



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2012131203/15, 11.07.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
24.01.2006 US 60/762,002(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена: 2008134282
22.08.2008

(43) Дата публикации заявки: 20.01.2014 Бюл. № 2

Адрес для переписки:

191036, Санкт-Петербург, а/я 24, "НЕВИНПАТ"

(71) Заявитель(и):

НексБио Инк. (US)

(72) Автор(ы):

ФАНГ Фанг (US),

МАЛАХОВ Майкл П. (US)

(54) **ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МИКРОСФЕР**

(57) Формула изобретения

1. Способ изготовления композиции на основе белка, включающий:

- а) добавление противоиона к раствору, содержащему белок в водном растворителе;
- б) добавление органического растворителя к данному раствору; и
- в) постепенное охлаждение раствора до температуры ниже примерно 25°C, в результате чего образуется композиция, содержащая микрочастицы, содержащие белок, где стадии (а), (б) и (в) осуществляют одновременно, последовательно, с перерывами или в любом порядке.

2. Способ по п.1, где стадии (а) и (б) осуществляют одновременно или последовательно в любом порядке, а затем выполняют стадию (в).

3. Способ по п.1, где стадии (а), (б) и (в) осуществляют последовательно в следующем порядке: (а), затем (б), затем (в).

4. Способ по п.1, где органический растворитель смешивается или частично смешивается с водным растворителем.

5. Способ по п.1, дополнительно включающий после стадии (в) отделение микрочастиц от раствора с целью удаления компонентов, не являющихся микрочастицами.

6. Способ по п.1, где органический растворитель выбран из алифатических спиртов, ароматических спиртов, хлороформа, диметилхлорида, многоатомных сахарных спиртов, ароматических углеводов, альдегидов, кетонов, сложных эфиров, простых эфиров, диоксанов, алканов, алкенов, конъюгированных диенов, дихлорметана, ацетонитрила, этилацетата, полиолов, полиимидов, полимеров сложных эфиров, полиальдегидов и их смесей.

7. Способ по п.6, где органический растворитель представляет собой алифатический спирт или ароматический спирт.

8. Способ по п.7, где органический растворитель представляет собой алифатический

спирт.

9. Способ по п.8, где алифатический спирт представляет собой изопропанол.

10. Способ по п.1, где противоион выбран из анионного соединения, катионного соединения и цвиттерионного соединения.

11. Способ по п.10, где противоион представляет собой анионное соединение.

12. Способ по п.11, где анионное соединение выбрано из глицина, цитрата натрия, сульфата натрия, сульфата цинка, сульфата магния, сульфата калия и сульфата кальция.

13. Способ по п.1, где рН раствора составляет от примерно 4,5 или 4,5 до примерно 6,5 или 6,5.

14. Способ по п.1, где белок выбран из сиалидаз, сиалидазных слитых белков, протеаз, протеазных ингибиторов, цитокинов, инсулина, гормона роста человека, кальцитонина, рекомбинантной ДНКазы человека, интерферонов и паратиреоидного гормона.

15. Способ по п.14, где белок представляет собой протеазный ингибитор.

16. Способ по п.14, где белок представляет собой сиалидазный слитый белок.

17. Способ по п.16, где сиалидазный слитый белок содержит каталитический домен сиалидазы и якорный домен, причем каталитический домен сиалидазы является лишь частью сиалидазы в сиалидазном слитом белке.

18. Способ по п.17, где сиалидаза представляет собой сиалидазу *Actinomyces viscosus*.

19. Способ по п.18, где аминокислотная последовательность каталитического домена содержит последовательность аминокислотных остатков, начиная с любой из аминокислот от аминокислоты 270 до аминокислоты 290 и заканчивая любой аминокислотой от аминокислоты 665 до аминокислоты 901 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 1.

20. Способ по п.19, где последовательность каталитического домена сиалидазы содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ ID NO: 2.

21. Способ по п.19, где последовательность каталитического домена содержит последовательность аминокислотных остатков, начиная с аминокислоты 274 и заканчивая аминокислотой 681 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 1.

22. Способ по п.21, где последовательность каталитического домена содержит последовательность аминокислотных остатков, начиная с аминокислоты 274 и заканчивая аминокислотой 666 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 1.

23. Способ по п.19, где последовательность каталитического домена содержит последовательность аминокислот, начиная с аминокислоты 290 и заканчивая аминокислотой 681 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 1.

24. Способ по п.17, где слитый белок содержит якорный домен, который представляет собой гликозаминогликан(GAG)-связывающий домен.

25. Способ по п.24, где GAG-связывающий домен выбран из GAG-связывающего домена тромбоцитарного фактора 4 человека, GAG-связывающего домена интерлейкина 8 человека, GAG-связывающего домена антитромбина III человека, GAG-связывающего домена апопротеина E человека, GAG-связывающего домена человеческого ангиогенез-ассоциированного белка, участвующего в миграции клеток, и GAG-связывающего домена амфифрегулина человека.

26. Способ по п.25, где аминокислотная последовательность GAG-связывающего домена содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 8.

27. Способ по п.26, где аминокислотная последовательность GAG-связывающего домена содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ

ID NO: 8.

28. Способ по п.17, где аминокислотная последовательность сиалидазного слитого белка содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ ID NO: 9.

29. Способ по п.17, где аминокислотная последовательность сиалидазного слитого белка содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ ID NO: 10.

30. Способ по п.17, где аминокислотная последовательность сиалидазного слитого белка содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ ID NO: 11 или в SEQ ID NO: 12.

31. Способ по п.17, где аминокислотная последовательность сиалидазного слитого белка содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ ID NO: 13 или в SEQ ID NO: 14.

32. Способ по п.17, где аминокислотная последовательность сиалидазного слитого белка содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ ID NO: 17.

33. Способ по п.1,
где белок содержит последовательность аминокислотных остатков, приведенную в SEQ ID NO: 17;

органический растворитель добавляют в количестве от 5% до 20% (об./об.);
противоион добавляют в количестве от 1 мМ до 5 мМ; и
рН раствора доводят до величины от 4,5 до 5,5.

34. Способ по п.33, где количество добавленного органического растворителя составляет от примерно 10% или 10% до примерно 30% или 30% (об./об.).

RU 2012131203 A

RU 2012131203 A