуществления изобретения, например, в случае тороидальных частиц, агент иммобилизован на внутренней поверхности частицы таким образом, что агент облада-

ет сниженной или существенно уменьшенной способностью взаимодействовать с биомолекулой на поверхности клетки и/или растворимой биомолекулой, связанной с частицей, из-за того что агент обладает сниженной или существенно уменьшенной способностью взаимодействовать с родственным лигандом (вторым членом специфического связывания пары).

Иллюстративная геометрия частиц, способных снижать или существенно уменьшать взаимодействие агента с биомолекулой на поверхности клетки или взаимодействие между биомолекулой, связанной с частицей, и ее родственным лигандом, показаны на фиг. 1-6 и описаны в данном документе.

Агенты для выведения и покрытия.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частица содержит агент (средство), способствующее выведению. Агент для выведения может способствовать выведению частиц биологическим путем, например, посредством выведения с мочой, разрушения, выведения гепатобилиарным путем и/или посредством фагоцитоза.

Например, частица может содержать резервуар, где резервуар содержит агент для выведения. Резервуар может представлять собой отверстие или полость в теле частицы, например полость в теле пористой кремниевой частицы.

Для частиц, содержащих поры, резервуар может представлять собой пору или резервуар может быть большим или меньшим, чем средний размер пор. Резервуар может состоять из углубления в теле частицы (например, в виде небольшого углубления), где ширина или диаметр углубления являются большими, чем ширина или диаметр среднего размера пор. Ширина или диаметр резервуара могут по меньшей мере приблизительно в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 175, 200, 250, 300, 400 или даже приблизительно в 500 раз превышать ширину или диаметр среднего размера пор. Ширина или диаметр резервуара могут приблизительно в 2-10 раз превышать ширину или диаметр среднего размера пор, например приблизительно в 2-8 раз или приблизительно в 2-6 раз. Ширина или диаметр резервуара могут приблизительно в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 175, 200, 250, 300, 400 или даже приблизительно в 500 раз превышать ширину или диаметр среднего размера пор.

Для частиц, содержащих каркасную ДНК, резервуар может быть внутренней областью каркаса ДНК. Резервуар (например, внутренняя область) может быть недоступным для клеток, например, каркас ДНК может быть сконструирован таким образом, что каркас стерически затрудняет вход клеток во внутреннюю область. В некоторых вариантах резервуар (например, внутренняя область) является недоступным для внеклеточных белков, например, каркас ДНК может быть сконструирован таким образом, что каркас стерически затрудняет вход внеклеточных белков в резервуар. Резервуар (например, внутренняя область) может быть недоступен для антител. Тем не менее каркас ДНК может позволить резервуару (например, внутренней области) стать доступным для клеток и/или внеклеточных белков по истечении заданного периода времени. Например, каркас ДНК может содержать биоразлагаемую стенку, которая может разрушаться по истечении заданного периода времени (например, путем гидролиза), обеспечивая тем самым доступ агента для выведения к клеткам и/или внеклеточным белкам. Каркасная ДНК может содержать биоразлагаемый фиксатор структуры, который может разрушаться по истечении заданного периода времени (например, путем гидролиза), что позволяет каркасной ДНК осуществить конформационное изменение, обеспечивая тем самым доступ агента для выведения к клеткам и/или внеклеточным белкам (см., например, публикацию патентной заявки PCT WO 2014/170899, которая включена сюда посредством ссылки). Аналогично каркасная ДНК может содержать резервуар, который содержит отверстие, как описано ниже.

Резервуар может содержать отверстие. Отверстие может быть закрыто крышкой или мембраной, ингибируя тем самым взаимодействие между агентом для выведения и клетками и/или внеклеточными белками (например, антителом). Крышка или мембрана могут содержать полимер, такой как биоразлагаемый полимер. Крышка или мембрана могут разрушаться (например, путем гидролиза) по истечении заданного периода времени, обеспечивая тем самым доступ агента для выведения к клеткам и/или внеклеточным белкам. Крышка или мембрана могут разрушаться (например, посредством биодеградации) под воздействием биологической жидкости (например, плазмы крови или внеклеточной жидкости) в течение от приблизительно 1 дня до приблизительно 5 лет, например от приблизительно 1 дня до приблизительно 4 лет, от приблизительно 1 дня до приблизительно 3 лет или от приблизительно 1 дня до приблизительно 1 года.

Заданный период времени может представлять собой период времени, в течение которого частица находится в жидкости (например, в водной жидкости). Заданный период времени может представлять собой период нахождения частицы в условиях *in vivo* (например, подвергаясь воздействию биологических жидкостей, pH, ферментов и/или температуры). Заданный период времени можно определить, по меньшей мере частично, связыванием частицы с биомолекулой. Например, частицу можно конфигурировать так, что связывание биомолекулы приводит к действию агента для выведения на клетки и/или на внеклеточные белки (см., например, публикацию патентной заявки PCT WO 2014/170899, которая включена сюда посредством ссылки). Заданный период времени может составлять от приблизительно 1 дня до

приблизительно 5 лет, например от приблизительно 1 дня до приблизительно 3 лет или от приблизительно 1 дня до приблизительно 1 года.

Иллюстративные материалы, пригодные для использования в качестве крышек или мембран, описаны в патенте США US 7918842, который включен сюда посредством ссылки. Как правило, эти материалы разрушаются или растворяются за счет ферментативного гидролиза или под воздействием воды в условиях *in vivo* или *in vitro* или посредством поверхностной или объемной эрозии. Иллюстративные синтетические, биоразлагаемые полимеры включают поли(амиды), такие как поли(аминокислоты) и поли(пептиды); сложные поли(эферы), так как поли(молочная кислота), поли(гликолевая кислота), сополимер молочной и гликолевой кислот и поли(капролактон); поли(ангидриды); поли(ортоэферы); поли(карбонаты) и их химические производные (с заменой, добавлением химических групп, например алкилов, алкиленов, гидроксилацией, окислением и с другими модификациями, которые, как правило, проводят специалисты в данной области), сополимеры и их смеси. Другие полимеры, которые можно использовать в составе крышек или мембран включают простые поли(эферы), такие как поли(этиленоксид), поли(этиленгликоль) и поли(тетраметиленоксид); виниловые полимеры-поли(акрилаты) и поли(метакрилаты), такие как метил-, этил-, другой алкил-, гидроксипропилацетат, акриловая и метакриловая кислоты и другие, такие как поли(виниловый спирт), поли(винилпирролидон) и поли(винилацетат); поли(уретаны); целлюлоза и ее производные, такие как алкил-, гидроксипропилацетат, простые эферы, сложные эферы, нитроцеллюлоза и различные ацетаты целлюлозы; поли(силоксаны) и любые их химические производные (с заменой, добавлением химических групп, например алкилов, алкиленов, гидроксилацией, окислением и с другими модификациями, которые, как правило, проводят специалисты в данной области), сополимеры и их смеси. В некоторых вариантах крышку для резервуара получают из одного или нескольких сшитых полимеров, так как сшитый поливиниловый спирт.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частица содержит покрытие. В некоторых вариантах покрытие включает агент для выведения. Покрытие может маскировать агент для выведения.

Частица может содержать первую поверхность и вторую поверхность; агент может быть иммобилизован на первой поверхности; и покрытие может покрывать по меньшей мере часть второй поверхности. Первая поверхность может представлять собой внутреннюю поверхность, например первая поверхность может быть ориентирована так, что агент будет обладать сниженной способностью связываться с молекулой на клеточной поверхности. Примеры внутренней поверхности включают внутренние стенки поры, резервуара или трубки, внутреннюю кольцевую поверхность тороида или полость вогнутой поверхности. Другие примеры внутренней поверхности включают внешнюю поверхность частицы, где внешняя поверхность защищена от взаимодействия с клетками одним или несколькими выступами. Вторая поверхность может представлять собой внешнюю поверхность, например вторая поверхность может быть ориентирована так, что покрытие может взаимодействовать с клеткой. В некоторых вариантах частица может содержать одну или несколько субчастиц ядра и множество защитных субчастиц. Частица может содержать защиту, и защита может включать в себя множество защитных субчастиц. Первая поверхность может представлять собой поверхность из одной или нескольких частиц ядра, а вторая поверхность может представлять собой поверхность защитных субчастиц.

Покрытие может препятствовать взаимодействиям между частицами, например покрытие может снижать тенденцию частиц к образованию агрегатов. Покрытие может препятствовать взаимодействиям между частицами и клетками, например, предоставляя биологически инертную поверхность. Покрытие может препятствовать неспецифическим взаимодействиям с внеклеточными молекулами, например, препятствуя неспецифической адсорбции биомолекул. Покрытие может препятствовать специфическим взаимодействиям с клетками или внеклеточными молекулами, например покрытие может препятствовать или задерживать выведение или фагоцитоз частиц. Покрытие может делать частицу мишенью для выведения или фагоцитоза. Покрытие или другая характеристика (например, "индуцирующее выведение соединение"), которые делают частицу мишенью для выведения или фагоцитоза, могут быть замаскированы покрытием (например, вторым покрытием), которое задерживает выведение или фагоцитоз частицы, например, для обеспечения сохранения частиц в кровотоке в течение заданного периода времени.

Покрытие может включать в себя множество удлиненных молекул покрытия, связанных одним концом с поверхностью частицы. Покрытие может препятствовать взаимодействию между биомолекулой, связанной с частицей, и вторым членом специфического связывания пары, который включает биомолекулу. Покрытие может препятствовать взаимодействию между биомолекулой, связанной с частицей, и клеткой. Агент может быть ориентирован на частице относительно покрытия таким образом, чтобы агент обладал сниженной способностью связываться с молекулой на поверхности клетки. Агент может быть ориентирован на частице относительно покрытия таким образом, чтобы агент обладал сниженной способностью связываться с мишенью на поверхности клетки. Агент может быть ориентирован на частице относительно покрытия таким образом, чтобы покрытие стерически затрудняло связывание агента с молекулой на поверхности клетки. Агент может быть ориентирован на частице таким образом, чтобы покрытие стерически затрудняло связывание агента с мишенью на поверхности клетки. Покрытие может быть ориентировано на частице таким образом, чтобы агент в частице имел сниженную способность связываться с молекулой на поверхности клетки. Покрытие может уменьшить способность агента в частице

активировать белок рецептора клеточной поверхности по сравнению со способностью природного лиганда рецепторного белка клеточной поверхности.

Частица может содержать второе покрытие, где второе покрытие состоит из второго множества молекул покрытия. Частица может содержать второе множество молекул покрытия. Второе покрытие и/или второе множество молекул покрытия может снижать выведение частиц в условиях *in vivo*, например, маскируя покрытие и/или множество молекул покрытия. Второе покрытие и/или второе множество молекул покрытия могут быть биоразлагаемыми, например, обеспечивая возможность воздействия клеткам и/или внеклеточным белкам на покрытие и/или множество молекул покрытия через предопределенный период времени. Второе покрытие и/или второе множество молекул покрытия может содержать биоразлагаемый полимер, например каждая молекула второго множества молекул покрытия может содержать биоразлагаемый полимер. Второе покрытие и/или второе множество молекул покрытия может содержать CD47, который ингибирует фагоцитоз.

В некоторых вариантах осуществления частица содержит первую поверхность (например, внутреннюю поверхность) и вторую поверхность (например, внешнюю поверхность или внешнюю поверхность); агент иммобилизован на первой поверхности; а покрытие покрывает по меньшей мере часть второй поверхности. Ориентация первой поверхности может снижать способность средства взаимодействовать с молекулами на клеточной поверхности.

Ориентация второй поверхности может обеспечивать взаимодействия между покрытием и клетками, внеклеточными молекулами и/или различными частицами. "Взаимодействие" между покрытием и клетками, внеклеточными молекулами и/или различными частицами может быть слабым, нейтральным или неблагоприятным взаимодействием, например, препятствуя стабильному связыванию частицы с клеткой, внеклеточной молекулой или другой частицей. Альтернативно взаимодействие между покрытием и клетками и/или внеклеточными молекулами может быть специфическим или планируемым взаимодействием, например, для содействия выведению частицы биологическим путем, таким как фагоцитоз. В определенных предпочтительных вариантах осуществления вторая поверхность по существу не содержит агента. В определенных предпочтительных вариантах осуществления первая поверхность по существу не содержит покрытия. В определенных предпочтительных вариантах осуществления покрытие покрывает по существу всю вторую поверхность.

В некоторых вариантах осуществления частица содержит первую поверхность (например, внутреннюю поверхность) и вторую поверхность (например, внешнюю поверхность или внешнюю поверхность); агент иммобилизован на первой поверхности и второй поверхности; а покрытие покрывает по меньшей мере часть второй поверхности. В таких вариантах покрытие (и/или второе покрытие) может ингибировать взаимодействия между средством и молекулами на клеточной поверхности. В определенных предпочтительных вариантах осуществления изобретения покрытие покрывает по существу всю вторую поверхность.

В некоторых вариантах осуществления частица содержит первую поверхность (например, внутреннюю поверхность) и вторую поверхность (например, внешнюю поверхность или внешнюю поверхность); агент иммобилизован на первой поверхности; а покрытие покрывает по меньшей мере часть первой поверхности и по меньшей мере часть второй поверхности. В таких вариантах осуществления покрытие предпочтительно не влияет на способность средства специфически связываться с биомолекулой. В определенных предпочтительных вариантах осуществления покрытие покрывает по существу всю вторую поверхность.

В некоторых вариантах осуществления частица содержит поверхность; средство иммобилизовано на поверхности; и покрытие покрывает по меньшей мере часть поверхности. В таких вариантах осуществления покрытие может не влиять на способность агента к специфическому связыванию с биомолекулой. Покрытие может позволять определенной доле агента специфически связываться с биомолекулой и ингибировать взаимодействия между некоторой долей агента и биомолекулой. Покрытие может ингибировать взаимодействия между агентом и молекулами на клеточной поверхности. В определенных предпочтительных вариантах осуществления покрытие покрывает по существу всю поверхность.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частица содержит покрытие, которое покрывает по меньшей мере часть второй поверхности, и второе покрытие, которое покрывает по меньшей мере часть, например по существу всю, покрытия на второй поверхности. В таких вариантах покрытие может содержать агент для выведения, такой как "индуцирующее выведение соединение", который делает частицу мишенью для выведения или фагоцитоза. Такое покрытие может содержать бета-циклодекстрин. Второе покрытие может содержать материал, например второе множество молекул покрытия, который ингибирует взаимодействие с клетками и/или ингибирует неспецифические взаимодействия с внеклеточными молекулами, например ингибирует неспецифическую адсорбцию биомолекул. Второе покрытие может быть биоразрушаемым, например, позволяя поверхности воздействовать на клетки и/или внеклеточные белки по истечению заданного периода времени. Так, например, у частиц, содержащих одну или более субчастиц ядра и множество защитных субчастиц, где агент захвата иммобилизован на поверхности субчастиц (субчастиц) ядре (т.е. на первой поверхности), по меньшей мере часть поверхности защитных субчастиц (т.е. второй поверхности) содержит покрытие, например покрытие, содержащее либо

агент для выведения, или покрытие, содержащее материал для ингибирования взаимодействия с клетками и/или ингибирования неспецифического взаимодействия с внеклеточными молекулами.

Покрытие может содержать молекулы покрытия, например покрытие может состоять из множества молекул покрытия или покрытие может состоять из группы молекул покрытия. Как используется здесь, каждый из терминов "множество молекул покрытия" и "группа молекул покрытия" относится к покрытию. Однако термин "покрытие" может относиться к дополнительным композициям, таким как гидрогель. Молекула покрытия может представлять собой агент для выведения (и, таким образом, агент для выведения может представлять собой молекулу покрытия).

Частица может содержать множество молекул покрытия. Частица может содержать поверхность и множество агентов, иммобилизованных на поверхности, и по меньшей мере одна молекула из множества молекул покрытия может быть связана с поверхностью. Например, все или по существу все молекулы множества молекул покрытия могут быть связаны с поверхностью.

Частица может содержать поверхность и вторую поверхность, где множество агентов, иммобилизованы на поверхности, и по меньшей мере одна молекула из множества молекул покрытия могут быть связаны со второй поверхностью. Например, все или по существу все молекулы из множества молекул покрытия могут быть связаны со второй поверхностью. В некоторых вариантах осуществления определенные молекулы из множества молекул покрытия связаны с поверхностью и определенные молекулы из множества молекул покрытия связаны со второй поверхностью.

В некоторых вариантах молекулы покрытия увеличивают выведение частиц в условиях *in vivo*. Например, молекулы покрытия могут содержать ассоциированную с патогеном молекулярную структуру.

В некоторых вариантах частицы, описанные в этом документе, содержат покрытие, содержащее индуцирующее выведение соединение, которое способствует выведению частиц из кровотока, например, почками, печенью/кишечником (например, посредством желчи) или посредством фагоцитоза (например, антигенпрезентирующими клетками). Множество покрывающих молекул может представлять собой множество индуцирующих выведение соединений. Например, в вариантах, где частицы являются тороидальными, внутренняя кольцевая поверхность (например, первая поверхность) может содержать иммобилизованный агент, а внешняя поверхность (например, вторая поверхность) может содержать соединение, которое индуцирует выведение частиц, например, почками, печенью или макрофагами. В некоторых вариантах индуцирующее выведение соединения является программируемым. Т.е. соединение может быть покрыто покрытием, которое с течением времени (например, в течение заданного периода времени) в конечном итоге разрушается (например, под действием ферментов, гидролиза или постепенного растворения), делая доступным индуцирующее выведение соединения или придавая другое свойство, которое увеличивает скорость выведения. Покрытие может разрушаться под действием биологической жидкости (например, плазмы крови или внеклеточной жидкости) в течение от приблизительно 1 дня до приблизительно 5 лет, например от приблизительно 1 дня до приблизительно 3 лет или от приблизительно 1 дня до приблизительно 1 года. Таким образом, присутствие частиц *in vivo* можно модифицировать и/или контролировать.

Покрытие может содержать органический полимер, такой как полиэтиленгликоль (PEG). Органический полимер может быть связан с частицей, например связан с поверхностью частицы. Органический полимер может включать PEG, полилактат, полимолочные кислоты, сахара, липиды, полиглутаминовую кислоту, полигликолевую кислоту (PGA), полимолочную кислоту (PLA), сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA), поливинилацетат (PVA) и их сочетания. В некоторых вариантах частица ковалентно конъюгирована с PEG, который препятствует адсорбции сывороточных белков, способствует эффективному выведению с мочой и снижает агрегацию частиц (см., например, Burns et al., Nano Letters, 9(1):442-448 (2009) и публикации патентных заявок США US 2013/0039848 и US 2014/0248210, каждая из которых включена сюда посредством ссылки).

В одном из вариантов осуществления изобретения покрытие содержит по меньшей мере одну гидрофильную молекулу, например, полимеров типа плюроники® (неионные полиоксиэтиленполиоксипропиленовые блок-сополимеры с общей формулой $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a(-\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_b(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a\text{H}$), триблок-сополимера поли(этиленгликоль-*b*-(DL-молочная кислота-*co*-гликолевая кислота)-*b*-этиленгликоль) (PEG-PLGA-PEG), диблок-сополимера поликапролактон-PEG (PCL-PEG), поли(винилиденфторид)-PEG (PVDF-PEG), поли(молочная кислота-*co*-PEG) (PLA-PEG), поли(метилметакрилат)-PEG (PMMA-PEG) и т.п. В одном из вариантов осуществления изобретения с такой молекулой, гидрофильная молекула представляет собой молекулу PEG, такую как [метокси(полиэтиленокси)пропил]триметоксисилан (например, $\text{CH}_3(\text{OC}_2\text{H}_4)_{6-9}(\text{CH}_2)\text{OSi}(\text{OCH}_3)_3$), [метокси(полиэтиленокси)пропил]диметоксисилан (например, $\text{CH}_3(\text{OC}_2\text{H}_4)_{6-9}(\text{CH}_2)\text{OSi}(\text{OCH}_3)_2$) или [метокси(полиэтиленокси)пропил]монометоксисилан (например, $\text{CH}_3(\text{OC}_2\text{H}_4)_{6-9}(\text{CH}_2)\text{OSi}(\text{OCH}_3)$). Подходящие покрытия описаны, например, в публикации патентной заявки США US 2011/0028662 (включенной сюда посредством ссылки).

Покрытие может включать полигидроксильированный полимер, такой как природный полимер или гидроксилсодержащий полимер, включая полигидроксильированные полимеры, полисахариды, углеводы, полиолы, поливиниловый спирт, полиаминокислоты, такие как полисерин или другие полимеры, такие как 2-(гидроксиэтил)метакрилат, или их сочетания. В некоторых вариантах полигидроксильированные

полимеры представляют собой полисахариды. Полисахариды включают маннан, пуллулан, мальтодекстрин, различные виды крахмала, целлюлозу и производные целлюлозы, камеди, ксантановую камедь, камедь плодов рожкового дерева или пектин, или их сочетания (см., например, публикацию патентной заявки США US 2013/0337070, включенной сюда посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления покрытие содержит цвиттерионный полимер (см., например, публикации патентных заявок США US 2014/0235803, US 2014/0147387, US 2013/0196450 и US 2012/0141797 и патент США US 8574549, все из которых включены сюда посредством ссылки).

Другие подходящие покрытия включают поли-альфа-гидроксикислоты (включая полимолочную кислоту или полилактид, полигликолевую кислоту или полигликолид), поли-бета-гидроксикислоты (такие как полигидроксипропанат или полигидроксивалерат), эпокси-полимеры (включая полиэтиленоксид (PEO)), поливиниловые спирты, сложные полиэфиры, полиортоэфиры, сложные полиамидоэфиры, сложные полиэфирамины, полифосфоэфиры и полифосфоэфируретаны. Примеры разрушаемых сложных полиэфиров включают поли(гидроксиалканоаты), включая поли(молочную кислоту) или (полилактид, PLA), поли(гликолевую кислоту) или полигликолид (PGA), поли(3-гидроксипропанат), поли(4-гидроксипропанат), поли(3-гидроксивалерат) и поли(капролактон) или поли(валеролактон). Примеры сложных полиоксифиров включают поли(алкиленоксалаты), такие как поли(этиленоксалат) и сложные полиоксифиры, содержащие амидогруппы. Другие подходящие материалы покрытий включают простые полиэфиры, включая полигликоли, сополимеры простых эфиров и сложных эфиров (сополи(простой эфир-сложный эфиры)) и поликарбонаты. Примеры биоразлагаемых поликарбонатов включают полиортокарбонаты, полииминокарбонаты, полиалкилкарбонаты, такие как поли(триметиленкарбонат), поли(1,3-диоксан-2-он), поли(п-диоксанон), поли(6,6-диметил-1,4-диоксан-2-он), поли(1,4-диоксепан-2-он) и поли(1,5-диоксепан-2-он). Также подходящие биоразлагаемые покрытия могут включать полиангидриды, полиимины (такие как поли(этиленимин) (PEI)), полиамиды (включая поли-N-(2-гидроксипропил)-метакриламид), поли(аминокислоты) (включая полилизин, такой как поли-L-лизин, или полиглутаминовую кислоту, такую как поли-L-глутаминовая кислота), полифосфазены (такие как поли(фенокси-со-карбоксилатофеноксифосфазен), полиорганофосфазены, полицианоакрилаты и полиалкилцианоакрилаты (включая полибутилцианоакрилат), полиизоцианаты и поливинилпирролидоны.

Длина цепи полимерной молекулы покрытия может составлять от приблизительно 1 до приблизительно 100 мономерных единиц, например от приблизительно 4 до приблизительно 25 единиц.

Частица может быть покрыта природным полимером, включая фибрин, фибриноген, эластин, казеин, коллагены, хитозан, внеклеточный матрикс (ECM), каррагенан, хондроитин, пектин, альгинат, альгиновую кислоту, альбумин, декстрин, декстраны, желатин, маннит, н-галамин, полисахариды, поли-1,4-глюканы, крахмал, гидроксиэтилкрахмал (HES), диальдегидкрахмал, гликоген, амилазу, гидроксиэтил-амилазу, амилопектин, глюкозогликаны, жирные кислоты (и их сложные эфиры), гиалуроновую кислоту, протамин, полиаспарагиновую кислоту, полиглутаминовую кислоту, D-маннуриновую кислоту, L-гулуриновую кислоту, зеин и другие проламины, альгиновую кислоту, гуаровую камедь и фосфорил-холин, а также их сополимеры и производные. Покрытие также может содержать модифицированный полисахарид, такой как целлюлоза, хитин, декстран, крахмал, гидроксиэтилкрахмал, полиглюконат, гиалуроновая кислота и желатин, а также их сополимеры и производные.

Частица может быть покрыта гидрогелем. Гидрогель можно получить, например, с использованием основного полимера, выбранного из любых подходящих полимеров, таких как поли(гидроксиалкил(мет)акрилаты), сложные полиэфиры, поли(мет)акриламиды, поли(винилпирролидон) или поливиниловый спирт. Сшивающим средством может являться один или несколько из пероксидов, серы, дихлорида серы, оксидов металлов, селена, теллурия, диаминов, диизоцианатов, алкилфенилди-сульфидов, тетраалкилтиурамдисульфидов, 4,4'-дитиоморфолина, п-хининдиоксида и тетрахлор-п-бензохинона. Также в гидрогели можно вводить полимеры, содержащие бороновую кислоту, с необязательными фотополимеризируемыми группами.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения покрытие содержит материал, который одобрен для применения U.S. Food and Drug Administration (FDA). Эти одобренные FDA материалы включают полигликолевую кислоту (PGA), полимолочную кислоту (PLA), полилактин 910 (содержащий гликолидные и лактидные единицы в отношении 9:1 и также известный как викрил (VICRYL™)), полигликонат (содержащий гликолидные и триметиленкарбонатные единицы в отношении 9:1 и также известный как максон (MAXON™)) и полидиоксанон (PDS).

Покрытие может быть связано с частицей посредством ковалентной связи или нековалентной связи, такой как ионная связь, водородная связь, гидрофобная связь, координирование, адгезия или физическая абсорбция или физическое взаимодействие.

Общепринятые способы покрытия наночастиц включают способы сухого и влажного покрытия. Способы сухого покрытия включают (а) физическое осаждение из газовой фазы (Zhang, Y. et al., *Solid State Commun.*, 115:51 (2000)); (b) обработку плазмой (Shi, D. et al., *Appl. Phys. Lett.*, 78:1243 (2001); Volath, D. et al., *J. Nanoparticle Res.*, 1:235 (1999)); (c) химическое осаждение из газовой фазы (Takeo, O. et

al., *J. Mater. Chem.*, 8:1323 (1998)); и (d) пиролиз полимерных или неполимерных органических материалов для осаждения наночастиц *in situ* в матриксе (Sglavo, V.M. et al., *J. Mater. Sci.*, 28:6437 (1993)). Способы влажного покрытия частиц включают (a) способы золь-гель; и (b) способы эмульгирования и выпаривания растворителя (Cohen, H. et al., *Gene Ther.*, 7:1896 (2000); Hrkach, J.S. et al., *Biomaterials*, 18:27 (1997); Wang, D. et al., *J. Control. Rel.*, 57:9 (1999)). Покрытие можно наносить посредством электроосаждения, покрытия распылением, покрытия погружением, напыления, химического осаждения из газовой фазы или физического осаждения из газовой фазы. Кроме того, в данной области известны способы покрытия различных наночастиц полисахаридами (см., например, патент США US 8685538 и публикацию патентной заявки США US 2013/0323182, каждый из которых включен сюда посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления изобретения частицы можно адаптировать для их выведения посредством экскреции с мочой. Выведение почками у субъектов с нормальной функцией почек, как правило, требует частиц по меньшей мере с одним размером, меньшим 15 нм (см., например, Choi, H.S., et al., *Nat. Biotechnol.*, 25(1):1165 (2007); Longmire, M. et al., *Nanomedicine*, 3(5):703 (2008)). Однако с мочой могут выводиться и более крупные частицы. В вариантах осуществления изобретения, где частица является слишком большой для выведения почками, частицу можно вывести после разрушения ее в условиях *in vivo* до меньшего размера.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частицы можно адаптировать для выведения через гепатобилиарный путь выведения. В захвате в печени и последующем выведении наночастиц с желчью участвует система мононуклеарных фагоцитов (MPS), которая включает клетки Купфера в печени. Известно, что определенный размер и свойства поверхности наночастиц увеличивают захват MPS в печени (см. Choi et al., *J. of Dispersion Sci. Tech.*, 24(3/4):475-487 (2003); и Brannon-Peppas et al., *J. Drug Delivery Sci. Tech.*, 14(4):257-264 (2004), каждая из которых включена посредством ссылки). Например, известно, что повышенная гидрофобность частицы увеличивает захват MPS. Таким образом, для модуляции выведения с желчью специалист в данной области может выбрать частицы с определенными характеристиками. Гепатобилиарная система позволяет выводить частицы, размер которых немного превосходит размер частиц, которые может выводить почечная система (например, от 10 до 20 нм). Для вариантов осуществления изобретения, где частицы являются слишком большими для выведения посредством гепатобилиарной системы, частицы можно выводить после разрушения их в условиях *in vivo* до меньшего размера. В таких вариантах покрытие, которое способствует выведению посредством гепатобилиарной системы, может покрывать часть внутренней поверхности частицы, так, чтобы покрытие становилось доступным при разрушении частицы. Частица может содержать множество молекул покрытия, например, гидрофобных молекул, которые покрывают часть поверхности. Поверхность может становиться доступной при разрушении частицы, обеспечивая выведение разрушенной частицы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частица адаптирована для ее выведения посредством фагоцитоза. Например, частица может содержать агент для выведения, где агент для выведения содержит ассоциированную с патогеном молекулярную структуру, например для распознавания макрофагами. Ассоциированные с патогеном молекулярные структуры (РАМР) включают ДНК с метилированными CpG (бактериальную), двухцепочечную РНК (вирусную), липополисахарид (бактериальный), пептидогликан (бактериальный), липоарабиноманнан (бактериальный), зимозан (дрожжевой), микоплазменные липопротеины, такие как MALP-2 (бактериальный), флагеллин (бактериальный), поли(инозиновую-цитидиловую) кислоту (бактериальную), липотейхоевую кислоту (бактериальную) и имидазохинолины (синтетические). В предпочтительных вариантах осуществления РАМР в качестве агента для выведения замаскировано так, что макрофаги не поглощают частицу до связывания частицы с одной или несколькими мишенями. Например, РАМР может быть замаскирована любым из указанных выше покрытий (например, полимерным покрытием, таким как биоразлагаемое полимерное покрытие). Макрофаги могут поглощать частицы размером до 20 мкм (см., например, Cannon, G.J. and Swanson, J.A., *J. Cell Science*, 101:907-913 (1992); Champion, J.A. et al., *Pharm. Res.*, 25(8):1815-1821 (2008)). В некоторых вариантах агент для выведения, способствующий выведению посредством фагоцитоза, может покрывать часть внутренней поверхности частицы так, что после разрушения частицы агент для выведения становится доступным. Частица может содержать множество агентов для выведения, например РАМР, которые покрывают часть поверхности. Поверхность может становиться доступной после разрушения частицы, обеспечивая выведение разрушенной частицы. Агент для выведения может покрывать часть поверхности, которая перекрывает поверхность, содержащую агент. Агент для выведения (например, РАМР) может вызывать иммунный ответ против частицы, например, после разрушения второго покрытия или после разрушения частицы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения иммунный ответ, направленный против агента для выведения (например, РАМР), может превосходить иммунный ответ, направленный против агента и/или комплекса агент/биомолекула, ингибируя или задерживая начало иммунного ответа, направленного против агента и/или комплекса агент/биомолекула. Например, разрушение частицы может привести к тому, что агент для выведения и агент (и/или комплекс агент/биомолекула) будут доступными для действия лейкоцитов. Агент для выведения, такой как РАМР, может обеспечивать быстрое выведение разрушенных частиц макрофагами, задерживая, таким образом, иммунный ответ (например, опосредуемый В-

клетками иммунный ответ) против агента и/или комплекса агент/биомолекула.

Агент для выведения может представлять собой кальретикулин, который индуцирует фагоцитоз.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения молекула покрытия содержит нуклеиновую кислоту, например, для гибридизации с молекулой покрытия на частице, содержащей каркасную ДНК. Например, частица может содержать нуклеиновую кислоту и молекулу покрытия, где молекула покрытия содержит дополнительную нуклеиновую кислоту, которая может гибридизоваться с нуклеиновой кислотой, формируя тем самым связь между молекулой покрытия и частицей (например, водородные связи). Нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, и комплементарная нуклеиновая кислота может содержать комплементарную нуклеотидную последовательность, например, где нуклеотидная последовательность имеет по меньшей мере 95, 96, 97, 98 или 99% идентичность последовательности, обратной комплементу комплементарной нуклеотидной последовательности. Нуклеотидная последовательность может иметь 100% идентичность последовательности, т.е. быть обратной комплементу комплементарной нуклеотидной последовательности.

Предпочтительно, когда температура плавления нуклеиновой кислоты и комплементарной нуклеиновой кислоты в физиологической жидкости (например, в крови) больше, чем температура тела (например, температура тела субъекта, такого как человек или мышь). Например, температура плавления нуклеиновой кислоты и комплементарной нуклеиновой кислоты в физиологической жидкости предпочтительно больше чем 37°C, например больше чем приблизительно 38°C, больше чем приблизительно 39°C, больше чем приблизительно 40°C, больше чем приблизительно 41°C, больше чем приблизительно 42°C, больше чем приблизительно 43°C, больше чем приблизительно 44°C или больше чем приблизительно 45°C. Температура плавления нуклеиновой кислоты и комплементарной нуклеиновой кислоты может составлять от приблизительно 37°C до приблизительно 120°C, например от приблизительно 38°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 39°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 40°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 41°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 42°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 43°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 44°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 45°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 46°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 47°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 48°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 49°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 50°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 38°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 39°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 40°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 41°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 42°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 43°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 44°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 45°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 46°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 47°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 48°C до приблизительно 100°C, от приблизительно 49°C до приблизительно 100°C или от приблизительно 50°C до приблизительно 100°C.

Длина нуклеиновой кислоты реакционноспособной группы, нуклеотидная последовательность реакционноспособной группы, комплементарной нуклеиновой кислоты и комплементарной нуклеотидной последовательности предпочтительно больше чем 9 нуклеотидов. Длина нуклеиновой кислоты реакционноспособной группы, нуклеотидная последовательность реакционноспособной группы, комплементарной нуклеиновой кислоты и комплементарной нуклеотидной последовательности, может быть больше чем 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеотидов. Длина нуклеиновой кислоты реакционноспособной группы, нуклеотидная последовательность реакционноспособной группы, комплементарной нуклеиновой кислоты и комплементарной нуклеотидной последовательности, может составлять от приблизительно 10 нуклеотидов до приблизительно 100 нуклеотидов и, в частности, например, от приблизительно 11 нуклеотидов до приблизительно 80 нуклеотидов, от приблизительно 12 нуклеотидов до приблизительно 60 нуклеотидов, от приблизительно 13 нуклеотидов до приблизительно 50 нуклеотидов, от приблизительно 14 нуклеотидов до приблизительно 40 нуклеотидов, от приблизительно 15 нуклеотидов до приблизительно 30 нуклеотидов или от приблизительно 16 нуклеотидов до приблизительно 25 нуклеотидов. Содержание GC в нуклеиновой кислоте нуклеотидной последовательности, комплементарной нуклеиновой кислоте и комплементарной нуклеотидной последовательности, может составлять от приблизительно 10% до приблизительно 100%, например от приблизительно 40% до приблизительно 100%, от приблизительно 45% до приблизительно 100%, от приблизительно 50% до приблизительно 100%, от приблизительно 55% до приблизительно 100%, от приблизительно 40% до приблизительно 95%, от приблизительно 45% до приблизительно 90%, от приблизительно 50% до приблизительно 85% или от приблизительно 55% до приблизительно 80%.

В некоторых вариантах осуществления изобретения организм может выводить частицы в течение периода времени от приблизительно 1 дня до приблизительно 5 лет, например от приблизительно 1 дня до приблизительно 3 лет или от приблизительно 1 дня до приблизительно 1 года.

Способы введения.

Описание предусматривает, что композиции, описываемые в настоящем документе (например, любые из описанных в общем или конкретно частиц или множества частиц, описываемых в настоящем документе), можно вводить в клетки и ткани в условиях *in vitro* и/или *in vivo*. Введение *in vivo* включает

введение животному в модели заболевания на животных, например в модели злокачественной опухоли на животных, или введение нуждающемуся в этом субъекту. Подходящие клетки, ткани или субъекты включают животных, таких как домашние животные, домашний скот, животные в зоопарках, вымирающие виды, редкие животные, не являющиеся человеком приматы, и люди. Иллюстративные домашние животные включают собак и кошек.

Для доставки в условиях *in vitro*, например, в клетки или ткани в культуре и/или в их окружение, композиции можно добавлять в среды для культивирования, например для контакта с микроокружением или для контакта с растворимым материалом в средах для культивирования или для контакта с клетками или даже для проникновения в клетки. На механизм доставки и средства введения композиции (например, частиц, описываемых в настоящем документе) влияет желаемый участок активности.

Для доставки *in vivo*, например, в клетки или в ткани *in vivo* (включая микроокружение клеток и ткань) и/или нуждающемуся в этом субъекту, известны многие способы введения. Конкретный способ можно выбрать с учетом состава композиции частиц, конкретного назначения и пациента. Для введения средств по изобретению известны и можно использовать различные системы доставки. Любой из таких способов можно использовать для доставки любого из средств, описанных в настоящем документе. Способы введения могут быть энтеральными или парентеральными, включая в качестве неограничивающих примеров интрадермальный, внутримышечный, интраперитонеальный, интрамиокардиальный, внутривенный, подкожный, легочный, интраназальный, интраокулярный, эпидуральный и пероральный пути введения. Композицию по изобретению можно вводить любым удобным путем, например, посредством инфузии или болюсной инъекции, посредством всасывания через эпителиальные или слизистые выстилки (например, такие как слизистая полости рта, ректальная слизистая и слизистая оболочка кишечника и т.п.), и композицию можно вводить вместе (одновременно или последовательно) с другими биологически активными средствами. Введение может быть системным или местным.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию вводят внутривенно, например, посредством болюсной инъекции или инфузии. В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию вводят перорально, подкожно, внутримышечно или интраперитонеально.

В некоторых вариантах осуществления изобретения желательным может быть местное введение композиции по изобретению в подвергаемую лечению область (например, в участок с опухолью, в частности, посредством инъекции в опухоль).

Участком метастазирования часто является печень. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения доставка композиции, описанной в настоящем документе, осуществляется в печень. Например, для доставки средства по изобретению в печень, в воротную вену печени можно помещать венозный катетер. Также возможны и другие способы доставки через воротную вену печени.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению вводят посредством внутривенной инфузии. В некоторых вариантах осуществления изобретения инфузию композиции проводят в течение периода по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20 или по меньшей мере 30 мин. В других вариантах осуществления инфузию проводят в течение периода по меньшей мере 60, 90 или 120 мин. Не зависимо от длительности инфузии предусматривается, что в некоторых вариантах осуществления каждая инфузия является частью общей схемы лечения, когда средство вводят в соответствии со стандартным графиком (например, еженедельно, ежемесячно и т.д.) в течение определенного периода времени. В других вариантах осуществления изобретения композицию доставляют посредством болюсной инъекции, например, как часть общей схемы лечения, когда средство вводят в соответствии со стандартным графиком в течение определенного периода времени.

Для любого из указанных выше режимов введения предусматривается, что композиции по изобретению (включая одно средство или комбинацию двух или более таких средств) можно вводить *in vitro* или *in vivo* любым подходящим путем или способом. Композиции можно вводить как часть схемы лечения, когда композицию вводят один раз или несколько раз, включая введение по конкретной схеме. Кроме того, предусматривается, что композиции по изобретению при необходимости готовят в форме, предназначенной для конкретного пути и места введения. Изобретение предусматривает возможность использования любой комбинации указанных выше признаков, а также комбинации с любым из аспектов и вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе.

Все указанное выше применимо к любым композициям (например, к частице или множеству частиц) по изобретению, используемым отдельно или в комбинации, и используемым в любом из способов, описанных в настоящем документе. Изобретением конкретно предусмотрена любая комбинация признаков таких композиций по изобретению, комбинация композиций и способов с признаками, описанных для различных фармацевтических композиций и путей введения, из числа описанных в этом разделе и ниже.

Фармацевтические композиции.

В некоторых вариантах описываемые частицу или частицы по изобретению готовят в виде композиции с фармацевтически приемлемым носителем. Одну или несколько композиций (например, содержащих частицу или множество частиц, описанных в настоящем документе) можно вводить отдельно или как компонент фармацевтического препарата (композиций). Любую из композиций по изобретению, в

общем или конкретно описываемых в настоящем документе, можно приготовить в форме, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит две или более частиц по изобретению или частицу по изобретению вместе со вторым терапевтическим агентом.

Композицию по изобретению можно приготовить в форме для введения любым удобным способом для применения при лечении человека или для применения в ветеринарии. В композициях могут также присутствовать смачиватели, эмульгаторы и лубриканты, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красители, средства для контроля высвобождения, покрывающие средства, подсластители, флаворанты и ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты.

Препараты, содержащие частицу или частицы по изобретению, включают, например, препараты для перорального, назального, местного, парентерального, ректального и/или интравагинального введения. Препараты для удобства их применения можно представлять в виде единичной дозированной лекарственной формы и их можно получать любым из способов, хорошо известных в области фармации. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом-носителем для получения единичной дозированной лекарственной формы, варьирует в зависимости от субъекта, получающего лечение, и конкретного способа введения. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом-носителем для получения единичной дозированной лекарственной формы, как правило, составляет количество соединения, которое обеспечивает терапевтический эффект.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы получения этих препаратов или композиций включают комбинирование одной или нескольких частиц и носителя и необязательно одного или нескольких дополнительных ингредиентов. Как правило, препараты можно получать в жидком носителе или высокодисперсном твердом носителе или в обоих, а затем, если необходимо, можно придавать продукту желаемую форму.

Препараты для перорального введения могут быть в форме капсул, облаток, пилюль, таблеток, таблеток-леденцов (с использованием ароматизированной основы, как правило, из сахарозы и гуммиарабика или трагаканта), порошков, гранул, или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле, или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с использованием инертного основания, такого как желатин и глицерин, или такого как сахароза и гуммиарабик), и/или в виде промываний для полости рта и т.п., где каждый препарат содержит predetermined количество частиц по изобретению. В дополнение к активным соединениям суспензии могут содержать суспендирующие агенты, такие как этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксисэтиленсорбит и сложные сорбитановые эфиры, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар, трагакант и их смеси.

В твердых лекарственных формах для перорального введения (капсулы, таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы и т.п.) одну или несколько композиций по настоящему изобретению можно смешивать с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, такими как цитрат натрия или дифосфат кальция, и/или с любым из следующих ингредиентов: (1) наполнители или разбавители, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связывающие агенты, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или гуммиарабик; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) дезинтегранты, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия; (5) агенты, замедляющие растворение, такие как парафин; (6) ускорители всасывания, такие как четвертичные аммонийные соединения; (7) смачиватели, такие как, например, цетиловый спирт и глицеринмоностеарат; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) лубриканты, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси; и (10) красители. В случае капсул, таблеток и пилюль, фармацевтические композиции также могут содержать буферные агенты. Твердые композиции подобного типа также можно использовать для заполнения мягких и твердых желатиновых капсул с использованием таких эксципиентов как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и т.п. Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к активному ингредиенту жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, которые широко используются в данной области, такие как вода или другие растворители, солубилизаторы и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (в частности, хлопковое масло, арахисовое масло, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбита, а также их смеси. Кроме инертных разбавителей пероральные композиции также могут содержать вспомогательные вещества, такие как смачиватели, эмульгаторы и суспендирующие агенты, подсластители, флаворанты, красители, ароматизаторы и консерванты.

В некоторых вариантах способы по изобретению предусматривают местное применение путем нанесения на кожу или на слизистые оболочки, такие как оболочки шейки матки и влагалища. Препараты для местного применения могут дополнительно содержать один или несколько средств из широкого

спектра соединений, используемых в качестве эффективных усилителей впитывания в кожу или в роговой слой. Примеры таких соединений включают 2-пирролидон, N-метил-2-пирролидон, диметилацетамид, диметилформамид, пропиленгликоль, метиловый или изопропиловый спирт, диметилсульфоксид и азон. Кроме того, для получения косметических препаратов в их состав можно включать дополнительные средства. Примеры таких дополнительных средств включают жиры, воски, масла, красители, ароматизаторы, консерванты, стабилизаторы и поверхностно-активные вещества. Также можно включать кератолитические средства, такие как кератолитики, известные в данной области. Примеры кератолитиков включают салициловую кислоту и серу. Дозированные лекарственные формы для местного или трансдермального введения включают порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и ингаляторы. Агент по изобретению может быть смешан в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми консервантами, буферами или пропеллентами, которые могут потребоваться. Мази, пасты, кремы и гели, кроме агента по изобретению, могут содержать такие эксципиенты, как животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, крахмал, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, кремнийорганические соединения, бентониты, кремниевую кислоту, тальк, оксид цинка или их смеси. Порошки и спреи, кроме агента по изобретению могут содержать такие эксципиенты, как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция, полиамидный порошок или смеси этих веществ. Спреи дополнительно могут содержать стандартные пропелленты, такие как хлорфторуглеводороды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

Фармацевтические композиции, подходящие для парентерального введения, могут содержать одну или несколько композиций по изобретению в комбинации с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводным растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями, или стерильные порошки, которые непосредственно перед применением можно восстанавливать в стерильные инъекционные растворы или дисперсии, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатики, растворимые компоненты, которые обеспечивают изотоничность к составу крови получающего реципиента, или суспендирующие средства или загустители. Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые можно использовать в фармацевтических композициях по изобретению, включают воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, растительные масла, например оливковое масло, и инъекционные сложные органические эфиры, например такой как этилолеат. Необходимую текучесть можно поддерживать, например, используя такие материалы покрытия, как лецитин, поддерживая требуемый размер частиц в случае дисперсий и используя поверхностно-активные вещества.

Эти композиции также могут содержать вспомогательные вещества, такие как консерванты, смачиватели, эмульгаторы и диспергирующие агенты. Предотвращение действия микроорганизмов можно обеспечивать включением различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например парабена, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и т.п. Также желательным может быть включение в композицию средств для придания изотоничности, таких как сахара, хлорид натрия и т.п. Кроме того, можно обеспечить пролонгированное поглощение инъекционной фармацевтической формы посредством включения средств, задерживающих поглощение, таких как моностеарат алюминия и желатин.

Формы в виде инъекционного депо получают путем формирования микроинкапсулированных матриц с одной или несколькими частицами в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения количеств лекарственного вещества к полимеру и характера конкретного применяемого полимера можно контролировать скорость высвобождения лекарственного вещества. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды). Препараты в виде инъекционных депо также получают, заключая лекарственное вещество в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканями организма.

В предпочтительном варианте композиции по изобретению получают стандартными способами в виде фармацевтических композиций, адаптированных для внутривенного введения человеку или животным, таким как домашние животные. Когда необходимо, композиция может также включать солибулизатор и местный анестетик, такой как лидокаин, для снижения боли в участке инъекции. Когда композицию необходимо вводить посредством инфузии, ее можно помещать во флакон для инфузий, содержащий стерильную воду или солевой раствор фармацевтической чистоты. Когда композицию вводят посредством инъекции, можно предоставлять ампулу со стерильной водой или солевым раствором для инъекций так, чтобы ингредиенты перед введением можно было смешивать.

В другом варианте композиции (например, частиц или частицы), описанные в настоящем документе, получают в форме для подкожного, интраперитонеального или внутримышечного введения человеку или животным, таким как домашние животные.

В некоторых вариантах агенты и частицы по изобретению получают в форме для локальной доставки в опухоль, например для доставки путем внутриопухолевой инъекции.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция предназначена для местного введения в печень через воротную вену печени и агенты и частицы можно готовить в виде препарата соответствующей формы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения конкретный препарат пригоден для введения более чем одним путем. Таким образом, например, препарат, подходящий для внутривенной инфузии, также может подходить для доставки через воротную вену печени. Однако в других вариантах осуществления изобретения препарат пригоден для использования в по одному пути введения, но не пригоден для другого пути введения.

Количество агента или частиц по изобретению, которое эффективно при лечении такого патологического состояния, как рак, и/или эффективно для нейтрализации растворимого TNFR, и/или эффективно для снижения количества TNF α или его активности связывания растворимым TNFR, в частности растворимым TNFR, присутствующим в микроокружении опухоли и необязательно в плазме, и/или эффективно при ингибировании пролиферации, роста или выживания клеток опухоли в условиях *in vitro* или *in vivo*, можно определять стандартными клиническими или лабораторными методами. Кроме того, для помощи в определении оптимальных диапазонов доз можно необязательно выполнять анализы в условиях *in vitro*. Точная доза препарата для применения также зависит от пути введения и тяжести состояния пациента, и ее необходимо устанавливать в соответствии с решением практикующего врача и состояния каждого субъекта. Эффективные дозы для введения людям или животным можно экстраполировать из кривых зависимостей "доза-эффект", получаемых в тестовых системах в условиях *in vitro* или в моделях на животных.

В некоторых вариантах композиции по изобретению, включающие фармацевтические препараты, являются непирогенными. Другими словами в некоторых вариантах композиции по существу не содержат пирогенов. В одном из вариантов препараты по изобретению представляют собой составы, не содержащие пирогенов, которые по существу не содержат эндотоксинов и/или родственных пирогенных веществ. Эндотоксины включают токсины, которые содержатся внутри микроорганизмов и высвобождаются только при разрушении или гибели микроорганизмов. Пирогенные вещества также включают индуцирующие лихорадку термостабильные вещества (гликопротеины) из наружной мембраны бактерий и других микроорганизмов. Все эти вещества при введении людям могут вызывать лихорадку, падение давления и шок. Вследствие возможных неблагоприятных эффектов даже небольшие количества эндотоксинов необходимо удалять из растворов фармацевтических лекарственных средств, вводимых внутривенно. Управление по контролю за пищевыми продуктами и медикаментами правительства США (Food & Drug Administration; FDA) в отношении внутривенных лекарственных средств установила верхний предел в 5 эндотоксиновых единиц (ЭЕ) на дозу на килограмм массы тела в течение периода один час (The United States Pharmacopeial Convention, Pharmacopeial Forum, 26(1):223 (2000)). Когда терапевтические белки вводят в относительно больших дозах и/или в течение длительного периода времени (например, такого как в течение всей жизни пациента), даже небольшие количества вредного и опасного эндотоксина могут быть опасными для пациента. В некоторых конкретных вариантах осуществления изобретения концентрации эндотоксинов и пирогенов в композиции составляют менее 10 ЭЕ/мг, или менее 5 ЭЕ/мг, или менее 1 ЭЕ/мг, или менее 0,1 ЭЕ/мг, или менее 0,01 ЭЕ/мг, или менее 0,001 ЭЕ/мг.

Все указанное выше применимо к любому из агентов, композиций и способов по изобретению, описанных в настоящем документе. Изобретением предусматривается любая комбинация характеристик агентов по изобретению, композиций и способов, описанных здесь (отдельно или в комбинации), с характеристиками, описанными для различных фармацевтических композиций и путей введения, описанных в этом разделе и выше.

В описании предоставлено множество общих и конкретных примеров агентов и категорий агентов, пригодных для использования в способах по изобретению ("агенты по изобретению"). Изобретением предусматривается, что любой из таких агентов или категорий агентов можно приготовить в форме для введения в условиях *in vitro* или *in vivo*, как описано в настоящем документе.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения предусмотрены композиции, включающие фармацевтические композиции, содержащие любой агент по изобретению, описанный в настоящем документе, приготовленные с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями и/или эксципиентами. Такие композиции можно описать с использованием любой из функциональных и/или структурных характеристик агента по изобретению, из числа приведенных в настоящем документе. Любые такие композиции или фармацевтические композиции можно использовать в условиях *in vitro* или *in vivo* в любом из способов по изобретению.

Аналогично изобретение предлагает выделенный или очищенный агент по изобретению. Агент по изобретению, описанный на основе любой из функциональных и/или структурных характеристик агента, из числа раскрытых в настоящем документе, можно предоставить в виде выделенного агента или очищенного агента. Такие выделенные или очищенные агенты имеют множество применений в условиях *in vitro* или *in vivo*, включая применение в любом из способов, выполняемых в условиях *in vitro* или *in vivo*, описанных в настоящем документе.

Применения.

Композиции (например, частицы и их фармацевтические композиции), описанные здесь, пригодны для многих диагностических и терапевтических применений. Например, частицы, описанные здесь, можно использовать для лечения рака, детоксикации субъекта или для лечения вирусных или бактери-

альных инфекций.

Терапевтические применения включают введение одной или нескольких композиций, описанных здесь, субъекту, например человеку, рядом способов, которые частично зависят от пути введения. Путь введения может представлять собой, например, внутривенную инъекцию или инфузию (в/в), подкожную инъекцию (п/к), интраперитонеальную (и/п) инъекцию или внутримышечную инъекцию (в/м).

Введение можно проводить, например, посредством местной инфузии, инъекции или посредством имплантата. Имплантат может представлять собой пористый, непористый или гелеобразный материал, включая мембраны, такие как мембраны из силластика, или волокна. Имплантат можно конфигурировать для длительного или периодического высвобождения композиции у субъекта. См., например, публикацию патентной заявки США US 2008/0241223; патенты США US 5501856; US 5164188; US 4863457 и US 3710795; EP 488401 и EP 430539, полное содержание которых включено сюда посредством ссылки. Композицию можно доставлять субъекту посредством имплантируемого устройства на основе, например, диффузионных, эродирующих или конвекционных систем, например осмотических насосов, био-разлагаемых имплантатов, электродиффузионных систем, электроосмотических систем, насосов под действием давления паров, электролитических насосов, насосов под действием бурно выделяющихся газов, пьезоэлектрических насосов, систем на основе эрозии или электромеханических систем.

Используемый здесь термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" в условиях *in vivo* означает дозу, достаточную для лечения, ингибирования или облегчения одного или нескольких симптомов подвергаемого лечению нарушения, или обеспечивающую иным образом желаемое фармакологическое и/или физиологическое действие, например, модулирующее (например, усиливающее) иммунный ответ на антиген. Точная доза варьирует в зависимости от ряда факторов, таких как связанные с субъектом варьирующие показатели (например, возраст, состояние иммунной системы и т.д.), заболевание и проводимое лечение.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики заболевания или состояния у пациента путем введения пациенту композиции, содержащей наночастицы, описанные здесь. В некоторых вариантах изобретение относится к способу снижения концентрации биомолекулы у пациента, такому как способу снижения концентрации биомолекулы в жидкости тела пациента (например, в крови и/или внеклеточной жидкости) путем введения пациенту композиции, содержащей наночастицы, описанные здесь.

Как используется здесь, млекопитающее может представлять собой человека, не являющегося человеком примата (например, мартишку, бабуина или шимпанзе), лошадь, корову, свинью, овцу, козу, собаку, кошку, кролика, морскую свинку, песчанку, хомяка, крысу или мышь. В некоторых вариантах осуществления млекопитающее представляет собой младенца (например, младенца человека). В некоторых предпочтительных вариантах субъектом является человек.

Как используется в настоящем документе, млекопитающее "нуждающееся в предотвращении", "нуждающееся в лечении" или "нуждающееся в этом", относится к млекопитающему, которое по решению компетентного врача-терапевта (например, доктора, медицинской сестры или санитаря, в случае людей; ветеринара, в случае не являющихся человеком млекопитающих), может получить объективный положительный эффект от получаемого лечения.

Термин "предотвращение" принят в данной области, и его широко используют в отношении патологического состояния, при этом в данной области он включает введение композиции, которая снижает частоту или задерживает начало проявления симптомов медицинского состояния у млекопитающего по сравнению с субъектом, который не получил такой композиции.

Подходящие для человека дозы любой из композиций, описанных здесь, можно дополнительно оценивать, например, в фазе I исследований с увеличением дозы. См., например, van Gurp et al., *Am. J. Transplantation*, 8(8):1711-1718 (2008); Hanouska et al. *Clin. Cancer. Res.*, 13(2, part 1):523-531 (2007); и Hetherington et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(10):3499-3500 (2006).

Способ может дополнительно включать стадию измерения концентрации целевой биомолекулы у субъекта (например, в сыворотке крови субъекта) перед введением субъекту композиции, содержащей множество частиц, которые нацелены на эти биомолекулы. Способ может дополнительно включать вычисление количества частиц для введения субъекту, например, на основе концентрации биомолекул у субъекта (например, в сыворотке крови субъекта) и/или роста, веса и/или возраста субъекта.

Токсичность и терапевтическую эффективность таких композиций можно определять известными фармацевтическими методами в культурах клеток или на экспериментальных животных (например, в моделях рака, токсичности или инфекций на животных). Эти способы можно использовать, например, для определения LD₅₀ (дозы, летальной для 50% популяции) и ED₅₀ (дозы, терапевтически эффективной у 50% популяции). Отношение доз при токсическом и терапевтическом действии представляет собой терапевтический индекс и его можно выражать в виде отношения LD₅₀/ED₅₀. Агенты, которые имеют высокий терапевтический индекс, являются предпочтительными. Можно использовать композиции, которые имеют токсические побочные эффекты, однако при этом следует уделить внимание разработке систем доставки, которые доставляют такие соединений в участок пораженной ткани, и минимизации потенциального повреждения нормальных клеток, снижая, таким образом, побочные эффекты.

Данные, получаемые из анализа культуры клеток и исследований животных, можно использовать для формирования диапазона доз для применения у людей. Как правило, доза таких композиций находится в диапазоне циркулирующих концентраций композиций, который включает ED₅₀ с небольшой или отсутствующей токсичностью. Доза в этом диапазоне может варьировать в зависимости от используемой лекарственной формы и пути введения. Исходно терапевтически эффективную дозу можно рассчитывать на основе анализов культур клеток. Дозу можно формировать в моделях на животных с достижением диапазона циркулирующей концентрации в плазме, который включает IC₅₀ (например, концентрация антитела, которая обеспечивает половину максимального ингибирования симптомов), определенную в культуре клеток. Такую информацию можно использовать для более точного определения подходящих доз у людей. Концентрации в плазме можно определять, например, посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC). В некоторых вариантах осуществления изобретения, например, когда желательна местное введение, для определения дозы, необходимой для достижения терапевтически эффективной концентрации в локальном участке, можно использовать культуру клеток или моделирование на животных.

В некоторых вариантах осуществления любого из способов, описанных здесь, частицы можно вводить млекопитающему в сочетании с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами/средствами (например, терапевтическими средствами для лечения инфекции или лечения рака).

В некоторых вариантах осуществления изобретения частицы и дополнительное терапевтическое средство можно вводить млекопитающему с использованием различных путей введения. Например, дополнительное терапевтическое средство можно вводить подкожно или внутримышечно, а частицы можно вводить внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления способ по изобретению включает измерение концентрации биомолекулы у субъекта. Например, способ может включать измерение концентрации биомолекулы в крови субъекта. Способ может дополнительно включать введение субъекту композиции, содержащей множество частиц, которые нацелены на биомолекулы (т.е. множество частиц, как описано здесь, содержащих агент, который селективно связывается с биомолекулой). Стадия измерения может обеспечить надлежащее дозирование частиц. Таким образом, стадия измерения может быть выполнена до введения композиции. Тем не менее стадия измерения может быть выполнена после введения композиции, например, для оценки эффективности композиции. Способ может дополнительно включать введение субъекту второй или последующей дозы композиции, содержащей множество частиц, например, если это оправданно с учетом измеренной концентрации биомолекулы. Таким образом, концентрацию биомолекулы можно титровать, например, путем итеративного измерения концентрации биомолекул в субъекте при введении композиции в различных дозах или уровнях. Аналогичным образом число частиц, вводимых субъекту, можно титровать по отношению концентрации биомолекулы, на которые нацелены частицы.

Титрование концентрации биомолекулы у субъекта или количества частиц, вводимых субъекту, может быть особенно полезными, например, когда биомолекула способствует вредному локальному воздействию (например, в опухоли), но имеет положительный системный эффект. Таким образом, множество частиц может быть введено либо в конкретное место или рядом с этим местом у пациента, чтобы биомолекулы были локализованы в этом месте, а системная концентрация биомолекул может контролироваться с целью определения, можно ли безопасно вводить субъекту дополнительные частицы.

Титрование концентрации биомолекулы у субъекта или количества частиц, вводимых субъекту, также может быть полезным, например, для поддержания концентрации биомолекул в пределах заданного диапазона. Заданный диапазон может быть диапазоном, который соответствует здоровому состоянию, например, в котором в случае перепроизводства биомолекул у субъекта или когда заданный диапазон является терапевтическим диапазоном. Такое титрование может быть особенно полезным в способах лечения заболеваний, вызванных чрезмерной секрецией гормонов. Например, частица может содержать агент, который связывается с биомолекулой гормона роста, например, для применения в способе лечения акромегалии или гигантизма, и такие частицы можно титровать, чтобы гарантировать, что уровни гормона роста остаются в диапазоне, соответствующим уровню здорового пациента. Частица может содержать агент, который связывается с биомолекулой тироксина и/или триидтиронином, например, для применения в способе лечения гипертиреоза, и такие частицы можно титровать, чтобы гарантировать, что уровень тироксина и/или триидтиронину остается в диапазоне, соответствующим уровню здорового пациента. Частица может содержать агент, который связывается с биомолекулой адренкортикотропного гормона или кортизола, например, для применения в способе лечения болезни Кушинга, и такие частицы можно титровать, чтобы гарантировать, что уровни адренкортикотропного гормона и/или кортизола остаются в диапазоне, соответствующим уровню здорового пациента. Пример терапевтического диапазона включает в себя титрование фактора свертывания крови, такого как фактор VIII, фактор IX или фактор XI, в диапазоне, который ингибирует свертывание крови в течение определенного периода времени. Такой диапазон может быть ниже нормальной концентрации, диапазоне, соответствующим уровню здорового пациента, и еще терапевтический диапазон может быть полезным, например, для ингибирования тромбоза или ишемии у некоторых пациентов.

Терапия с адаптивным клеточным переносом.

Способ может включать введение композиции, содержащей множество частиц, описанных здесь, субъекту, который получил терапию с адаптивным клеточным переносом (АСТ). Способ может включать введение композиции, содержащей множество частиц, описанных здесь, субъекту, который может получить выгоду от терапии с адаптивным клеточным переносом. Способ может дополнительно включать проведение терапии с адаптивным клеточным переносом в отношении субъекта до, после или одновременно с введением композиции, содержащей множество частиц.

Терапия с адаптивным клеточным переносом может включать в себя введение субъекту композиции, содержащей лимфоциты. Лимфоциты могут быть Т-лимфоцитами (например, Т-клетками), такими как опухолевыми инфильтрующими лимфоцитами (TIL). В предпочтительных вариантах лимфоциты являются Т-лимфоцитами, такими как опухолевыми инфильтрующими лимфоцитами. Композиция, содержащая лимфоциты, может быть по существу свободной от клеток, которые не являются лимфоцитами, например, композиция может быть по существу свободной от клеток и фрагментов клеток, полученных из миелоидных клеток-предшественников (например, эритроцитов, тучных клеток, базофилов, нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, макрофагов, мегакариоцитов, тромбоцитов). Композиция, содержащая лимфоциты, может быть по существу свободной от клеток, которые не являются Т-клетками, например композиция может быть по существу свободна от естественных клеток-киллеров, В-клеток и/или клеток плазмы. Композиция, содержащая лимфоциты, может содержать клетки, где клетки состоят в основном из Т-клеток. Композиция, содержащая лимфоциты, может быть по существу свободной от клеток, которые не являются опухолевыми инфильтрующими лимфоцитами. Композиция, содержащая лимфоциты, может содержать опухолевые инфильтрующие лимфоциты. Композиция, содержащая лимфоциты, может содержать клетки, где клетки состоят в основном из опухолевых инфильтрующих лимфоцитов.

Композиция, содержащая лимфоциты, может содержать рекомбинантные лимфоциты, например, где лимфоциты содержат экзогенную нуклеиновую кислоту. Так, например, лимфоциты могут содержать химерный рецептор антигена (CAR). Аналогичным образом лимфоциты могут включать ген нокаута, например, такого, который снижает риск иммунного ответа "трансплантат-против-хозяина" или иммунного ответа "хозяин-против-трансплантата" (например, при неаутологичной трансплантации, такой как аллогенной трансплантации). В некоторых вариантах композиция, содержащая лимфоциты, может включать рекомбинантные Т-клетки, такие как рекомбинантные опухолевые инфильтрующие лимфоциты, при этом, например, лимфоциты могут быть рекомбинантными Т-клетками, такими как рекомбинантные опухолевые инфильтрующие лимфоциты.

Терапия с адаптивным клеточным переносом может включать аутологичную трансплантацию или неаутологичную трансплантацию, например аллогенную трансплантацию.

Субъект может получать терапию с адаптивным клеточным переносом приблизительно за 1 год до введения субъекту композиции по изобретению, например приблизительно за 6 месяцев, приблизительно за 5 месяцев, приблизительно за 4 месяца, приблизительно за 3 месяца, приблизительно за 2 месяца, приблизительно за 1 месяц, приблизительно за 4 недели, приблизительно за 3 недели, приблизительно за 2 недели, приблизительно за 14 дней, приблизительно за 13 дней, приблизительно за 12 дней, приблизительно за 11 дней, приблизительно за 10 дней, приблизительно за 9 дней, приблизительно за 8 дней, приблизительно за 7 дней, приблизительно за 6 дней, приблизительно за 5 дней, приблизительно за 4 дня, приблизительно за 3 дня, приблизительно за 2 дня или за 1 день до введения субъекту композиции по изобретению. Способ может включать в себя введение композиции, содержащей множество частиц, субъекту менее чем приблизительно через 1 год после введения субъекту композиции, содержащей лимфоциты, например менее чем приблизительно через 6 месяцев, приблизительно через 5 месяцев, приблизительно через 4 месяца, приблизительно через 3 месяца, приблизительно через 2 месяца, приблизительно через 1 месяц, приблизительно через 4 недели, приблизительно через 3 недели, приблизительно через 2 недели, приблизительно через 14 дней, приблизительно через 13 дней, приблизительно через 12 дней, приблизительно через 11 дней, приблизительно через 10 дней, приблизительно через 9 дней, приблизительно через 8 дней, приблизительно через 7 дней, приблизительно через 6 дней, приблизительно через 5 дней, приблизительно через 4 дня, приблизительно через 3 дня, приблизительно через 2 дня или через 1 день после введения субъекту композиции, содержащей лимфоциты. Способ может включать введение субъекту композиции, содержащей множество частиц, в пределах приблизительно 1 года после введения субъекту композиции, содержащей лимфоциты, например в пределах приблизительно 6 месяцев, приблизительно 5 месяцев, приблизительно 4 месяцев, приблизительно 3 месяцев, приблизительно 2 месяца, приблизительно 1 месяца, приблизительно 4 недель, приблизительно 3 недель, приблизительно 2 недель, приблизительно 14 дней, приблизительно 13 дней, приблизительно 12 дней, приблизительно 11 дней, приблизительно 10 дней, приблизительно 9 дней, приблизительно 8 дней, приблизительно 7 дней, приблизительно 6 дней, приблизительно 5 дней, приблизительно 4 дня, приблизительно 3 дня, приблизительно 2 дня или в течение приблизительно 1 дня после введения субъекту композиции, содержащей лимфоциты.

Терапия с адаптивным клеточным переносом может быть особенно эффективна у пациентов, которых имеют новообразования, такие как рак шейки матки, рак молочной железы, лимфома, лейкемия,

хронический лимфолейкоз, фолликулярная лимфома, крупноклеточная лимфома, лимфобластный лейкоз, миелоидный лейкоз, множественная миелома, рак желчных протоков, рак толстой кишки, нейробластома, рак легкого, саркома, синовиальная саркома или меланома. Тем не менее терапия с адоптивным клеточным переносом может быть полезна для лечения других заболеваний, таких как серьезные или угрожающей жизни инфекции (например, ВИЧ (HIV)).

Отдельные применения, связанные с новообразованиями.

В некоторых вариантах осуществления изобретения частицы, описываемые здесь, могут быть полезными для лечения субъекта с раком. Иллюстративные агенты, пригодные в композициях частиц, описанных здесь, и/или растворимые биомолекулы, которые можно захватывать такими частицами, описаны в настоящем документе (см., например, табл. 2), и они известны в данной области. Например, частицы, способные к захвату sTNFR, MMP2, MMP9, sIL-2R, рецептора sIL-1 и т.п., пригодны для лечения рака и/или для усиления иммунного ответа при раке, облегчая растормаживание иммунной системы.

Подход, используемый в иммунотерапии в виде растормаживания иммунной системы, частично основан на концепции, что многие пациенты с раком, как правило, в целом являются иммунологически компетентными, но их иммунные системы локально ингибированы в микроокружении опухолей. Если снизить это ингибирование иммунной системы посредством введения частиц по изобретению, собственная иммунная система пациента сможет действовать на опухоль. Таким образом, в некоторых вариантах частицы по изобретению обеспечивают способ иммунотерапии без необходимости гиперстимуляции иммунной системы пациента посредством добавления экзогенных активных цитокинов, предназначенных для связывания с рецепторами на клеточной поверхности для вызова иммунного ответа, и/или без гиперстимуляции иммунной системы пациента другим способом.

Практически, так как пациенты с раком, как правило, являются иммунологически компетентными, способность лимфоцитов распознавать опухолевые антигены в основном не подавлена опухолью. Таким образом, лимфоциты входят в микроокружение опухоли, как они бы это делали с любым aberrантным клеточным кластером, после чего цитокины и цитотоксические факторы, такие как фактор некроза опухоли (TNF, такой как TNF α , основной цитотоксический "меч" иммунной системы), отщепляются от лимфоцитов в микроокружении. Если вместо злокачественных клеток клетки являются инфицированными вирусами, то TNF (такой как TNF α) будет связываться с рецептором TNF (TNFR) на поверхности инфицированной клетки, что приведет к их быстрому разрушению посредством апоптоза или окислительного стресса в зависимости от связывания TNF рецептором типа R1 или R2. Другими словами, в случае нормального иммунного ответа, который не простимулирован присутствием опухоли и/или опухолевых антигенов, TNF, выделяемый лимфоцитами, будет доступен для связывания с рецепторами TNF (рецепторами типа R1 и/или R2) на клеточной поверхности как часть развития иммунного ответа. Даже в случае опухоли лимфоциты мигрируют в участок опухоли.

Однако многие типы раковых клеток имеют иное поведение, чем другие типы aberrантных клеток, таких как инфицированных вирусами клеток, главным образом тем, что у них происходит сверхпродукция рецепторов TNF (обоих типов) и выделение их в окружение опухоли. Таким образом, микроокружение раковых клеток и/или опухолей содержит определенные количества растворимых рецепторов TNF. Не связываясь с какой-либо теорией, ясно, что концентрации растворимых рецепторов TNF в микроокружении опухолей превосходят уровни, наблюдаемые в микроокружении здоровых клеток, таких как здоровые клетки ткани того же типа. Дополнительно или альтернативно скорость и количество выделяемого рецептора TNF у злокачественных клеток являются большими, чем у здоровых клеток. Кроме того, не связываясь с какой-либо теорией, ясно, что уровни растворимых рецепторов TNF, выявляемые в плазме пациентов с раком, в некоторых вариантах могут быть более высокими, чем у здоровых субъектов.

Независимо от механизма этой модели эти выделяемые растворимые рецепторы TNF связываются с TNF, эндогенно высвобождаемым рекрутированными лимфоцитами, нейтрализуют эндогенный TNF и эффективно создают область иммунологической привилегированности вокруг опухоли, в которой опухоль продолжает расти и выделять дополнительные рецепторы TNF. Другими словами, выделяемые растворимые рецепторы TNF поглощают TNF α , эндогенно продуцируемые лимфоцитами и предотвращают или ингибируют связывание этого TNF с рецепторами TNF на поверхности раковых клеток. Это уменьшает количество или удаляет TNF, доступный для связывания с рецепторами TNF на поверхности раковых клеток. По существу растворимые рецепторы TNF вытесняют другие TNF в борьбе за связывание с TNF α и, таким образом, снижают активность TNF, такого как TNF α , в отношении связывания рецепторов TNF на клеточной поверхности.

Подобным образом описанный выше сценарий может происходить в случае IL-2 и выделяемых растворимых рецепторов IL-2.

В некоторых вариантах биомолекула представляет собой токсин, высвобождаемый раковыми клетками при апоптозе.

Настоящее изобретение предоставляет фармакологические подходы, которые можно использовать системно или местно для уменьшения подавления иммунной системы (например, для растормаживания

иммунной системы), вызванной выделяемыми рецепторами при раке. Настоящее изобретение предоставляет способы и композиции для уменьшения количества и/или активности (например, нейтрализующей активности) растворимых рецепторов TNF и/или растворимых рецепторов IL-2 (или любых других растворимых биомолекул, приводящих к растормаживанию иммунной системы), например, в микроокружении раковых клеток и опухолей. Не связываясь с какой-либо теорией, ясно, что уменьшение количества и/или снижение активности, например, растворимых рецепторов TNF (например, таких как в микроокружении опухоли), можно использовать в качестве части способа ингибирования пролиферации, роста или выживания клеток, таких как раковых клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения это можно использовать для ингибирования выживания клеток, таких как раковые клетки. Иллюстративные способы и агенты описаны здесь.

Регуляторные Т-клетки (TREG) в качестве способа снижения иммунного ответа во избежание, например, аутоиммунного заболевания, вызываемого сверхактивными Т-клетками или продолжительным функционированием Т-клеток, могут секретировать те же лиганды, что и раковые клетки. Например, CD80/B7-1 и CD86/B7-2 связываются с рецептором CTLA-4 на Т-клетках и ингибируют активность Т-клеток. Вместо блокирования рецептора CTLA-4, можно сконструировать частицы, описанные здесь, для захвата CD80/B7-1 и/или CD86/B7-2. Подобным образом, частицы, описанные здесь, можно сконструировать для захвата других ингибиторов иммунных контрольных точек, таких как PD-1L, например, с использованием частиц, содержащих рецептор PD-1. Такие композиции частиц обеспечивают определенное преимущество по сравнению с другими подходами к стимуляции иммунной системы для лечения рака.

Мишенью может быть растворимый PD-L2, например, для ингибирования взаимодействия между растворимым PD-L2 и PDL. Агент может представлять собой PDL. Ингибирование взаимодействия между растворимым PD-L2 и PDL может позволить PDL связать связанные с мембраной варианты PD-L2, способствуя тем самым апоптозу раковых клеток. Мишенью может быть растворимый PDL. Агент может представлять собой лиганд PDL, например PD-L2, растворимый PD-L2 или его варианты, или антитела против PDL, такие как ниволумаб или пембролизумаб. Частицы, нацеленные на PDL (т.е. на растворимый PDL), и их лиганды могут быть особенно полезны для лечения аутоиммунного заболевания в дополнении к другим заболеваниям и состояниям.

Мишенью может быть растворимый CTLA4, например, для ингибирования взаимодействия между B7-1 или B7-2 и растворимым CTLA4. Агент может представлять собой лиганд CTLA4, такой как растворимый B7-1, растворимый B7-2, или их варианты, или антитела против CTLA4, такие как ипилимумаб или тремелимумаб. Ингибирование взаимодействия между B7-1 или B7-2 и растворимым CTLA4 может позволить B7-1 или B7-2 связываться с CD28 на Т-клетках, способствуя тем самым активации Т-клеток. Частицы, нацеленные на CTLA4 (т.е. на растворимый CTLA4), могут быть особенно полезны для лечения меланомы и рака легкого, такого как немелкоклеточный рак легкого, в дополнении к другим заболеваниям и состояниям.

Агент может представлять собой белок, который специфически связывается с аденозином, таким как аденозин-связывающей частью аденозинового рецептора. Мишенью может быть аденозин. Частицы, нацеленные на аденозин, могут быть особенно полезны для лечения солидных опухолей, и такие частицы могут быть введены в солидную опухоль, например, для ингибирования передачи сигнала аденозина внутри микроокружения опухоли.

Агент может представлять собой остеопротегерин или его лиганд-связывающую часть, например, для селективного связывания лигандов остеопротегерина. Частицы, нацеленные на лиганды остеопротегерина, могут быть особенно полезны для лечения рака, такого как рак молочной железы, в дополнении к другим заболеваниям и состояниям.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектом является субъект, у которого имеется рак, предполагается наличие рака или существует риск развития рака. В некоторых субъектом является субъект, у которого имеется аутоиммунное заболевание, предполагается наличие аутоиммунного заболевания или существует риск развития аутоиммунного заболевания.

Как используется в настоящем документе, субъект "с риском развития" рака представляет собой субъект с одним или несколькими (например, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью или восемью или более) факторами риска развития рака. Например, субъект с риском развития рака может иметь предрасположенность к развитию рака (например, генетическую предрасположенность к развитию рака, такую как мутацию в гене опухолевого супрессора (например, мутацию в BRCA1, p53, RB или APC) или этот субъект подвергается действию условий или факторов, которые могут приводить к патологическому состоянию). Таким образом, субъект может представлять собой субъекта "с риском развития рака", когда субъект подвергается действию мутагенных или канцерогенных концентраций некоторых соединений (например, канцерогенных соединений в сигаретном дыме, таких как акролеин, мышьяк, бензол, бенз[а]антрацен, бензо[а]пирен, полоний-210 (Radon), уретан или винилхлорид). Кроме того, у субъекта может быть "риск развития рака", когда субъект подвергается действию, например, больших доз ультрафиолетового света или рентгеновского излучения или он подвергается действию (например, инфекции) вызывающего опухоль вируса или вируса, ассоциированного с опухолью, такого как вирус папилломы,

вирус Эпштейна-Барр, вирус гепатита В или вирус Т-клеточного лейкоза-лимфомы человека. Рак представляют собой класс заболеваний или нарушений, характеризуемый неконтролируемым делением клеток и их способностью к распространению посредством непосредственного роста в соседнюю ткань посредством инвазии или проникания в удаленные участки за счет метастазирования (когда происходит транспорт злокачественных клеток через кровоток или лимфатическую систему). Рак может поражать людей всех возрастов, но существует тенденция увеличения риска с возрастом. Типы раков или злокачественных опухолей могут включать, например, рак легких, рак молочной железы, рак толстого кишечника, рак поджелудочной железы, злокачественную опухоль почки, рак желудка, рак печени, злокачественную опухоль кости, гематологическую злокачественную опухоль, злокачественную опухоль нервной ткани (например, глиобластома, такую как мультиформная глиобластома), меланому, рак щитовидной железы, рак яичника, рак яичка, рак предстательной железы, рак шейки матки, рак влагалища или рак мочевого пузыря. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения пациент (или субъект) имеет рак мозга, рак эндометрия, рак простаты, рак почки или плоскоклеточный рак (например, плоскоклеточный рак головы и шеи), каждый из которых особенно чувствителен к внеклеточным биомолекулам, которые могут увеличить тяжесть заболевания.

Аналогичным образом субъект с риском развития инфекции представляет собой субъекта с одним или несколькими факторами риска, которые увеличивают вероятность контакта с патогенными микроорганизмами.

Субъект, "у которого предполагают наличие" рака или инфекции, представляет собой субъекта с наличием одного или нескольких симптомов рака или инфекции. Следует понимать, что субъекты с риском развития или с подозрением на наличие рака или инфекции не включают всех субъектов, подлежащих лечению.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы включают определения наличия у субъекта рака или аутоиммунного заболевания.

Отдельные применения, относящиеся к воспалительным расстройствам и аутоиммунным нарушениям.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения частицы, описанные здесь, могут быть использованы для лечения воспалительного расстройства и/или аутоиммунного нарушения. Типичные агенты, используемые в композициях частиц, описанных здесь, и/или растворимые биомолекулы, которые могут захватываться этими частицами, которые описаны здесь (см., например, табл. 2), известны в данной области техники. Так, например, частицы, способные захватывать цитокины (например, TNF α или интерлейкины, такие как IL-2, IL-6 или IL-1) или хемокины (например, CXCL8 или CXCL1) могут быть полезны для лечения различных аутоиммунных и/или воспалительных заболеваний.

Агент может представлять собой растворимый CD28 или его лиганд-связывающую часть, например, для селективного связывания лигандов CD28, таких как растворимый B7 (например, растворимый B7-1 или растворимый B7-2). Агент может представлять собой галиксимаб. Мишенью может быть лиганд CD28, такой как растворимый B7. Частицы, нацеленные на лиганды CD28, могут быть особенно полезны для профилактики или лечения волчанки, такой как системная красная волчанка, в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Агент может представлять собой антитело против B7-H4, например, для селективного связывания растворимого B7-H4. Мишенью может быть растворимый B7-H4. Частицы, нацеленные на растворимый B7-H4, могут быть особенно полезными для лечения артрита, такого как ревматоидный артрит и ювенильный идиопатический артрит, в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Агент может представлять собой растворимый CD278 (индуцибельный костимулятор; "ICOS") или его лиганд-связывающую часть, например, для селективного связывания лигандов CD278, таких как ICOSL (лиганд индуцибельного костимулятора; CD275). Мишенью может быть лиганд CD278, такой как ICOSL. Частицы, нацеленные на лиганды CD278, могут быть особенно полезны для профилактики или лечения волчанки, такой как системная красная волчанка, в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Агент может представлять собой антитело против CD275, например, для селективного связывания CD275 (лиганд индуцибельного костимулятора; "ICOSL"). Мишенью может быть CD275. Частицы, нацеленные на CD275, могут быть особенно полезны для профилактики или лечения волчанки, такой как системная красная волчанка, в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Агент может представлять собой антитело против CD40L, такое как дапиролизумаб, руплизумаб или торализумаб, например, для селективного связывания CD40L (лиганд CD40; CD154). Мишенью может быть CD40L. Частицы, нацеленные на CD40L, могут быть особенно полезны для профилактики или лечения волчанки, такой как системная красная волчанка, артрита, такого как ревматоидный артрит, коллаген-индуцированного артрита и ювенильного идиопатического артрита, и синдрома Шегрена в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Агент может представлять собой растворимый CD134 (OX40) или его лиганд-связывающую часть, например, для селективного связывания лигандов CD134, таких как CD252 (лиганда OX40; "OX40L"). Мишенью может быть лиганд CD134, такой как CD252. Частицы, нацеленные на лиганды CD134, могут

быть особенно полезны для профилактики или лечения волчанки, такой как волчаночный нефрит, ее симптомов, таких как гломерулонефрит, и системного склероза в дополнении к другим заболеваниям и состояниям.

Агент может представлять собой 4-1ВВ (CD137) или его лиганд-связывающую часть, например, для селективного связывания лигандов 4-1ВВ, таких как растворимый лиганд 4-1ВВ (растворимый 4-1ВВL). Мишенью может быть лиганд 4-1ВВ, такой как растворимый лиганд 4-1ВВ. Частицы, нацеленные на лиганды 4-1ВВ, могут быть особенно полезны для профилактики или лечения волчанки, такой как системная красная волчанка, и артрита, такого как ревматоидный артрит, в дополнение к другим заболеваниям и состояниям.

Агент может представлять собой 4-1ВВ лиганд, например, для селективного связывания растворимого 4-1ВВ (растворимый CD137). Агент может представлять собой антитело против 4-1ВВ, такое как урелумаб. Мишенью может быть растворимый 4-1ВВ. Частицы, нацеленные на растворимый 4-1ВВ, могут быть особенно полезны для профилактики или лечения артрита, такого как ревматоидный артрит, в дополнении к другим заболеваниям и состояниям, включая рак. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание может представлять собой, например, острый диссеминированный энцефаломиелит; болезнь Эддисона; анкилозирующий спондилоартрит; синдром антифосфолипидных антител; аутоиммунную гемолитическую анемию; аутоиммунный гепатит; аутоиммунное заболевание внутреннего уха; буллезный пемфигоид; болезнь Чагаса; хроническое обструктивное заболевание легких; глютенную болезнь; дерматомиозит; сахарный диабет типа 1; сахарный диабет типа 2; эндометриоз; синдром Гудпасчера; болезнь Грейвса; синдром Гийена-Барре; болезнь Хашимото; идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру; интерстициальный цистит; системную красную волчанку (SLE); метаболический синдром, рассеянный склероз; миастению; миокардит, нарколепсию; ожирение; обыкновенную пузырчатку; злокачественную анемию; полимиозит; первичный билиарный цирроз печени; ревматоидный артрит; шизофрению; склеродермию; синдром Шегрена; васкулит; витилиго; гранулематоз Вегенера; аллергический ринит; рак простаты; немелкоклеточный рак легкого; рак яичников; рак молочной железы; меланому; рак желудка; колоректальный рак; рак мозга; метастатическое заболевание кости; рак поджелудочной железы; лимфому; полипы в носовой полости; желудочно-кишечный рак; язвенный колит; болезнь Крона; коллагеновый колит; лимфоцитарный колит; ишемический колит; колит в отключенной кишке; синдром Бехчета; инфекционный колит; неопределенный колит; воспалительное заболевание печени, эндотоксический шок, ревматоидный спондилит, анкилозирующий спондилоартрит, подагрический артрит, ревматическую полимиалгию, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, эпилепсия, слабоумие при СПИДе, астму, синдром расстройства дыхания у взрослых, бронхит, муковисцидоз, острое лейкоцитарно-опосредованное повреждение легкого, дистальный проктит, гранулематоз Вегенера, фибромиалгию, бронхит, кистозный фиброз, увеит, конъюнктивит, псориаз, экзему, дерматит, расстройства пролиферации гладких мышц, менингит, опоясывающий лишай, энцефалит, нефрит, туберкулез, ретицит, атопический дерматит, панкреатит, гингивит пародонта, коагуляционный некроз, колликвационный некроз, фибриноидный некроз, гиперострое отторжение трансплантата, острое отторжение трансплантата, хроническое отторжение трансплантата, острая реакция "трансплантат против хозяина", хроническая реакция "трансплантат против хозяина", или комбинации любых из вышеперечисленных расстройств и заболеваний. В некоторых вариантах осуществления изобретения аутоиммунное или воспалительное расстройство или заболевание представляет собой, например, колит, рассеянный склероз, артрит, ревматоидный артрит, остеоартрит, ювенильный артрит, псориазический артрит, острый панкреатит, хронический панкреатит, диабет, инсулин-зависимый сахарный диабет (IDDM или диабет типа I), инсулит, воспалительное заболевание кишечника, болезнь Крона, язвенный колит, аутоиммунные гемолитические синдромы, аутоиммунный гепатит, аутоиммунные невропатии, аутоиммунная недостаточность яичников, аутоиммунный орхит, аутоиммунную тромбоцитопению, реактивный артрит, анкилозирующий спондилит, аутоиммунное заболевание, связанное с силиконовым имплантатом, синдром Шегрена, системную красную волчанку (SLE), синдромы васкулита (например, гигантоклеточный артериит, болезнь Бехчета и гранулематоз Вегенера), витилиго, вторичное гематологическое проявление аутоиммунных заболеваний (например, анемии), медикаментозные аутоиммунные расстройства, тиреоидит Хасимото, гипопизит, идиопатическую тромбоцитарную пурпуру, металл-индуцированные аутоиммунные расстройства, злокачественную миастению, пузырчатка, аутоиммунную глухоту (например, болезнь Меньера), синдром Гудпасчера, болезнь Грейвса, связанные с ВИЧ аутоиммунные синдромы и/или заболевание Гийена-Барре.

В некоторых вариантах осуществления аутоиммунное или воспалительное нарушение представляет собой реакцию гиперчувствительности. Как используется здесь, "гиперчувствительность" относится к нежелательному ответу иммунной системы. Гиперчувствительность разделяется на четыре категории. Гиперчувствительность I типа включает аллергии (например, атопию, анафилаксию или астму). Гиперчувствительность II типа опосредована цитотоксичностью/антителами (например, аутоиммунная гемолитическая анемия, тромбоцитопения, гемолитическая анемия новорожденных или синдром Гудпасчера). Тип III представляет собой заболевания иммунных комплексов (например, сывороточная болезнь, феномен Артуса или SLE). Тип IV представляет собой гиперчувствительность замедленного типа (DTH),

опосредованный клетками памяти иммунный ответ и антителонезависимый ответ (например, контактный дерматит, туберкулиновый кожный тест или хроническое отторжение трансплантата). Как используется здесь, "аллергия" означает нарушение, характеризуемое избыточной активацией тучных клеток и базофилов за счет действия IgE. В некоторых случаях избыточная активация тучных клеток и базофилов, опосредованная IgE, приводит к (частичному или полному) воспалительному ответу. В некоторых случаях воспалительный ответ является местным. В некоторых случаях воспалительный ответ приводит к сужению дыхательных путей (например, к бронхоспазму). В некоторых случаях воспалительный ответ приводит к воспалению носа (например, к риниту). В некоторых случаях воспалительный ответ является системным (например, анафилаксия).

В некоторых вариантах способы включают определение того, имеет ли субъект аутоиммунное заболевание.

Отдельные применения, связанные с патогенными организмами и токсинами.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, частицы, описанные здесь, можно конструировать для связывания с микроорганизмами (например, с вирусами или бактериями) или с компонентами микроорганизмов, такими как эндотоксины. Таким образом, частицы, описанные здесь, могут быть пригодны для лечения, например, инфекционного заболевания, вызванного вирусом, включая HPV, HBV, вирус гепатита С (HCV), ретровирусами, такими как вирус иммунодефицита человека (HIV-1 и HIV-2), вирусами герпеса, такими как вирус Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловирусом (CMV), HSV-1 и HSV-2 и вирусом гриппа. Кроме того, включены бактериальные, грибковые и другие патогенные инфекции, вызываемые микроорганизмами, такими как *Aspergillus*, *Brugia*, *Candida*, *Chlamydia*, *Coccidia*, *Cryptococcus*, *Dirofilaria*, *Gonococcus*, *Histoplasma*, *Leishmania*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Paramecium*, *Pertussis*, *Plasmodium*, *Pneumococcus*, *Pneumocystis*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Toxoplasma* и холерный вибрион. Иллюстративные виды включают *Neisseria gonorrhoea*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Haemophilus vaginalis*, виды *Streptococcus* группы В, *Micropasma hominis*, *Haemophilus ducreyi*, *Granuloma inguinale*, *Lymphopathia venereum*, *Treponema pallidum*, *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella canis*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter fetus intestinalis*, *Leptospira pomona*, *Listeria monocytogenes*, *Brucella ovis*, *Chlamydia psittaci*, *Trichomonas foetus*, *Toxoplasma gondii*, *Escherichia coli*, *Actinobacillus equuli*, *Salmonella abortus ovis*, *Salmonella abortus equi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium equi*, *Corynebacterium pyogenes*, *Actinobacillus seminis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Aspergillus fumigatus*, *Absidia ramosa*, *Trypanosoma equiperdum*, *Babesia caballi*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*; или грибы, такие как, например, *Paracoccidioides brasiliensis*; или другие патогенные организмы, например, *Plasmodium falciparum*. Также включены приоритетные патогенные организмы, определенные Национальным институтом аллергии и инфекционных болезней (National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)). Они включают агенты категории А, такие как *Variola Major* (натуральная оспа), *Bacillus anthracis* (сибирская язва), *Yersinia pestis* (чума), токсин *Clostridium botulinum* (ботулизм), *Francisella tularensis* (туляремия), филловирсы (геморрагическая лихорадка Эбола, (геморрагическая лихорадка Марбург), аренавирусы (Ласса (лихорадка Ласса), вирус Хунин (аргентинская геморрагическая лихорадка) и родственные вирусы); агенты категории В, такие как *Coxiella burnetii* (лихорадка Q), виды *Brucella* (бруцеллез), *Burkholderia mallei* (cap), альфавирусы (венесуэльский энцефаломиелит, восточный и западный конский энцефаломиелит), рициновый токсин из *Ricinus communis* (клещевина), токсин эpsilon из *Clostridium perfringens*; энтеротоксин В из *Staphylococcus*, виды *Salmonella*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli* штамм O157:H7, *Vibrio cholerae*, *Cryptosporidium parvum*; агенты категории С, такие как вирус Нипах, хантавирусы, клещевые вирусы геморрагической лихорадки, вирусы клещевого энцефалита, желтая лихорадка и полирезистентный туберкулез; гельминты, такие как *Schistosoma* и *Taenia*; и простейшие, такие как *Leishmania* (например, *L. mexicana*) и *Plasmodium*.

Мишень может представлять собой вирусный белок. Вирусный белок может быть из арбовируса, аденовируса, альфавируса, аренавирусов, астровируса, вируса ВК, буньявирусов, калицивируса, вируса герпеса маргышек I, вируса клещевой лихорадки Колорадо, коронавируса, вируса Коксаки, вируса конго-крымской геморрагической лихорадки, цитомегаловируса, вируса Денге, вируса Эбола, эхиновируса, ЕСНО вируса, энтеровируса, вируса Эпштейна-Барр, флавивируса, вируса ящура, хантавируса, вируса гепатита А, вируса гепатита В, вируса гепатита С, вируса простого герпеса I, вируса простого герпеса II, вируса простого герпеса человека, вируса иммунодефицита человека типа I (HIV-1; ВИЧ-1), вируса иммунодефицита человека типа II (HIV-II; ВИЧ-2), вируса папилломы человека, вируса лейкемии Т-клеток человека типа I, вируса лейкемии Т-клеток человека типа II, вируса гриппа, вируса японского энцефалита, вируса JC, вируса Хунин, лентивирусов, вируса Мачупо, вируса Марбург, вируса кори, вируса эпидемического паротита, вируса неаполитанской лихорадки, норовируса, вируса Норфолк, орбивирусов, ортомиксвируса, папилломавируса, паповавируса, вируса парагриппа, парамиксвируса, парвовируса, пикорнавируса, полиовируса, полиомавируса, поксвируса, вируса бешенства, реовируса, респираторно-синцициального вируса, риновирусов, ротавируса, вируса краснухи, саповируса, вируса оспы, тогавирусов, вируса Тоскана, вируса ветряной оспы, вируса Западного Нила или вируса желтой лихорадки. Вирусный белок может представлять собой, например, вирусный белок капсида или вирусный белок обо-

лочки.

Мишенью может быть бактериальный белок или компонент стенки бактериальной клетки. Например, бактериальный белок или компонент клеточной стенки может быть из *Actinomyces israelii*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacteroides fragilis*, *Bartonella henselae*, *Bartonella Quintana*, *Bordetella pertussis*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia recurrentis*, *Brucella abortus*, *Brucella canis*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Campylobacter jejuni*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Francisella tularensis*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus vaginalis*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Leptospira interrogans*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira weilii*, *Leptospira noguchii*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Nocardia asteroides*, *Rickettsia rickettsii*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica* или *Yersinia pseudotuberculosis*.

Мишенью может быть белок из дрожжей или грибов или компонент клеточной стенки дрожжей или грибов. Например, белок из дрожжей или грибов или компонент клеточной стенки дрожжей или грибов может быть из *Aphophysomyces variabilis*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Basidiobolus ranarum*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida stellatoidea*, *Candida viswanathii*, *Conidiobolus coronatus*, *Conidiobolus incongruus*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Exophiala jeanselmei*, *Fonsecaea compacta*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Geotrichum candidum*, *Histoplasma capsulatum*, *Lichtheimia corymbifera*, *Mucor indicus*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Phialophora verrucosa*, *Pneumocystis carinii*, *Pneumocystis jirovecii*, *Pseudallescheria boydii*, *Rhinosporidium seeberi*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Stachybotrys chartarum*, *Syncephalastrum racemosum* или *Rhizopus oryzae*.

Мишенью может быть токсин, такой как бактериальный токсин, токсин растений или зоотоксин. Токсин может представлять собой, например, мелиттин, бреветоксин, тетродотоксин, хлоротоксин, столбнячный токсин, бунгаротоксин, ботулотоксин из *Clostridium botulinum*, рицин, эpsilon токсин из *Clostridium perfringens*, энтеротоксин В из *Staphylococcus* или эндотоксин.

Мишенью может быть липополисахарид клеточной стенки бактерий, липополисахаридсвязывающий белок, липотейхоевые кислоты, бактериальный липопротеин, бактериальный пептидогликан, липоарабиноманнан, белок бактериальных жгутиков (например, флагеллин), профилин, HSP70, зимозан, двухцепочечная РНК, бактериальная рибосомная РНК или ДНК, содержащая неметилированный CpG.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения или профилактики инфекции, вызванной патогеном, где способ включает введение субъекту композиции, содержащей множество частиц, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления изобретения частица содержит агент, который специфически связывается с биомолекулой патогена или биомолекулой, полученной из патогена. В некоторых вариантах осуществления изобретения частица содержит агент, который специфически связывается с биомолекулой субъекта (например, когда биомолекула продуцируется субъектом), такой как цитокин или пероксиредоксин (например, пероксиредоксин 1 или пероксиредоксин 2). Например, способ может включать введение субъекту композиции, содержащей множество частиц, которые селективно связываются с TNF α , интерлейкином 1, интерлейкином 6, интерлейкином 8, интерлейкином 12, интерфероном-гамма, фактором, ингибирующим миграцию макрофагов, GM-CSF и/или фактором свертывания крови, например, для лечения или профилактики сепсиса, связанного с инфекцией, вызванной патогеном. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ представляет собой способ лечения или профилактики сепсиса, где способ, например, включает введение субъекту композиции, содержащей множество частиц, описанных здесь.

Мишенью может быть парацетамол (ацетаминофен). Агент может представлять собой антитело, которое специфически связывается с парацетамолом или его антигенсвязывающей части. Частицы, которые нацелены на парацетамол могут быть особенно полезными для лечения или профилактики токсичности парацетамола.

Отдельные применения, связанные с питанием и метаболизмом.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения частица, описанная здесь, может быть использована для лечения ожирения, для лечения расстройства пищевого поведения, для снижения массы тела, для способствования здоровому питанию или для уменьшения аппетита у субъекта. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения, частицы, содержащие агент (например, антитело или растворимые формы рецептора грелина (GHSR)), которые связываются с грелином, могут быть введены субъекту (например, субъекту с избыточным весом или страдающему ожирением) для снижения аппетита у субъекта, лечения ожирения или расстройства, связанного с ожирением или нарушением об-

мена веществ.

Как используется здесь, нарушением обмена веществ может быть любое расстройство, связанное с обменом веществ, и примеры включают, но без ограничения, ожирение, центральное ожирение, резистентность к инсулину, непереносимость глюкозы, аномальный метаболизм глюкозы, диабет типа II, гиперлипидемии, гипоальбуминемии, гипертриглицеридемии, метаболический синдром, синдром X, ожирение печени, жировую болезнь печени, синдром поликистоза яичников и акантокератодермию.

"Ожирение" относится к состоянию, при котором масса тела млекопитающего превышает пределы, рекомендованные с медицинской точки зрения, по меньшей мере приблизительно на 20%, с учетом возраста и размера скелета. "Ожирение" характеризуется жировой гипертрофией клеток и гиперплазией. "Ожирение" может характеризоваться наличием одного или нескольких фенотипов, связанных с ожирением, в том числе, например, с увеличением массы тела (измеренной, например, по индексу массы тела, или "BMI"), с изменениями антропометрии, базальными скоростями метаболических или общих расходов энергии, хроническим нарушением энергетического баланса, увеличением жировой массы, определенной, например, с помощью DEXA (процент жировой массы DEXA), измененным максимальным потреблением кислорода (VO_2), высоким окислением жиров, относительно высоким уровнем покоя, устойчивостью к глюкозе, гиперлипидемией, резистентностью к инсулину и гипергликемией. См. также, например, публикации Hopkinson et al., *Am. J. Clin. Nutr.*, 65(2):432-8 (1997), и Butte et al., *Am. J. Clin. Nutr.*, 69(2):299-307 (1999). Индивидуумы с "избыточным весом", как правило, имеют индекс массы тела (BMI) между 25 и 30. "Тучные" люди или лица, страдающие от "ожирения", как правило, имеют индекс массы тела 30 или выше. Ожирение может быть связано или не связано с резистентностью к инсулину.

Выражения "связанные с ожирением заболевание" или "связанные с ожирением расстройства" или "связанные с ожирением состояния", которые используются взаимозаменяемо, относятся к заболеванию, расстройству или состоянию, которое связано или ассоциировано прямо или косвенно с ожирением. "Связанные с ожирением заболевания" или "связанные с ожирением расстройства" или "связанные с ожирением состояния" включают, но без ограничения ишемическую болезнь сердца/сердечно-сосудистые заболевания, гипертонию, заболевания сосудов головного мозга, инсульт, заболевания периферических сосудов, резистентность к инсулину, нарушение толерантности к глюкозе, сахарный диабет, гипергликемию, гиперлипидемию, дислипидемию, гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, гиперинсулинемию, атеросклероз, клеточную пролиферацию и дисфункцию эндотелия, диабетическую дислипидемию, связанную с ВИЧ липодистрофию, заболевание периферических сосудов, холестериновые желчные камни, рак, менструальные расстройства, бесплодие, поликистоз яичника, остеоартрит, апноэ сна, метаболический синдром (синдром X), диабет типа II, диабетические осложнения, включая диабетические невропатии, нефропатии, ретинопатии, катаракты, сердечную недостаточность, воспаление, тромбоз, застойную сердечную недостаточность, а также любые другие сердечнососудистые заболевания, связанные с ожирением или избыточным весом, и/или связанные с ожирением астма, расстройства дыхательных путей и легких.

В еще одном аспекте изобретение предусматривает способ увеличения мышечной массы или мышечной силы у субъекта, нуждающегося в этом, где указанный способ включает введение субъекту одной или нескольких композиций, описанных здесь, в количестве, достаточном для увеличения мышечной массы или мышечной силы у субъекта. Так, например, для увеличения мышечной массы субъекту можно вводить частицы, содержащие агент (например, антитело или растворимый рецептор активина), который связывается с миостатином.

В некоторых вариантах осуществления субъектом является субъект, имеющий мышечные расстройства (например, расстройства, связанные с атрофией мышц).

Расстройства, связанные с атрофией мышц, указанные здесь, включают расстройства или состояния, где атрофия мышц является одним из основных симптомов, такие как мышечная дистрофия, травма спинного мозга, нейродегенеративные заболевания, анорексия, саркопения, кахексия, мышечная атрофия вследствие иммобилизации, длительное нахождение в лежачем положении или в невесомости, и тому подобное, а также расстройства, при которых аномально высокое соотношение жира к массе мышц характерно для заболевания или для состояния, предшествующему заболеванию, например, при диабете типа II или при синдроме X.

Атрофия скелетных мышц происходит у взрослых животных в результате недостаточной нагрузки на мышцы, из-за старения, голода и как следствие различных заболеваний, расстройств и состояний, таких как сепсис, мышечная дистрофия, СПИД, старение и рак. Потеря мышц обычно характеризуется снижением содержания белка, снижением мускульной силы, снижением сопротивления усталости и уменьшением диаметра мышечных волокон. Это снижение можно связывать как со снижением синтеза белка, так и с увеличением деградации белка. Мышечная атрофия и связанные с ней состояния, на лечение или предотвращение которых направлены композиция и способы по изобретению, включают любое состояние, в котором усиление роста мышц или снижение атрофии мышц приводит к терапевтическому или иному желаемому результату. Такие состояния включают мышечную дистрофию, саркопению, кахексию, сахарный диабет, а также случай необходимости увеличения мышечной массы, когда такое увеличение является этическим и желательным, например, для животных, употребляемых в пищу.

Одним из классов расстройств, связанных с атрофией мышц, как упоминалось выше, является дистрофия различных мышц. Такие расстройства представляют собой гетерогенную группу нервно-мышечных расстройств, которые включают в себя как наиболее распространенный тип, мышечную дистрофию Дюшенна (DMD), различные типы мышечной дистрофии (MD) конечностей (LGMD) и другие врожденные MD (CMD). Прогрессирующее повреждение мышц и потеря мышечной массы, воспаление тканей и замещение здоровой мышечной массы на фиброзную и жировую ткань приводят к атрофии мышц при мышечной дистрофии. Экстремальная потеря мышечной массы является одним из наиболее заметных признаков заболевания, и она приводит к тяжелым осложнениям и симптомам, включая смерть.

Саркопения является заболеванием, характеризующимся связанным с возрастом потерей мышечной массы, силы и их функций. Саркопения начинается на четвертом десятилетии жизни и ускоряется после достижения возраста, составляющего приблизительно 75 лет. Многие факторы, в том числе отсутствие физической активности, ремоделирование моторных клеток, снижение уровня гормонов и снижение синтеза белка, могут способствовать развитию саркопении. За исключением случая отсутствия физической активности все они могут быть подвергнуты генетическому контролю, и генная модуляция может быть полезной. Так, например, скорость синтеза мышечного белка и скорость распада белка влияют на саркопению. Баланс синтеза белка и его разрушения определяет содержание белка в организме. Все проведенные исследования уверенно подтверждают, что у пожилых людей уровень синтеза мышечного белка ниже, чем у более молодых взрослых людей. Снижение катаболизма мышечного белка осуществляется, например, за счет генной модуляции, что может привести к замедлению или реверсии потери мышечной массы.

Отдельные применения, связанные со старением и нейродегенеративными заболеваниями.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция, описанная здесь, являются полезной для содействия здоровому старению субъекта. Так, например, частицы, содержащие агент (например, антитело или растворимую форму рецептора), способный связываться с любым из TGF- β 1, CCL11, MCP-1/CCL2, бета-2-микроглобулина, GDF-8/миостатина или гаптоглобина, могут быть использованы для стимулирования здорового старения субъекта, продления продолжительности активной жизни субъекта, предотвращения или отсрочки развития возрастных заболеваний у субъекта или для лечения субъекта, страдающего от возрастных расстройств. В некоторых вариантах осуществления изобретения частица, содержащая вещество, которое связывается с TGF- β 1 может быть использована для повышения/промотирования нейрогенеза и/или регенерации мышц у субъекта, например, у пожилой субъекта. В некоторых вариантах возрастное расстройство представляет собой сердечно-сосудистое заболевание. В некоторых вариантах возрастное расстройство представляет собой расстройство, связанное с потерей костной массы. В некоторых вариантах возрастное расстройство является нервно-мышечным расстройством. В некоторых вариантах возрастное расстройство является нейродегенеративным расстройством или когнитивным расстройством. В некоторых вариантах возрастное расстройство представляет собой нарушение обмена веществ. В некоторых вариантах возрастное расстройство представляет собой саркопению, остеоартрит, синдром хронической усталости, болезнь Альцгеймера, старческое слабоумие, умеренное ухудшение когнитивной способности из-за старения, шизофрению, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, болезнь Пика, болезнь Крейтцфельда-Якоба, старческое слабоумие, связанное с ЦНС и головным мозгом, возрастное снижение когнитивных функций, преддиабетическое состояние, сахарный диабет, ожирение, остеопороз, ишемическую болезнь сердца, цереброваскулярные заболевания, инфаркт, инсульт, заболевания периферических артерий, заболевание аортального клапана, инсульт, болезнь телец Леви, амиотрофический боковой склероз (ALS), слабое когнитивное нарушение, предеменцию, деменцию, прогрессирующий подкорковый глиоз, прогрессирующий супрануклеарный паралич, синдром таламической дегенерации, наследственную афазию, миоклоническую эпилепсию, дегенерацию желтого пятна или катаракту.

Биомолекула может представлять собой альфа-синуклеин, тау-белок, белок-предшественник амилоида или амилоид β . Например, способ может включать введение композиции, содержащей множество частиц, субъекту с болезнью Альцгеймера, и частицы могут содержать агент, который специфически связывается с амилоидом β (например, растворимый амилоид β и/или агрегаты амилоида β). Биомолекулы могут представлять собой A β 40 или A β 42. Агент может содержать адуканумаб, бапинеизумаб, крене-зумаб, гантенерумаб, понезумаб, соланезумаб или антигенсвязывающую часть любого из них. Кроме того, способ может включать введение композиции, содержащей множество частиц субъекту с болезнью Альцгеймера, и частицы могут содержать агент, который специфически связывается с тау-белком.

Биомолекула может представлять собой TDP-43 или FUS. Биомолекула может быть прионом. Биомолекула может представлять собой PrP^{Sc}, растворимый белок PrP или агрегат PrP.

Отдельные диагностические применения.

Частицы, описанные здесь, также могут быть использованы в качестве диагностических агентов или в сочетании с диагностическим средством или устройством. Так, например, частицы, описанные здесь, могут быть соединены с устройством для обнаружения, которое контролирует концентрацию дан-

ного растворимого лиганда, представляющего интерес. Например, нано канал в устройстве для обнаружения, покрытый агентом (например, первым членом связывающей пары) может обнаружить (например, в образце крови) или контролировать (например, в виде имплантируемого устройства в субъекте) концентрацию растворимой биомолекулы (например, второго члена связывающей пары). Такой детектор может быть полезен, например, для определения эффективности действия частиц, описанных здесь (при очистке растворимой биомолекулы) или для определения/корректировке соответствующей дозы композиции частиц (например, увеличивая дозу или частоту дозировок для более эффективного захвата растворимой биомолекулы).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, описанные здесь частицы и устройство обнаружения интегрированы и функционируют как "микрожелеза" или "наножелеза" (см, например, Sabek et al., Lab. Chip., 13(18):3675-3688 (2013)). Функции наножелезы, например наноканальная диагностика, способны обеспечить точную количественную оценку концентрации растворимой биомолекулы в биологической жидкости субъекта, которому имплантировали наножелезу. Кроме того, размещение в наножелезе средства (например, нано-шприца), позволит высвобождать частицы, способные захватывать биомолекулы, например, когда концентрация биомолекулы в биологической жидкости достигает заданной пороговой концентрации. Принимая во внимание, что в имплантируемом биочипе, имеющем размер с ноготь, может быть представлено несколько тысяч нано-каналов, то микрожелезы или наножелезы могут быть сконструированы таким образом, чтобы контролировать множество различных растворимых биомолекул и высвобождать несколько типов терапевтических частиц.

Отдельные применения *in vitro*.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу удаления биомолекулы из композиции, где способ включает контактирование композиции с частицей, описанной здесь. Такие способы особенно полезны для научных исследований. Так, например, сравнительно легко добавить биомолекулу в раствор, однако удаление конкретной биомолекулы из раствора является достаточно сложным процессом.

Современные способы удаления биомолекулы из раствора включают, например, связывание биомолекул с частицей, такой как гранулы из сефарозы, а затем физическое отделение гранулы из раствора. Частицы, описанные здесь, могут изолировать биомолекулу в композиции, ингибируя тем самым ее взаимодействие с другими компонентами композиции (например, с клеткой) без необходимости физического отделения частицы из композиции.

Частица может содержать флуорофор. Частица может быть магнитной или парамагнитной, или частица может содержать магнитные или парамагнитные субчастицы или компоненты, которые позволяют частице притягиваться к магнитному полю.

Способ может включать контактирование композиции с частицей, описанной здесь, где композиция представляет собой клеточную культуру. Так, например, клеточная культура может быть бактериальной культурой клеток или культурой тканей. Такие способы могут быть полезны, например, для удаления секретируемого белка из культуры клеток или для удаления загрязняющего вещества из культуры клеток.

Способ может включать контактирование композиции с частицей, описанной здесь, где композиция представляет собой клеточный лизат. Клеточный лизат может быть лизатом прокариотических или эукариотических клеток. Такие способы могут быть полезны, например, для ингибирования активности целевой биомолекулы-мишени.

Указанные выше способы могут быть особенно полезны для оценки функции биомолекулы, представляющей интерес, в конкретной системе. Например, биомолекула может быть введена в систему (например, культуру ткани), чтобы оценить влияние биомолекулы на систему (например, на пролиферацию клеток или на гибель клеток) и биомолекулы могут быть заблокированы или удалены из подобной системы, используя частицу, описанную здесь, чтобы оценить эффект отсутствия биомолекулы в системе.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу развития или дифференциации популяции клеток, где способ включает приведение в контакт композиции, содержащей популяцию клеток, с множеством частиц, описанных здесь. Множество частиц может захватывать одну или несколько молекул, которые способствуют альтернативному пути дифференциации клеток, который конкурирует с желаемым путем дифференциации. Таким образом, способ может способствовать дифференциации популяции клеток в желаемый тип клеток, по отношению к альтернативному пути дифференциации в другой тип клеток. Способ может дополнительно включать контактирование композиции с цитокином (например, с описанным здесь). Способ может дополнительно включать контактирование композиции с одним или несколькими биоактивными соединениями, такими как хемокин, интерлейкин, фактор роста, белок семейства Wnt, фактор некроза опухоли и/или гормон (например, которые описаны здесь).

Популяция клеток может включать стволовые клетки. Популяция клеток может включать соматические стволовые клетки или эмбриональные стволовые клетки. Популяция клеток может включать индуцированные стволовые клетки, такие как индуцированные плюрипотентные стволовые клетки. Популяция клеток может включать клетки-предшественники, клетки-предшественники при дифференцировке, бластные клетки, унипотентные клетки, мультипотентные стволовые клетки, плюрипотентные стволовые

клетки и/или промежуточные клетки-предшественники. Популяция клеток может включать аукоциты. Популяция клеток может содержать гематопозитические стволовые клетки, стволовые клетки молочной железы, стволовые клетки кишечника, мезенхимальные стволовые клетки, эндотелиальные стволовые клетки, нервные стволовые клетки, обонятельные взрослые стволовые клетки, стволовые клетки медуллярного валика или клетки яичек. Популяция клеток может включать спутниковые клетки, клетки-предшественники олигодендроцитов, тимоцитов, ангиобластов, стромальных клеток костного мозга, поджелудочной железы, клетки-предшественники эндотелиальных клеток или меланобластов. Популяция клеток может включать мультипотентные гематопозитические стволовые клетки, общие миелоидные клетки-предшественники, миелобласты, монобласты, промоноциты, моноциты, общие лимфоидные клетки-предшественники, лимфобласты, пролимфоциты и/или малые лимфоциты.

В некоторых вариантах изобретение относится к способу дифференциации клетки, где способ включает приведение в контакт композиции, содержащей клетки, с множеством частиц, описанных здесь. Множество частиц может захватывать одну или несколько молекул, которые способствуют альтернативному пути дифференциации, который конкурирует с желаемым путем дифференциации. Таким образом, способ может способствовать дифференциации клеток в требуемый тип клеток по отношению к альтернативному пути дифференциации в другой тип клеток. Способ может дополнительно включать контактирование композиции с цитокином (например, с описанным здесь). Способ может дополнительно включать контактирование композиции с одним или несколькими биоактивными соединениями, такими как хемокин, интерлейкин, фактор роста, белок семейства Wnt, и/или фактор некроза опухоли (например, которые описаны здесь).

Клетка может быть стволовой клеткой. Клетка может представлять собой соматическую стволовую клетку или эмбриональную стволовую клетку. Клетка может быть индуцированной стволовой клеткой, такой как индуцированной плюрипотентной стволовой клеткой. Клетка может представлять собой клетку-предшественника, клетку-предшественника при дифференцировке, бластную клетку, унипотентную клетку, мультипотентную стволовую клетку, плюрипотентную стволовую клетку и/или промежуточную клетку-предшественника. Клетка может быть аукоцитом. Клетка может быть гематопозитической стволовой клеткой, стволовой клеткой молочной железы, стволовой клеткой кишечника, мезенхимальной стволовой клеткой, эндотелиальной стволовой клеткой, нервной стволовой клеткой, обонятельной взрослой стволовой клеткой, стволовой клеткой медуллярного валика или клеткой яичек. Клетка может быть спутниковой клеткой, клеткой-предшественником олигодендроцитов, тимоцитов, ангиобластов, стромальных клеток костного мозга, поджелудочной железы, клеткой-предшественником эндотелиальных клеток или меланобластов. Клетка может быть мультипотентной гематопозитической стволовой клеткой, общей миелоидной клеткой-предшественником, миелобластом, монобластом, промоноцитом, моноциты, общей лимфоидной клеткой-предшественником, лимфобластом, пролимфоцитом и/или малым лимфоцитом.

Наборы для введения агента.

В некоторых вариантах изобретение также предоставляет фармацевтический комплект или набор, содержащий один или несколько контейнеров, заполненных по меньшей мере одной композицией (например, частицей или частицами) по изобретению. Необязательно к этому контейнеру(ам) может быть приложено извещение в форме, предписанной правительственным агентством, регулирующим производство, использование или продажу фармацевтических средств или биологических продуктов, где в этом извещении приведено (а) одобрение агентства по производству, использованию или продаже для введения человеку, (b) руководство по использованию, или оба указания.

В некоторых вариантах набор содержит дополнительные материалы для облегчения доставки агента субъекту. Например, набор может содержать один или несколько катетеров, трубок, инфузионных пакетов, шприцов и т.п. В некоторых вариантах осуществления композиция (например, содержащая частицы, описанные здесь) упакована в лиофилизированной форме и набор содержит по меньшей мере два контейнера: контейнер, содержащий лиофилизированную композицию, и контейнер, содержащий подходящее количество воды, буфера или другой жидкости, подходящей для восстановления лиофилизированного материала.

Указанное выше применимо для любой композиций и для любого способа из числа описанных здесь. Изобретение конкретно предусматривает любую комбинацию характеристик и признаков таких композиций и способов (по-отдельности или в комбинации) с характеристиками и признаками, описанными для различных наборов, как указано в этом разделе.

Если не определено иначе, все технические и научные термины, используемые здесь, имеют такие же значения, которые обычно понимаются обычными специалистами в данной области техники, к которой относится данное изобретение. Здесь описаны предпочтительные способы и материалы, хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны здесь, могут быть также использованы на практике или при тестировании описанных здесь способов и композиций. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, приведенные здесь, включены во всей их полноте путем ссылки на эти документы.

Изобретение предусматривает любые комбинации всех указанных выше аспектов и вариантов осу-

ществления, а также комбинации с любым из вариантов осуществления, изложенных в подробном описании и в примерах. Эти и другие аспекты настоящего изобретения будут более понятны после рассмотрения приводимых ниже примеров, которые предназначены для иллюстрации определенных конкретных вариантов изобретения, но не предназначены для ограничения его объема, определенного формулой изобретения.

Примеры

Пример 1. Способ лечения рака.

Врач-терапевт выявляет у пациента, являющегося человеком, наличие рака (например, рака легких, толстой кишки, молочной железы, головного мозга, печени, поджелудочной железы, кожи или гематологического рака), который выделяет растворимый TNFR или растворимый IL-2R. Пациенту вводят композицию, содержащую частицы (описанные здесь), которые связывают и изолируют растворимый TNFR или IL-2R, в количестве, эффективном для лечения злокачественной опухоли. Пациенту необязательно вводят "поддерживающие дозы" композиции для поддержания ингибирования действия растворимых TNFR или IL-2R, и терапию продолжают для усиления иммунологического контроля против рака у пациента.

Пример 2. Способ детоксикации человека.

У пациента, являющегося человеком, выявляют симптомы токсичности, ассоциированной с токсичным ботулизмом. Пациенту вводят композицию, содержащую частицы (описанные здесь), которые связывают и изолируют растворимый токсин ботулизма, в количестве, эффективном для снижения тяжести одного или нескольких симптомов, ассоциированных с его токсичностью.

Пример 3. Способ лечения вирусной инфекции.

Врач-терапевт выявляет у пациента, являющегося человеком, наличие инфекции ВИЧ-1. Пациенту вводят композицию, содержащую частицы (описанные здесь), которые связывают и изолируют растворимые вирионы ВИЧ-1, в количестве, эффективном для уменьшения титров вируса в системе циркуляции пациента. Пациенту вводят "поддерживающие дозы" композиции для поддержания снижения титров вирионов ВИЧ-1 и таким образом подавляют инфекцию у пациента, а также снижают вероятность передачи вируса другому лицу.

Пример 4. Способ получения кремниевых частиц.

Получают пористые кремниевые диски с размерами 1000/400 и 1000/800 нм с различными размерами пор. Размер и морфологию дисков, а также диаметры пор характеризуют посредством сканирующей электронной микроскопии. В порах пористых кремниевых дисков осаждают частицы золота (Au). На поверхности золотых наночастиц посредством координационных ковалентных связей конъюгируют факторы некроза опухоли (TNF). Затем оценивают плотность лиганда и стабильность связывания TNF с Au.

Пример 5. Способ получения полимерных частиц.

Посредством эмульгирования получают частицы сополимера лактида с гликолидом (PLGA). Размер и морфологию частиц PLGA характеризуют посредством сканирующей электронной микроскопии, атомно-силовой микроскопии и трансмиссионной электронной микроскопии. Частицы покрывают бета-циклодекстрином, функционализированным четвертичным аммонием, для рекрутинга макрофагов (например, для фагоцитоза). Покрытие проверяют посредством атомно-силовой микроскопии и трансмиссионной электронной микроскопии. Плотность и однородность покрытия оценивают посредством трансмиссионной электронной микроскопии и динамического светорассеяния.

Покрытые бета-циклодекстрином частицы PLGA инкубируют с макрофагами и посредством флуоресцентной микроскопии и проточной цитометрии определяют фагоцитоз.

Покрытые бета-циклодекстрином частицы PLGA покрывают смесью полиэтиленгликоля (PEG) и молекул тиола для предотвращения опсонизации и во избежание захвата макрофагами, а также связывания с другими частицами. Однородность и плотность покрытий PEG и тиола характеризуют посредством атомно-силовой микроскопии. Стабильность покрытий характеризуют посредством инкубации частиц в средах в течение различных периодов времени. Уклонение от захвата и захват частиц определяют в различные моменты времени посредством инкубации частиц с макрофагами, как описано выше.

Частицы PLGA покрывают фактором некроза опухоли (TNF) и частицы объединяют посредством дисульфидных связей с формированием "губки", содержащей TNF на внутренней поверхности губки. Внешнюю поверхность (т.е. наружную поверхность) губки необязательно блокируют частицами, которые не содержат TNF, для предотвращения взаимодействия между TNF губки и клетками.

Пример 6. Фармакокинетика частиц на полимерной основе.

Губку из примера 5 (т.е. композицию, содержащую "губки" по примеру 5, в количестве, например, от 10^3 до 10^{12} губок) вводят внутривенно или внутрь опухоли в модели первичного и метастатического рака на мышах, а также здоровым контрольным животным. Токсичность губки оценивают путем определения LD_{50} для каждого пути введения. Время полужизни губки определяют по концентрации губок в плазме с использованием методов LC/MS и ICP для каждого пути введения. Биораспределение губок определяют, получая биопсию у мышей и анализируя ткань на наличие губок и ее компонентов с использованием методов LC/MS, ICP и конфокальной микроскопией.

Пример 7. Эффективность частиц на полимерной основе.

Губку из примера 5 (т.е. композицию, содержащую "губки" по примеру 5, в количестве, например, от 10^3 до 10^{12} губок) вводят мышам, несущим ксенотрансплантаты MDA-MB-231 или 4T1. Модель MDA-MB-231 используется для оценки уменьшения размера и снижения роста опухоли, а модель 4T1 используется для оценки ингибирования метастазов. Губку вводят внутрь опухоли мышам с MDA-MB-231 один раз в неделю в течение 6 недель и периодически определяют массу тела и размеры опухолей. Мышам с 4T1 губку вводят внутривенно раз в неделю в течение 6 недель и определяют количество метастазов.

Пример 8. Фармакокинетика и эффективность частиц на основе кремния/золота.

Эксперименты, описанные в примерах 6 и 7, повторяют с пористыми частицами из кремния по примеру 5.

Хотя настоящее изобретение описано с отсылкой на конкретные варианты его осуществления, специалистам в данной области следует понимать, что можно проводить различные изменения и можно замещать эквивалентами без отклонения от сущности и объема изобретения. Кроме того, можно проводить множество модификаций для адаптации конкретных условий, материалов, составов, стадий способов или стадий способа сообразно цели, сущности и объема настоящего изобретения. Предполагается, что все такие модификации включены в объем настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Частица, способная захватывать мишени, включающая агент, иммобилизованный на поверхности частицы, где

указанная частица содержит металл, оксид алюминия, стекло, диоксид кремния, кремний или полимер;

агент селективно связывается с мишенью,

причем указанный агент содержит

- (i) антитело или связывающий биомолекулу фрагмент антитела,
- (ii) каркасный белок, не являющийся антителом,
- (iii) нуклеиновую кислоту или аптамер,
- (iv) белок интерлейкина или его вариант,
- (v) лиганд семейства фактора некроза опухоли (TNF) или его вариант,
- (vi) цитокин или хемокин,
- (vii) фермент,
- (viii) рецепторный белок клеточной поверхности,
- (ix) лиганд рецепторного белка клеточной поверхности, или
- (x) природный лиганд мишени;

и где указанная частица содержит

(a) субчастицу ядра и множество защитных субчастиц, где

указанная субчастица ядра и указанные защитные субчастицы каждая содержат металл, оксид алюминия, стекло, диоксид кремния, кремний или полимер;

множество защитных субчастиц состоит из двух или более защитных субчастиц; и

агент иммобилизован на субчастице ядра так, что защитные субчастицы ингибируют взаимодействия между агентом и молекулами на поверхности клетки, или

(b) внутреннюю поверхность, внешнюю поверхность и множество молекул покрытия, где

множество молекул покрытия состоит из двух или более молекул покрытия;

множество молекул покрытия содержит полимер покрытия;

агент иммобилизован на внутренней и внешней поверхности;

множество молекул покрытия связаны с внешней поверхностью; и

молекулы покрытия ингибируют взаимодействия между агентом и молекулами на поверхности клетки.

2. Частица по п.1, где

(a) агент иммобилизован на субчастице ядра так, что защитные субчастицы ингибируют взаимодействия между агентом и мишенью на поверхности клетки; или

(b) молекулы покрытия ингибируют взаимодействия между агентом и мишенью на поверхности клетки.

3. Частица по любому из предшествующих пунктов, где указанная частица содержит множество молекул покрытия.

4. Частица по любому из пп.1-3, где

указанная частица содержит множество молекул покрытия; и

указанное множество молекул покрытия стерически ингибирует взаимодействия между агентом и молекулами на поверхности клетки.

5. Частица по п.3 или 4, где множество молекул покрытия увеличивает выведение частицы в условиях *in vivo*.

6. Частица по п.3 или 4, где множество молекул покрытия уменьшает выведение частицы в услови-

ях *in vivo*.

7. Частица по п.3 или 4, где множество молекул покрытия ингибирует взаимодействие между агентом и клетками или внеклеточными белками.

8. Частица по любому из пп.3-7, где указанный полимер покрытия содержит полиэтиленгликоль (PEG), полилактат, полимолочную кислоту, сахар, липид, полиглутаминовую кислоту, полигликолевую кислоту (PGA), полимолочную кислоту (PLA), сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA), поливинилацетат (PVA), полиаминокислоту и их сочетания.

9. Частица по любому из пп.1-7, где множество молекул покрытия является биоразлагаемыми.

10. Частица по любому из предшествующих пунктов, где

частица имеет дендритную форму;

частица имеет кубическую, пирамидальную, коническую, сферическую, четырехгранную, шестигранную, октаэдрическую, додекаэдрическую или икосаэдрическую форму;

частица имеет один или несколько обращенных наружу выступов;

частица содержит два пересекающихся выступа на поверхности частицы, при этом выступы имеют размеры и ориентированы для ингибирования

(i) агента, иммобилизованного на поверхности частицы, от связывания или активирования белка рецептора клеточной поверхности, и/или

(ii) взаимодействия мишени и молекул и клеток, когда мишень связывается с агентом; и

частица содержит трубку; или

частица представляет собой частицу 2-мерной формы.

11. Частица по любому из пп.1-10, где

частица содержит субчастицу ядра и множество защитных субчастиц;

множество защитных субчастиц состоит из двух или более защитных субчастиц; и

агент иммобилизован на субчастице ядра.

12. Частица по п.11, где размер субчастицы ядра составляет от приблизительно 100 нм до приблизительно 2 мкм и размер защитных субчастиц составляет от приблизительно 10 нм до приблизительно 1 мкм.

13. Частица по любому из пп.11, 12, где частица содержит от 4 до 10^6 защитных субчастиц.

14. Частица по любому из пп.11-13, где частица содержит более одной субчастицы ядра.

15. Частица по любому из предшествующих пунктов, где агент имеет сниженную способность активировать белок рецептора клеточной поверхности по сравнению со способностью природного лиганда белка рецептора клеточной поверхности.

16. Частица по п.15, где агент не активирует белок рецептора клеточной поверхности.

17. Частица по любому из предшествующих пунктов, где мишень представляет собой вирусный белок, бактериальный белок или компонент клеточной стенки бактериальной клетки, белок дрожжей или грибов или компонент клеточной стенки дрожжей или грибов, белок простейших, токсин, отравляющее вещество, яд, аллерген, канцероген, психоактивное лекарственное вещество или агент химического оружия.

18. Частица по любому из предшествующих пунктов, где мишень выбрана из TNF α , TNF β , растворимого рецептора TNF, растворимого TNFR-1, растворимого TNFR-2, лимфотоксина альфа, лимфотоксина бета, лиганда 4-1BB, лиганда CD30, EDA-A1, LIGHT, TL1A, TWEAK, TRAIL, растворимого рецептора TRAIL, IL-1, растворимого рецептора IL-1, IL-1A, растворимого рецептора IL-1A, IL-1B, растворимого рецептора IL-1B, IL-2, растворимого рецептора IL-2, IL-5, растворимого рецептора IL-5, IL-6, растворимого рецептора IL-6, IL-8, IL-10, растворимого рецептора IL-10, CXCL1, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CX3CL1, лиганда FAS, растворимого рецептора смерти-3, растворимого рецептора смерти-4, растворимого рецептора смерти-5, TNF-связанного слабого индуктора апоптоза, MMP1, MMP2, MMP3, MMP9, MMP10, MMP12, CD28, растворимого члена семейства B7, растворимого CD80/B7-1, растворимого CD86/B7-2, растворимого CTLA4, растворимого PD-L1, растворимого PD-1, растворимого Tim3, Tim3L, галектина 3, галектина 9, растворимого CEACAM1, растворимого LAG3, TGF- β , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, антимюллерова гормона, артемина, нейротрофического фактора глиальных клеток (GDNF), морфогенетического костного белка (например, BMP2, BMP3, BMP3B, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7, BMP8A, BMP8B, BMP10, BMP11, BMP12, BMP13, BMP15), фактора дифференциации роста (например, GDF1, GDF2, GDF3, GDF3A, GDF5, GDF6, GDF7, GDF8, GDF9, GDF10, GDF11, GDF15), ингибина альфа, ингибина бета (например, ингибина бета A, B, C, E), левти, нодала, нейротурин, персефина, миостатина, грелина, sLR11, CCL2, CCL5, CCL11, CCL12, CCL19, интерферона альфа, интерферона бета, интерферона гамма, кластерина, VEGF-A, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), простагландина E2, фактора роста гепатоцитов, фактора роста нервов, склеростина, комплемента C5, ангиопоэтина 2, ангиопоэтина 3, PCSK9, амилоида бета, активина, активина A, активина B, микроглобулина β 2, растворимого NOTCH1, растворимого NOTCH2, растворимого NOTCH3, растворимого NOTCH4, гаптоглобина, фибриногена альфа-цепи, кортикотропин-высвобождающего фактора, кортикотропин-высвобождающего фактора типа 1, кортикотропин-высвобождающего фактора типа 2, урокорти-

на 1, укортина 2, укортина 3, CD47, аутоантитела против интерферона γ , аутоантитела против интерлейкина 6, аутоантитела против интерлейкина 17, аутоантитела против грелина, Wnt, индоламин-2,3-диоксигеназы, С-реактивного белка и gp120 вируса HIV-1.

19. Частица по любому из предшествующих пунктов, где мишень представляет собой растворимую биомолекулу.

20. Частица по любому из предшествующих пунктов, где мишень представляет собой гормон, цитокин, хемокин, нейромедиатор, растворимый внеклеточный рецептор, антитело или растворимый матричный белок.

21. Частица по любому из предшествующих пунктов, где мишень представляет собой растворимую биомолекулу; растворимая биомолекула является формой белка рецептора клеточной поверхности; и агент ориентирован на частице таким образом, что он стерически ингибирует связывание или активацию белка рецептора клеточной поверхности на поверхности клетки.

22. Частица по любому из предшествующих пунктов, где агент представляет собой лиганд белка рецептора клеточной поверхности.

23. Частица по п.22, где агент представляет собой природный лиганд белка рецептора клеточной поверхности.

24. Частица по любому из пп.21-23, где белок рецептора клеточной поверхности экспрессируется раковой клеткой.

25. Частица по любому из пп.21-24, где белок рецептора клеточной поверхности представляет собой белок, выделяемый раковой клеткой в виде растворимой формы белка рецептора клеточной поверхности.

26. Способ лечения субъекта, страдающего раком, включающий введение субъекту частицы по любому из пп.1-25.

27. Способ лечения субъекта, страдающего метаболическим расстройством, включающий введение субъекту частицы по любому из пп.1-25.

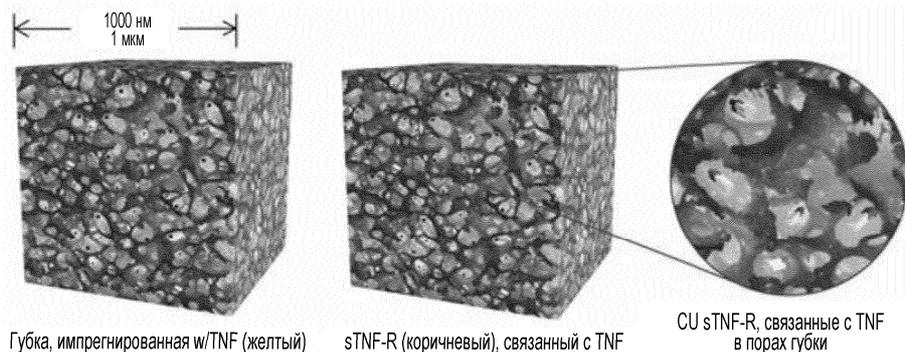
28. Способ лечения субъекта, страдающего аутоиммунным заболеванием, включающий введение субъекту частицы по любому из пп.1-25.

29. Способ лечения субъекта, страдающего нейродегенеративным заболеванием, включающий введение субъекту частицы по любому из пп.1-25.

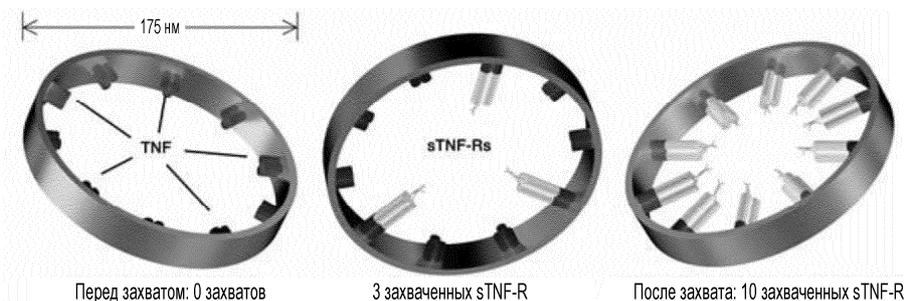
30. Способ лечения субъекта, страдающего сепсисом, включающий введение субъекту частицы по любому из пп.1-25.

31. Способ лечения субъекта, страдающего возрастными расстройствами, включающий введение субъекту частицы по любому из пп.1-25.

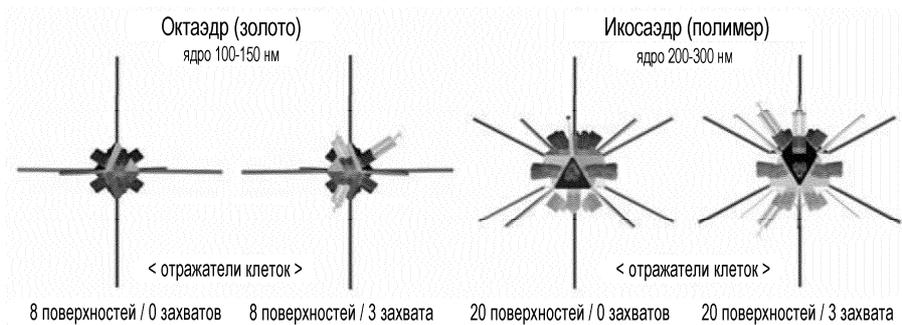
32. Способ лечения субъекта, страдающего инфекционным заболеванием, включающий введение субъекту частицы по любому из пп.1-25.



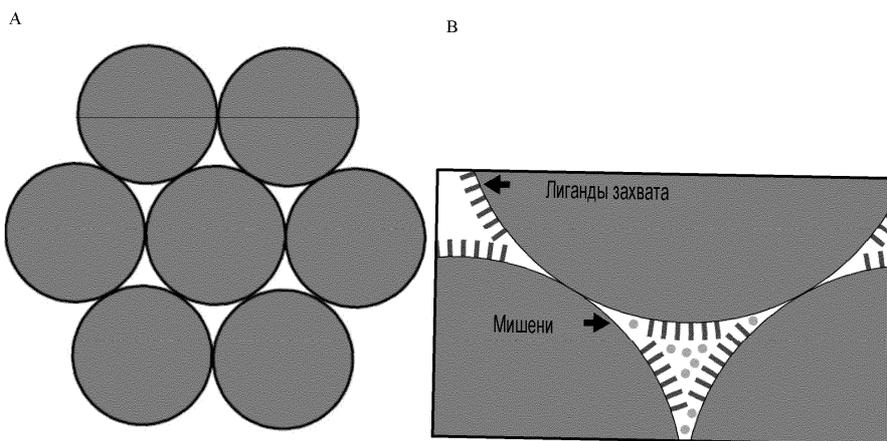
Фиг. 1



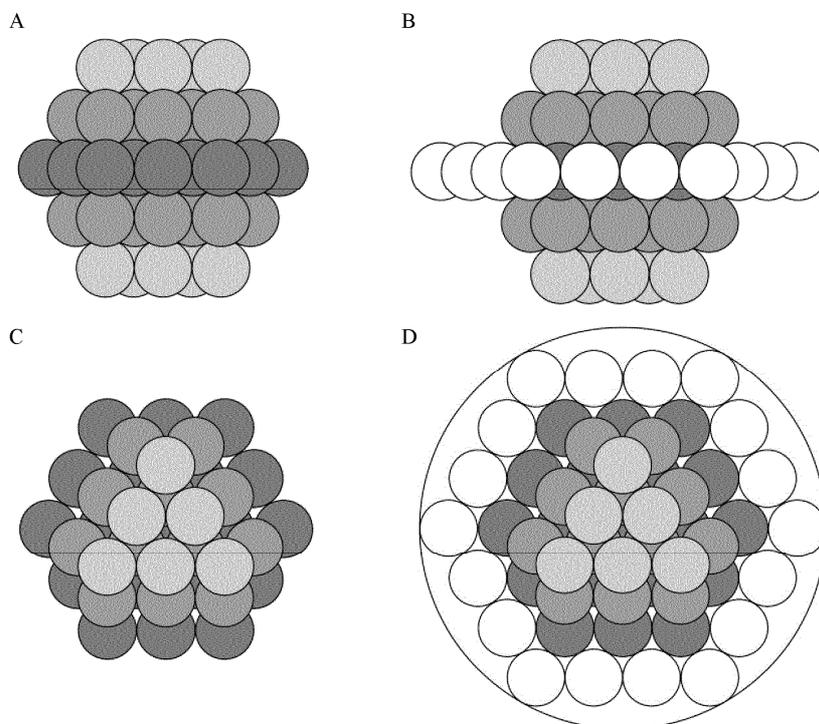
Фиг. 2



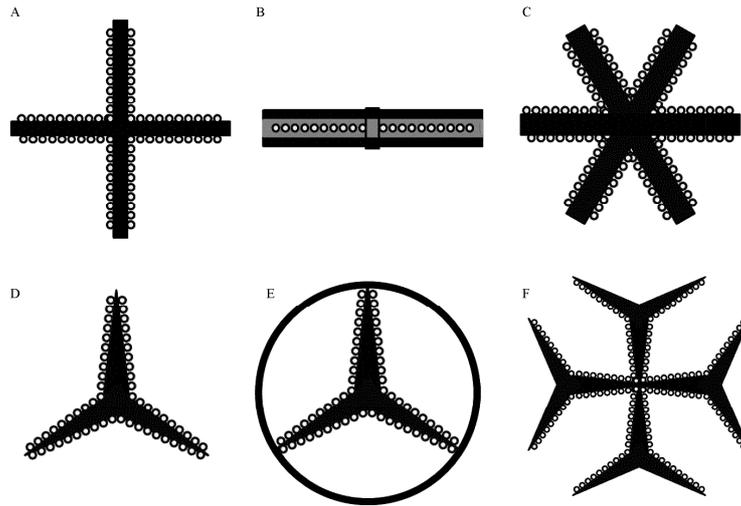
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

