

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201591378** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2016.04.29**

(51) Int. Cl. *A61K 41/00* (2006.01)  
*B82Y 5/00* (2011.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2014.01.24**

---

(54) **КОМПОЗИЦИИ НЕОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ В КОМБИНАЦИИ С ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА**

---

(31) **13305087.2; 61/756,533**

(32) **2013.01.25**

(33) **EP; US**

(86) **PCT/EP2014/051367**

(87) **WO 2014/114732 2014.07.31**

(71) Заявитель:  
**НАНОБИОТИКС (FR)**

(72) Изобретатель:  
**Борги Эльза, Леви Лоран, Поттье  
Аньес (FR)**

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

(57) Настоящая заявка относится к активируемым неорганическим наночастицам, которые можно применять в области здоровья, в частности человеческого здоровья, для повреждения, изменения или разрушения раковых клеток, тканей или органов-мишеней. Она более конкретно относится к наночастицам, которые могут генерировать неожиданно эффективный терапевтический эффект при концентрировании внутри опухоли и подвергании действию ионизирующего излучения. Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, включающим популяцию наночастиц, как определено ранее, а также к их применению.

**A1**

**201591378**

**201591378**

**A1**

**КОМПОЗИЦИИ НЕОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ В КОМБИНАЦИИ С  
ИОНИЗИРУЮЩИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА**

Настоящее изобретение относится к активируемым неорганическим наночастицам, которые можно применять в области здоровья, в частности, человеческого здоровья, для повреждения, изменения или разрушения раковых клеток, тканей или органов-мишеней. Более конкретно, оно относится к наночастицам, которые могут генерировать неожиданно эффективный терапевтический эффект при концентрировании внутри опухоли и подвергании действию ионизирующего излучения. Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, включающим популяцию наночастиц, как определено ранее, а также к их применению.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Рак является ведущей причиной смертности по всему миру, насчитывая 7,6 миллионов смертей (приблизительно 13% от всех смертей) в 2008 (Всемирная Организация Здравоохранения). Рак представляет собой обобщенный термин для большой группы заболеваний, которые могут поражать любую часть тела. Другие применяемые термины представляют собой злокачественные опухоли и новообразования. Рак представляет собой неконтролируемый рост и распространение атипичных клеток. Рост часто проникает в окружающую ткань и может метастазировать в отдаленные участки. Метастазы являются основной причиной смерти от рака. Прогнозируют рост смертности от рака по всему миру с установлением 13,1 миллиона смертей в 2030.

Лечение рака требует аккуратного выбора одного или более вмешательств, таких как хирургическое вмешательство, лучевая терапия и/или химиотерапия. Целью является излечение заболевания или значительное пролонгирование жизни при улучшении качества жизни пациента.

Облучение различными формами, такими, как рентгеновские лучи, гамма-лучи, УФ-лучи, лазерное излучение, микроволны, пучки электронов, также, как пучки заряженных частиц, например, нейтронов, ионов углерода и протонов, применяют для лечения

злокачественных заболеваний. Некоторые из указанных видов излучения применяют для этого введения в комбинации с радиосенсибилизирующими веществами. Электромагнитное и ионизирующее излучения на самом деле способны сломать молекулу ДНК клетки, таким образом предотвращая рост и деление указанной клетки. Этот эффект можно объяснить действием частиц или волн, которые создают излучение, которое высвобождает электроны и свободные радикалы, путешествующие в пределах определенного объема и создающие энерговыделение в этом объеме.

US 7367934 B2 относится к способу усиления эффектов излучений, направленных на ткань или популяцию клеток животного. Этот способ включает стадию введения количества металлических наночастиц указанному животному для достижения концентрации в указанной ткани или указанной популяции клеток животного, равной по меньшей мере 0,1% металла по весу; и далее стадию облучения животного излучением, направленным на указанную ткань или указанную популяцию клеток, где указанное излучение находится в форме рентгеновских лучей от приблизительно 1 кэВ до приблизительно 25000 кэВ.

WO 2011/127061 A1 относится к способу усиления эффекта излучения, направленного на ткань или популяцию клеток, включающему стадии: (1) введения животному количества частиц с большим зарядом, включающего нацеливание ионизирующего излучения на молекулу с аффинностью к ткани-мишени, или популяцию клеток-мишеней и элемента с большим атомным номером; и (2) далее облучения ткани-мишени или популяции клеток-мишеней ионизирующим излучением; где частицы с большим зарядом вводят животному в количестве, достаточном для достижения концентрации в ткани-мишени или популяции клеток-мишеней менее, чем 0,05% металла по весу.

Изобретатели здесь предоставляют новую и мощную стратегию применения их наночастиц (описаны здесь и ниже), которые способны добиваться очень эффективного изменения или разрушения раковых клеток-мишеней в комбинации с ионизирующими излучениями, где указанные наночастицы адекватным образом выбирают и концентрируют внутри раковой области-мишени, как

демонстрируют здесь.

#### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретатели теперь предоставляют предпочтительную композицию, включающую неорганические частицы для применения в лечении рака, в частности композицию, позволяющую разрушить более, чем приблизительно 30%, предпочтительно более, чем приблизительно 44% или более, чем приблизительно 47%, еще более предпочтительно более, чем приблизительно 70% раковых клеток в объеме опухоли субъекта (оценка гистологического ответа) или индуцировать по меньшей мере 20% снижение объема опухоли (оценка анатомического ответа) у субъекта или индуцировать по меньшей мере 20% снижение  $^{18}\text{F}$ -FDG SUV (стандартизированное значение накопления изотопа) (оценка метаболического ответа) у субъекта, когда опухоль указанного субъекта подвергают действию ионизирующего излучения.

После введения объем ( $V_c$ ) композиции изобретения занимает между 2 и 50% объема опухоли ( $V_t$ ). Каждая неорганическая наночастица композиции имеет объем ( $V_{in}$ ), имеющий электронную плотность по меньшей мере в 5 раз превышающую электронную плотность соответствующего объема 1 ( $V_{w1}$ ) воды.

В конкретном варианте осуществления способ для индуцирования у субъекта, страдающего раком, (i) разрушения более чем 30% раковых клеток в объеме опухоли или (ii) по меньшей мере более чем 20% снижения размера опухоли, как описано здесь. Способ включает:

введение субъекту, страдающему раком, композиции, включающей неорганические наночастицы, где каждая из указанных неорганических наночастиц имеет объем ( $V_{in}$ ), имеющий электронную плотность по меньшей мере в 5 раз превышающую электронную плотность соответствующего объема 1 ( $V_{w1}$ ) воды, и

подвергание опухоли (ткани-мишени или популяции клеток-мишеней) субъекта действию ионизирующего излучения,

таким образом индуцируя (i) разрушение более чем 30% раковых клеток в объеме опухоли или (ii) по меньшей мере более чем 20% уменьшение размера опухоли, когда объем ( $V_c$ ) указанной композиции занимает между 2 и 50% объема опухоли ( $V_t$ ).

Настоящий документ дополнительно описывает применение неорганических наночастиц для изготовления композиции для индуцирования у субъекта, страдающего раком, (i) разрушения (патологический ответ) более чем приблизительно 30%, предпочтительно более чем приблизительно 44% или 47%, еще более предпочтительно более чем приблизительно 70% раковых клеток в объеме опухоли или (ii) более чем 20% снижения размера опухоли (сморщивания опухоли), когда объем ( $V_c$ ) указанной композиции занимает между 2 и 50% от объема опухоли ( $V_t$ ) и когда опухоль подвергают действию ионизирующего излучения, где каждая неорганическая частица имеет объем ( $V_{in}$ ), имеющий электронную плотность, в 5 раз превышающую электронную плотность соответствующего объема 1 ( $V_{w1}$ ) воды.

В предпочтительном варианте осуществления указанный объем композиции ( $V_c$ ) имеет электронную плотность, по меньшей мере составляющую 3% от электронной плотности соответствующего объема 2 ( $V_{w2}$ ) воды, и еще более предпочтительно указанные неорганические наночастицы предоставляют более чем  $3 \times 10^{22}$  электронов, предпочтительно более, чем  $7 \times 10^{22}$  электронов в массу опухоли.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления эти неорганические наночастицы предоставляют более чем  $3 \times 10^{22}$  электронов, предпочтительно более чем  $7 \times 10^{22}$  электронов в массу опухоли. В другом предпочтительном варианте осуществления объем композиции ( $V_c$ ) (преимущественно дополнительно) имеет электронную плотность, по меньшей мере составляющую 3% от электронной плотности соответствующего объема 2 ( $V_{w2}$ ) воды (Фиг. 1).

Результаты, впервые представленные в контексте настоящего изобретения, теперь демонстрируют, что композиция, включающая неорганические наночастицы высокой электронной плотности, занимающие между 2 и 50% объема опухоли, способны индуцировать гибель по меньшей мере больше, чем приблизительно 30%, предпочтительно больше, чем приблизительно 44% или 47%, еще более предпочтительно больше, чем приблизительно 70% раковых клеток, когда неорганические наночастицы предоставляют по

меньшей мере предпочтительно больше, чем  $3 \times 10^{22}$  электронов, предпочтительно более чем  $7 \times 10^{22}$  электронов в массу опухоли. Каждая наночастица композиции предпочтительно имеет электронную плотность, по меньшей мере в 5 раз превышающую электронную плотность такой же наночастицы, состоящей из молекул воды.

### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

#### НЕОРГАНИЧЕСКАЯ НАНОЧАСТИЦА

##### РАЗМЕР

В сущности изобретения термин «наночастица» относится к продукту, в частности синтетическому продукту, с размером в нанометрическом диапазоне, обычно между 1 нм и 500 нм.

Термин «кристаллит» здесь относится к кристаллическому продукту. Размер кристаллита и его структуру и композицию можно анализировать при помощи рентгеновской дифрактограммы.

Термин «агрегат кристаллитов» относится к совокупности кристаллитов, прочно, обычно ковалентно, связанных друг с другом.

Наночастица изобретения обычно представляет собой кристаллит и/или агрегат кристаллитов.

Термин «размер наночастицы» и «наибольший размер частицы» здесь относятся к «наибольшей величине наночастицы» или «диаметру наночастицы». Трансмиссионную Электронную Микроскопию (ТЕМ) можно применять для измерения размера наночастиц. Также можно применять Динамическое Рассеяние Света (DLS) для измерения гидродинамического диаметра наночастиц в растворе. Эти два способа можно дополнительно применять один за другим для сравнения измерений размера и подтверждения указанного размера. Предпочтительным способом является DLS (Ref. International Standard ISO22412 Particle Size Analysis - Dynamic Light Scattering, International Organization for Standardization (ISO) 2008).

Наибольшая величина наночастицы, как определено здесь, обычно находится между приблизительно 5 нм и приблизительно 250 нм, предпочтительно между приблизительно 10 нм и приблизительно 100 нм или приблизительно 200 нм, еще более предпочтительно между приблизительно 20 нм и приблизительно 150 нм.

## ФОРМА

Поскольку форма частицы может влиять на ее «биосовместимость», предпочтительной является частица, имеющая достаточно гомогенную форму. По фармакокинетическим причинам наночастицы, которые главным образом имеют сферическую, круглую или овоидную форму, являются, таким образом, предпочтительными. Такая форма также содействует взаимодействию наночастицы с клетками или захвату клетками. В частности предпочтительными являются сферическая или круглая формы.

Обычно наибольшая величина представляет собой диаметр наночастицы круглой или сферической формы, или наибольшую длину наночастицы овоидной или овальной формы;

## КОМПОЗИЦИЯ/СТРУКТУРА

Неорганический материал наночастицы, присутствующий в композиции, предпочтительно имеет теоретическую (объемную) плотность, равную по меньшей мере 7, и может быть выбран из любого материала, обладающего этим свойством и идентифицируемого в таблице Физических Констант Неорганических Соединений, появляющейся на 4-43 страницах в Справочнике по Химии и Физике (Handbook of Chemistry and Physics, David R. Lide Editor-In-Chief, 88<sup>th</sup> Edition 2007-2008).

Неорганический материал, составляющий наночастицу, предпочтительно представляет собой материал, имеющий эффективный атомный номер ( $Z_{eff}$ ) по меньшей мере 25, предпочтительно по меньшей мере 40 или 41, более предпочтительно по меньшей мере 50 или 51, более предпочтительно по меньшей мере 60, 61, 62 или даже 63.

Эффективный атомный номер представляет собой термин, который сходен с атомным номером, но который применяют для соединений (например, воды) и смесей различных материалов (таких, как ткань и кость) чаще, чем для атомов. Эффективный атомный номер высчитывает средний атомный номер для соединения и смеси материалов. Его обозначают как  $Z_{eff}$ .

Эффективный атомный номер высчитывают, беря относительную пропорцию каждого атома в соединении и умножая ее на атомный номер атома. Формула для эффективного атомного числа,  $Z_{eff}$ ,

выглядит следующим образом:

$$Z_{eff} = \sqrt[2.94]{f_1 \times (Z_1)^{2.94} + f_2 \times (Z_2)^{2.94} + f_3 \times (Z_3)^{2.94} + \dots}$$

где

$f_n$  представляет собой долю от общего числа электронов, связанных с каждым элементом, и

$Z_n$  представляет собой атомный номер каждого элемента.

Атомный номер (также известный как протонное число) представляет собой число протонов, найденных в ядре атома. Он обычно представлен символом  $Z$ . Атомный номер уникальным образом определяет химический элемент. В атоме с нейтральным зарядом атомный номер равен числу электронов.

Примером является вода ( $H_2O$ ), которая состоит из двух атомов водорода ( $Z=1$ ) и одного атома кислорода ( $Z=8$ ). Общее число электронов составляет  $1+1+8=10$ . Доля электронов, соответствующая двум водородам, составляет  $2/10$ , и доля электронов, соответствующая единственному кислороду, составляет  $(8/10)$ .  $Z_{eff}$  воды, таким образом, представляет собой:

$$Z_{eff} = \sqrt[2.94]{0.2 \times 1^{2.94} + 0.8 \times 8^{2.94}} = 7.42$$

$Z_{eff}$  участвует в способности абсорбировать входящие излучения наночастицами.

Неорганический материал, составляющий наночастицу, обычно выбирают из оксида, металла, сульфида и любой смеси вышеперечисленных веществ.

Когда неорганический материал, составляющий наночастицу, представляет собой оксид, этот оксид предпочтительно выбирают из оксида Церия (IV) ( $CeO_2$ ), оксида Неодимия (III) ( $Nd_2O_3$ ), оксида Самария (III) ( $Sm_2O_3$ ), оксида Европия (III) ( $Eu_2O_3$ ), оксида Гадолия (III) ( $Gd_2O_3$ ), оксида Тербия (III) ( $Tb_2O_3$ ), оксида Диспрозия (III) ( $Dy_2O_3$ ), оксида Гольмия ( $Ho_2O_3$ ), оксида Эрбия ( $Er_2O_3$ ), оксида Тулия (III) ( $Tm_2O_3$ ), оксида Иттербия ( $Yb_2O_3$ ), оксида Лютеция ( $Lu_2O_3$ ), оксида Гафния (IV) ( $HfO_2$ ), оксида Тантала (V) ( $Ta_2O_5$ ), оксида Рения (IV) ( $ReO_2$ ), оксида Висмута (III) ( $Bi_2O_3$ ). В контексте настоящего изобретения смесь неорганических оксидов также можно применять для изготовления

наночастицы изобретения.

Когда неорганический материал, составляющий наночастицу, представляет собой металл, этот металл предпочтительно выбирают из золота (Au), серебра (Ag), платины (Pt), палладия (Pd), олова (Sn), тантала (Ta), иттербия (Yb), циркония (Zr), гафния (Hf), тербия (Tb), тулия (Tm), церия (Ce), диспрозия (Dy), эрбия (Er), европия (Eu), гольмия (Ho), железа (Fe), лантана (La), неодимия (Nd), празеодима (Pr), лютеция (Lu) и смеси вышеперечисленных веществ. В контексте настоящего изобретения смесь металлов также возможна. В контексте настоящего изобретения смесь неорганического оксида и металла также можно применять для изготовления наночастицы изобретения.

Когда неорганический материал, составляющий наночастицу, представляет собой сульфид, этот сульфид предпочтительно представляет собой сульфид серебра (Ag<sub>2</sub>S).

#### ЭЛЕКТРОННАЯ ПЛОТНОСТЬ

Электронная плотность материала, составляющего наночастицу (кристаллитов или агрегатов кристаллитов), представляет собой число электронов на объем материала, выражаемое в электрон/см<sup>3</sup> (e<sup>-</sup>/см<sup>3</sup>).

Электронную плотность высчитывают при помощи следующего уравнения:

$$\rho_{e\text{-material}} = d_{e\text{-material}} \times e_{\text{material}}^{-}$$

где:

$\rho_{e\text{-material}}$  соответствует электронной плотности материала, составляющего наночастицу, выражается как число электронов на см<sup>3</sup> (e<sup>-</sup>/см<sup>3</sup>);

$d_{e\text{-material}}$  соответствует теоретической (кажущейся) плотности материала, составляющего наночастицу (см. таблицу Физических Констант и Неорганических Соединений, стр. 4-43 в Справочнике по Химии и Физике (David R. Lide Editor-In-Chief, 88<sup>th</sup> Edition 2007-2008), и которая выражается в г/см<sup>3</sup>;

$e_{\text{material}}^{-}$  соответствует числу электронов на грамм материала, составляющего наночастицу (см, например, таблицу 5.1 на странице 63 в The Physics of Radiation Therapy Fourth Edition,

Faiz M. Khan 2010), и которое выражается в электрон/г ( $e^-/г$ ).

Когда неорганический материал, составляющий наночастицу, представляет собой металл, число электронов на грамм любого металлического элемента можно высчитать при помощи следующей формулы:

$$N_0 = N \times Z / A$$

$N_0$  = число электронов на грамм элемента.

$N$  = число Авогадро.

$Z$  = атомное число элемента.

$A$  = атомный вес элемента.

Например:

для элемента золота число электронов на грамм составляет  $N_0 = 6,022 \times 10^{23} \times 79 / 196,96 = 2,41 \times 10^{23}$ ;

для основного элемента число электронов на грамм составляет  $N_0 = 6,022 \times 10^{23} \times 82 / 207,2 = 2,38 \times 10^{23}$ ;

для элемента железа число электронов на грамм составляет  $N_0 = 6,022 \times 10^{23} \times 26 / 55,845 = 2,80 \times 10^{23}$ .

Например, для сферической наночастицы золота (GNP) с диаметром, равным 100 нм, электронная плотность наночастиц в 13,9 раз больше электронной плотности соответствующего объема воды (т.е., сферы, диаметр которой равен 100 нм, заполненной молекулами воды).

$$\frac{\rho_{e-GNP}}{\rho_{e-water}} = \frac{d_{GNP} \times e^{-}_{GNP}}{d_{water} \times e^{-}_{water}} = \frac{19.3 \times 2.41 \times 10^{23}}{1.0 \times 3.34 \times 10^{23}} = 13.9$$

Например, для сферической наночастицы железа с диаметром, равным 100 нм, электронная плотность наночастиц в 6,6 раз больше электронной плотности соответствующего объема воды (т.е., сферы, диаметр которой равен 100 нм, заполненной молекулами воды).

$$\frac{\rho_{e-ironNP}}{\rho_{e-water}} = \frac{d_{ironNP} \times e^{-}_{ironNP}}{d_{water} \times e^{-}_{water}} = \frac{7.87 \times 2.80 \times 10^{23}}{1.0 \times 3.34 \times 10^{23}} = 6.6$$

Когда неорганический материал, составляющий наночастицу,

обычно представляет собой оксид или сульфид, число электронов на грамм любого материала, составляющего наночастицу, можно высчитать при помощи следующей формулы

$$e^-_{material} = N \times (\sum Z_{element}) / M$$

$e^-_{material}$  = число электронов на грамм материала, составляющего наночастицу.

$N$  = число Авогадро.

$Z_{element}$  = атомное число каждого элемента, составляющего материал.

$M$  = молекулярный вес материала, составляющего наночастицу.

Например:

для молекул воды число электронов на грамм составляет  $e^-_{water} = 6,022 \times 10^{23} \times (1+1+8)/18 = 3,34 \times 10^{23}$ .

Для материала оксида гафния число электронов на грамм составляет  $e^-_{HfO_2} = 6,022 \times 10^{23} \times (72+8+8)/210,49 = 2,52 \times 10^{23}$ .

Для материала оксида висмута число электронов на грамм составляет  $e^-_{Bi_2O_3} = 6,022 \times 10^{23} \times (83+83+8+8+8)/465,96 = 2,45 \times 10^{23}$ .

Для материала оксида тантала число электронов на грамм составляет  $e^-_{Ta_2O_5} = 6,022 \times 10^{23} \times (73+73+8+8+8+8)/441,9 = 2,53 \times 10^{23}$ .

Для материала оксида церия число электронов на грамм составляет  $e^-_{CeO_2} = 6,022 \times 10^{23} \times (58+8+8)/(172,12) = 2,59 \times 10^{23}$ .

Например, для сферической наночастицы оксида гафния ( $HfO_2$ ) с диаметром, равным 100 нм, электронная плотность наночастиц в 7,3 раз превышает электронную плотность соответствующего объема воды (т.е., сферы, диаметр которой равен 100 нм, заполненной молекулами воды).

$$\frac{\rho_{e-HfO_2}}{\rho_{e-water}} = \frac{d_{HfO_2} \times e^-_{HfO_2}}{d_{water} \times e^-_{water}} = \frac{9.7 \times 2.52 \times 10^{23}}{1.0 \times 3.34 \times 10^{23}} = 7.3$$

Например, для сферической наночастицы оксида висмута ( $Bi_2O_3$ ) с диаметром, равным 100 нм, электронная плотность наночастиц в 6,5 раз превышает электронную плотность

соответствующего объема воды (т.е., сферы, диаметр которой равен 100 нм, заполненной молекулами воды).

$$\frac{\rho_{e-Bi_2O_3}}{\rho_{e-water}} = \frac{d_{Bi_2O_3} \times e_{Bi_2O_3}}{d_{water} \times e_{water}} = \frac{8.24 \times 2.53 \times 10^{23}}{1.0 \times 3.34 \times 10^{23}} = 6.5$$

Например, для сферической наночастицы оксида тантала ( $Ta_2O_5$ ) с диаметром, равным 100 нм, электронная плотность наночастиц в 6,25 раз превышает электронную плотность соответствующего объема воды (т.е., сферы, диаметр которой равен 100 нм, заполненной молекулами воды).

$$\frac{\rho_{e-Ta_2O_5}}{\rho_{e-water}} = \frac{d_{Ta_2O_5} \times e_{Ta_2O_5}}{d_{water} \times e_{water}} = \frac{8.9 \times 2.45 \times 10^{23}}{1.0 \times 3.34 \times 10^{23}} = 6.25$$

Например, для сферической наночастицы оксида церия ( $CeO_2$ ) с диаметром, равным 100 нм, электронная плотность наночастиц в 5,6 раз превышает электронную плотность соответствующего объема воды (т.е., сферы, диаметр которой равен 100 нм, заполненной молекулами воды).

$$\frac{\rho_{e-CeO_2}}{\rho_{e-water}} = \frac{d_{CeO_2} \times e_{CeO_2}}{d_{water} \times e_{water}} = \frac{7.2 \times 2.59 \times 10^{23}}{1.0 \times 3.34 \times 10^{23}} = 5.6$$

#### БИОСОВМЕСТИМОЕ ПОКРЫТИЕ

В предпочтительном варианте осуществления наночастица, применяемая в контексте настоящего изобретения для изготовления исследуемой композиции, может быть покрыта биосовместимым материалом, выбираемым из средства, демонстрирующего малозаметные свойства. На самом деле, когда наночастицы настоящего изобретения вводят субъекту внутривенным (IV) путем, биосовместимое покрытие материалом, выбираемым из средства, демонстрирующего малозаметные свойства, является в частности предпочтительным для оптимизации биораспределения наночастиц. Указанное покрытие ответственно за так называемые «малозаметные свойства» наночастицы.

Средство, демонстрирующее малозаметные свойства, может представлять собой средство, отображающее стерическую группу. Такую группу можно выбрать, например, из полиэтиленгликоля (PEG); полиэтиленоксида; поливинилового спирта; полиакрилата; полиакриламида (поли(N-изопропилакриламида)); поликарбамида; биополимера; полисахарида, такого как декстран, ксилан и целлюлоза; коллагена; цвиттерионного соединения, такого как полисульфобетаин; и т.д.

В другом предпочтительном варианте осуществления наночастицы могут быть покрыты биосовместимым материалом, выбираемым из средства, обеспечивающего взаимодействие с биологической мишенью. Такое средство может обычно приносить положительный или отрицательный заряд на поверхности наночастицы. Этот заряд можно определить при помощи измерения зета-потенциалов, которое обычно проводится на суспензиях наночастиц, концентрация которых варьируется между 0,2 и 10 г/л, где наночастицы суспендированы в водной среде с рН, заключенной между 6 и 8.

Средством, формирующим положительный заряд на поверхности наночастицы, может быть, например, аминокпропилтриэтоксисилан или полилизин. Средством, формирующим отрицательный заряд на поверхности наночастицы, может быть, например, фосфат (например, полифосфат, метафосфат, пирофосфат и т.д.), карбоксилат (например, цитрат или дикарбоновая кислота, в частности, янтарная кислота) или сульфат.

Полное биосовместимое покрытие наночастицы или агрегата может быть предпочтительным, в частности в контексте внутривенного (IV) введения для избежания взаимодействия поверхности частицы с любым распознающим элементом (макрофагом, опсонинами и т.д.). «Полное покрытие» подразумевает присутствие очень высокой скученности биосовместимых молекул, способных создать по меньшей мере полный монослой на поверхности частицы.

Биосовместимое покрытие обеспечивает в частности стабильность наночастицы в жидкости, такой, как физиологическая жидкость (кровь, плазма, сыворотка и т.д.), любой изотонической среде или физиологической среде, например, среде, включающей

глюкозу (5%) и/или NaCl (0,9%), которая требуется для фармацевтического введения.

Стабильность можно подтвердить количественным анализом сухого остатка при помощи применения сушильной печи и измерения на суспензии наночастиц до и после фильтрации на 0,22 или 0,45 мкм фильтре.

Предпочтительно покрытие сохраняет целостность частицы *in vivo*, гарантирует или улучшает ее биосовместимость и облегчает ее опциональную функционализацию (например, с молекулами спейсера, биосовместимыми полимерами, средствами для нацеливания, протеинами и т.д.).

#### НАЦЕЛИВАНИЕ

Конкретная наночастица в соответствии с настоящим изобретением может дополнительно включать средство для нацеливания, которое обеспечивает ее взаимодействие с распознающим элементом, присутствующим на клетке-мишени. Такое средство для нацеливания обычно действует, как только наночастицы аккумулируются в области мишени. Средство для нацеливания может представлять собой любую биологическую или химическую структуру, отображающую аффинность для молекул, присутствующих в теле человека или животного. Например, оно может представлять собой пептид, олигопептид или полипептид, протеин, нуклеиновую кислоту (ДНК, РНК, миРНК, тРНК, микроРНК и т.д.), гормон, витамин, фермент, лиганд молекулы, экспрессируемый патологической клеткой, в частности, лиганд опухолевого антигена, рецептор гормона, цитокиновый рецептор или рецептор фактора роста. Указанные средства для нацеливания можно выбирать, например, из группы, состоящей из РФЛГ (LHRH, релизинг-фактора лютеинизирующего гормона), ЭФР (EGF, эпидермального фактора роста), фолата, анти-V-FN антитела, E-селектина/P-селектина, анти-ИЛ-2R $\alpha$  антитела, соматолиберина (GHRH) и т.д.

#### КОМПОЗИЦИЯ

Другая описываемая здесь конкретная цель относится к фармацевтической композиции, включающей наночастицы, такие, как определено здесь и выше, предпочтительно вместе с

фармацевтически приемлемым носителем или средой.

Типичной целью изобретения является композиция, вызывающая у млекопитающего субъекта, имеющего опухоль, предпочтительно у субъекта-человека, имеющего опухоль, (i) разрушение более чем 30% раковых клеток в объеме опухоли или (ii) по меньшей мере более чем 20% снижение размера опухоли, когда объем ( $V_c$ ) указанной композиции занимает между 2 и 50% объема опухоли ( $V_t$ ) и когда опухоль подвергают действию ионизирующего излучения, где композиция включает неорганические наночастицы, имеющие объем ( $V_{in}$ ), имеющие электронную плотность, по меньшей мере в 5 раз превышающую электронную плотность соответствующего объема 1 ( $V_{w1}$ ) воды.

В типичном варианте осуществления объем опухоли Млекопитающего находится между  $3 \text{ см}^3$  (3 сс) и  $5000 \text{ см}^3$  (5000 сс).

Композиция может находиться в твердой форме, жидкой форме (частицы в суспензии), в форме аэрозоля, геля, пасты и т.п. Предпочтительные композиции находятся в жидкой форме или в форме геля. В частности предпочтительные композиции находятся в жидкой форме.

Носитель, который применяют, может оказывать любую типичную поддержку для специалиста, как, например, физиологический раствор, изотонический, стерильный, буферный раствор, неводный раствор носителя и т.п.

Композиция также может включать стабилизаторы, подсластители, сурфактанты, полимеры и т.п.

Ее можно выпускать, например, в ампуле, аэрозоле, бутылке, таблетке, капсуле, при помощи технологий приготовления фармацевтических составов, известных специалисту.

В целом, композиция в жидкой форме или в форме геля включает между приблизительно 0,05 г/л и приблизительно 450 г/л наночастиц, между приблизительно 0,05 г/л и приблизительно 150 г/л наночастиц, предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10 г/л, 20 г/л, 40 г/л, 45 г/л, 50 г/л, 55 г/л, 60 г/л, 80 г/л, 100 г/л, 150 г/л, 200 г/л, 250 г/л, 300 г/л, 350 г/л или 400 г/л наночастиц.

Концентрацию наночастиц в композиции можно измерить при помощи сухого остатка. Сухой остаток идеальным образом измеряют после стадии высушивания суспензии, включающей наночастицы, в сушильной печи.

#### ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

Наночастицы изобретения можно вводить субъекту при помощи различных возможных путей, таких как местный (внутриопухолевый (IT), внутриартериальный (IA)), подкожный, внутривенный (IV), внутрикожный, через дыхательные пути (ингаляция), интраперитонеальный, внутримышечный, внутрисуставной, интратекальный, внутриглазной или пероральный (*per os*) пути введения, предпочтительно при помощи IT, IV или IA.

Повторные инъекции или введения наночастиц можно производить по мере необходимости.

#### СОЛИДНАЯ ОПУХОЛЬ

Изобретение можно применять для лечения любого типа злокачественных солидных опухолей, в частности эпителиального, нейроэктодермального или мезенхимального происхождения, а также раков лимфатической системы. Наночастицы можно также применять на опухолях поздних стадий, которые нельзя удалить хирургическим путем.

Наночастицы, описанные здесь, в частности предназначены для применения для лечения рака, где лучевая терапия является классическим методом лечения или является наиболее подходящим методом лечения для конкретного субъекта, или где может быть показана лучевая терапия. Такой рак можно выбирать, в частности, из группы, состоящей из рака кожи, включая злокачественные новообразования, связанные со СПИДом, меланому; сквамозного рака; опухолей центральной нервной системы, включая опухоли головного мозга, мозжечка, гипофиза, спинного мозга, ствола мозга, глаза и глазницы; опухолей головы и шеи; раков легких; раков груди; опухолей желудочно-кишечного тракта, таких, как раки печени или гепато-билиарного тракта, толстого кишечника, прямой кишки и анального канала, желудка, поджелудочной железы, пищевода; опухолей мочеполовой системы мужчин, таких, как раки простаты, яичек, пениса и уретры;

гинекологических опухолей, таких, как раки шейки матки, эндометрия, яичников, фаллопиевых труб, влагалища и вульвы; опухолей надпочечников и ретроперитонеальных опухолей; сарком костей и мягких тканей, независимо от локализации; и детских опухолей, таких, как опухоль Вильма, опухоли центральной нервной системы, саркома Юинга и т.д.

#### ОЦЕНКА ОБЪЕМА ОПУХОЛИ ( $V_t$ ) ПЕРЕД ЛЕЧЕНИЕМ

Визуализация объема опухоли включает рентгенографию, компьютерную томографию (КТ, СТ), магнитно-резонансную томографию (МРТ, MRI), ультразвуковое исследование (УЗИ, US), однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ, SPECT) и позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ, PET), как известно специалисту. Все эти технологии применяют для оценки объема опухоли. КТ и МРТ являются самыми часто проводимыми процедурами для планирования лечения.

МРТ использует радиочастотную мощность в присутствии сильного магнитного поля для отклонения протонов, как в воде, так и в цепочках жирных кислот, а также для обеспечения воспроизведения ими радиочастотного сигнала в ответ. Этот сигнал может регистрироваться при помощи приемной катушки. Градиенты можно применять во время применения радиоимпульса или во время принятия этого сигнала для его пространственного кодирования и создания карты сигнала в теле. Характеристики тканей, такие, как  $T_1$ ,  $T_2$ , магнитная чувствительность и резонансные частоты, продуцируемые жиром, водой и другими соединениями, можно определить на изображении.

Компьютерная томография основана на различной поглощаемости рентгеновских лучей различными тканями и обеспечивает изображение поперечного сечения. Слово «томография» происходит от греческого слова «tomos», означающего «срез» или «сечение» и «graphie», означающего «рисунок». Система отображения КТ вырабатывает изображения поперечного сечения костей и мягких тканей внутри тела. КТ изображения можно комбинировать для создания 3D рисунков.

#### ОЦЕНКА ОБЪЕМА КОМПОЗИЦИИ ( $V_c$ ) В ПРЕДЕЛАХ ОБЪЕМА ОПУХОЛИ

Наночастицы настоящего изобретения состоят из материала

высокой электронной плотности. Они по природе являются рентгеноконтрастными (т.е., они поглощают рентгеновские лучи) и могут быть легко визуализированы при применении рентгенографии и компьютерной томографии.

Объем композиции ( $V_c$ ) в пределах объема опухоли ( $V_t$ ) можно подсчитать при помощи техники визуализации компьютерной томографии (КТ). Наночастицы, применяемые для приготовления композиции, создают маркированный контраст на КТ-снимках из-за различий в электронной плотности между тканью опухоли и наночастицами.

Число Хаунсфилда представляет собой нормализованную величину подсчитанного коэффициента поглощения рентгеновских лучей точки (элемент изображения) на компьютерной томограмме, выражаемую в единицах Хаунсфилда (HU), где КТ-число воздуха КТ составляет -1000 ( $HU = -1000$ ), а таковое для воды составляет ноль ( $HU = 0$ ). Для неорганических наночастиц с высокой электронной плотностью разделение между тканями и наночастицами находится обычно около величин HU в 120 или 150. Выше типичных HU величин 120 или 150 вплоть до 200 нельзя больше обнаружить плотности мягких тканей.

Таким образом, можно высчитать объем композиции ( $V_c$ ) - объем, занимаемый наночастицами (HU обычно выше 120 или 150).

Фиг. 2 показывает типичные КТ изображения опухоли с присутствием наночастиц высокой плотности (состоящих из материала оксида гафния). На этой фигуре водную суспензию наночастиц (состоящих из оксида гафния) вводят прямо в опухоль (внутриопухолевое введение). Демонстрируют отсутствие утечки наночастиц из массы опухоли (<10%) после их введения, а также персистирование указанных наночастиц в пределах структуры опухоли (L. Maggiorella с соавт. Nanoscale radiotherapy with hafnium oxide nanoparticles. *Future Oncology*, 2012, 8(9); 1167-1181).

Обычно объем композиции ( $V_c$ ) занимает между 2% и 55% от объема опухоли. Более предпочтительно объем композиции занимает между 2% и 50%, 2% и 45%, 2% и 40%, 2% и 35%, 2% и 25% и еще более предпочтительно между 2%, 2,5, 3 или 5% и 20%, 15% или

10% от объема опухоли.

ПОДСЧЕТ ЭЛЕКТРОННОЙ ПЛОТНОСТИ В ОБЪЕМЕ, ЗАНИМАЕМОМ НАНОЧАСТИЦАМИ, Т.Е., ОБЪЕМЕ КОМПОЗИЦИИ (V<sub>c</sub>) В ПРЕДЕЛАХ ОБЪЕМА ОПУХОЛИ

Электронную плотность объема композиции (V<sub>c</sub>) подсчитывают при помощи калибровочной кривой, установленной при помощи КТ-сканнера.

На первой стадии подсчитывают объем композиции (V<sub>c</sub>) - объем, занимаемый наночастицами (HU выше обычных 120 или 150 или 200).

На второй стадии в пределах подсчитанного объема (V<sub>c</sub>) устанавливают гистограмму, соответствующую распределению величин HU выше обычных 120 или 150 или 200. Гистограмма представляет частоту вокселей, связанных со специфическими HU величинами выше пороговой, обычных 120 HU или 150 HU или 200 HU. Среднюю HU величину для распределения наночастиц получают из следующего уравнения:

$$\text{Средняя HU} = \sum (\text{HU} \times \text{частота}) / \sum \text{частот}$$

Применяют калибровочную кривую, где число Хаунсфилда (HU) откладывают в зависимости от повышенной концентрации наночастиц, как в суспензии, так и в геле. Типичный пример калибровочной кривой представлен для золотых наночастиц с размером в диапазоне от 15 нм вплоть до 105 нм (GNP) на Фиг. 3.

Из калибровочной кривой подсчитывают среднюю концентрацию наночастиц (X<sub>сред</sub> в г/л).

На третьей стадии подсчитывают объем наночастиц (V<sub>NP</sub> = ∑ V<sub>in</sub>) в пределах V<sub>c</sub>, как указано ниже:

$$V_{NP} (\text{cm}^3) = X_{mean} \times V_c (\text{cm}^3) / d_{material} (\text{g/cm}^3) / 1000 (\text{cm}^3)$$

Следующее уравнение далее применяют для подсчета электронной плотности (число электронов на объем) объема композиции:

$$\rho_{e-c} = [(V_c - V_{NP}) \rho_{e-cou} + V_{NP} \times \rho_{e-material}] / V_c$$

где,

$\rho_{e-c}$  = электронная плотность объема композиции (число

электронов на  $\text{см}^3$ );

$\rho_{e-eau}$  = электронная плотность воды;

$\rho_{e-material}$  = электронная плотность материала, составляющего наночастицу.

Из-за отсутствия утечки наночастиц из массы опухоли после местного введения суспензии наночастиц объем композиции соответствует объему суспензии наночастиц, которую вводят в опухоль; и средняя концентрация наночастиц в объеме композиции соответствует концентрации суспензии наночастиц, которые вводят в опухоль.

#### ПОДСЧЕТ КОЛИЧЕСТВА ЭЛЕКТРОНОВ, ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ В ОБЪЕМ ОПУХОЛИ

Количество электронов, предоставляемых наночастицами, подсчитывают при помощи следующего уравнения

$$\text{Количество электронов} = V_{\text{NP}} (\text{см}^3) \times \rho_{e-material}$$

#### ИСТОЧНИКИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Наночастицы изобретения можно применять во многих областях, в частности в медицине и ветеринарии. Наночастицы и композиции в соответствии с изобретением, как описано здесь, предпочтительно предназначены для применения на животных, предпочтительно на Млекопитающих (например в контексте ветеринарии), еще более предпочтительно на человеке, в качестве терапевтического средства, в частности в онкологии, предпочтительно, когда наночастицу подвергают действию ионизирующего излучения. Ионизирующие излучения обычно включают рентгеновские лучи, гамма-лучи, УФ-лучи, пучки электронов, а также пучки частиц, например, нейтронов, ионов углерода и протонов.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу индуцирования у субъекта, страдающего раком (i) разрушения более чем приблизительно 30%, например, более чем приблизительно 35%, 40%, 44% или 45%, предпочтительно более чем приблизительно 47%, например, более чем приблизительно 50%, 55%, 60%, 65% и 68%, еще более предпочтительно более чем приблизительно 70% раковых клеток в объеме опухоли, или (ii) по меньшей мере 15%, 20%, предпочтительно более чем 20% уменьшения

размера опухоли, включающему:

введение субъекту композиции, имеющей объем ( $V_c$ ), занимающий между 2 и 50% объема опухоли ( $V_t$ ), где указанная композиция включает неорганические наночастицы, каждая наночастица имеет объем ( $V_{in}$ ), имеющий электронную плотность по меньшей мере в 5 раз превышающую электронную плотность соответствующего объема 1 ( $V_{w1}$ ) воды; и

подвергание опухоли субъекта действию ионизирующего излучения.

В предпочтительном варианте осуществления объем композиции ( $V_c$ ) имеет электронную плотность, по меньшей мере на 3% превышающую электронную плотность соответствующего объема 2 ( $V_{w2}$ ) воды. Еще более предпочтительно неорганические наночастицы предоставляют по меньшей мере, предпочтительно более чем  $3 \times 10^{22}$  электронов, например, более чем приблизительно  $3,2 \times 10^{22}$  электронов, предпочтительно более чем  $7 \times 10^{22}$  электронов в массу опухоли.

Под действием ионизирующего излучения, в частности рентгеновских лучей, гамма-лучей, радиоактивных изотопов и/или пучков электронов, наночастицы активируются или, другими словами, возбуждаются и вырабатывают электроны и/или протоны высокой энергии. Те электроны и/или протоны высокой энергии, излучаемые после облучения, вовлекаются прямо и/или непрямо в повреждение клеток, возможно, при помощи образования свободных радикалов и, таким образом, в разрушение клеток, что приводит к лучшему исходу для пациента. Неожиданно изобретатели обнаружили, что электроны высокой плотности в каждой наночастице вместе с количеством электронов, предоставляемых наночастицами в массу опухоли, ответственны за значительно увеличившуюся эффективность лучевой терапии.

Частицы могут возбуждаться в пределах большого диапазона общей дозы излучения.

Количества и схемы (планирование и доставки облучения вне зависимости от разовой очаговой дозы, схемы доставки очаговой дозы, общей одиночной дозы или в комбинации с другими

противораковыми средствами и т.д.) определены для любого заболевания/анатомической области/стадии заболевания выборки пациента/возраста пациента (дети, взрослые, пожилые пациенты), и составляют стандарт помощи для любой конкретной ситуации.

Облучение можно применять в любое время после введения наночастиц один или более раз путем применения любой имеющейся в настоящее время системы лучевой терапии и рентгенографии.

Как показано ранее, подходящие излучения или источники возбуждения представляют собой предпочтительно ионизирующие излучения и могут быть предпочтительно выбраны из группы, состоящей из рентгеновских лучей, гамма-лучей, пучков электронов, пучков ионов и радиоактивных изотопов или радиоизотопного излучения. Рентгеновские лучи являются в частности предпочтительным источником возбуждения.

Ионизирующее излучение обычно составляет от приблизительно 2 кэВ до приблизительно 25000 кэВ, в частности от приблизительно 2 кэВ до приблизительно 6000 кэВ (т.е. 6 МэВ) (источник LINAC), или от приблизительно 2 кэВ до приблизительно 1500 кэВ (например, такой источник, как кобальт 60).

В целом и в неограничивающей манере, следующие рентгеновские лучи можно применять в различных случаях для возбуждения частиц:

поверхностные рентгеновские лучи от 2 до 50 кэВ: для возбуждения наночастиц рядом с поверхностью (проникновение на несколько миллиметров);

рентгеновские лучи от 50 до 150 кэВ: в диагностике, но также в терапии;

рентгеновские лучи (ортовольтажные) от 200 до 500 кэВ, которые могут проникать в ткань толщиной 6 см;

рентгеновские лучи (мегавольтажные) от 1000 кэВ до 25000 кэВ.

Радиоактивные изотопы можно применять в качестве альтернативы в качестве источника ионизирующего излучения (называемого кюритерапией или брахитерапией). В частности, можно предпочтительно применять Йод  $I^{125}$  ( $t_{1/2} = 60,1$  день), Палладий  $Pd^{103}$  ( $t_{1/2} = 17$  дней), Цезий  $Cs^{137}$ , Стронций  $^{89}Sr$  ( $t$

1/2 = 50,5 дней), Самарий  $^{153}\text{Sm}$  ( $t_{1/2} = 46,3$  часа) и Иридий  $\text{Ir}^{192}$ .

Заряженные частицы, такие, как пучки протонов, пучки ионов, таких, как углерод, в частности пучки ионов высокой энергии также можно применять в качестве источника ионизирующего излучения и/или пучков нейтронов.

Пучки электронов также можно применять в качестве источника ионизирующего излучения с энергией, заключенной между 4 МэВ и 25 МэВ.

Специфический источник монохроматического излучения можно применять для селективного генерирования излучения рентгеновских лучей при энергии, близкой к или соответствующей желаемому порогу поглощения рентгеновских лучей атомами, составляющими металлический материал.

Предпочтительно источники ионизирующего излучения можно выбирать из Линейного Ускорителя (LINAC), Кобальта 60 и источников брахитерапии.

#### ОЦЕНКА ОБЪЕКТИВНОГО ОТВЕТА ОПУХОЛИ

*Оценка размера опухоли (Критерии анатомического ответа)*

Оценка изменения в массе опухоли является важной характеристикой клинической оценки терапии рака: как сморщивание опухоли (объективный ответ), так и прогрессирование заболевания являются полезными конечными точками в клинических исследованиях.

Применение регресса опухоли (уменьшение размера опухоли) в качестве значимой конечной точки для скрининга новых средств для свидетельства противоопухолевого эффекта поддерживается годами свидетельств, предполагающих, что для многих солидных опухолей средства, которые вызывают сморщивание опухоли у доли пациентов, имеют значительный шанс (пусть и не идеальный) значимой демонстрации улучшения в общей выживаемости или качества жизни, оба из которых являются золотыми стандартами для измерения клинической пользы.

В 1981 Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ, WHO) впервые опубликовала критерии ответа опухоли. Новые критерии, известные как RECIST (Критерии Оценки Объективного Ответа при

Солидных Опухолях, Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), были опубликованы в 2000 и 2009. В упомянутых выше критериях ответа опухоли для оценки размера опухоли применяют такие техники визуализации, как КТ, МРТ или другие технологии.

*Оценка процентов (%) гибели раковых клеток*

Гистологическое исследование применяют для определения остаточных раковых клеток обычно после предоперационной терапии. В последнее время можно проводить оценку патологического ответа первичного повреждения при помощи определений, предложенных в клинических исследованиях, таких, как, но не исчерпывающе, японские критерии патологического ответа, классификация Аберсена, классификация GEPARDO, классификация NSABP B18.

*Молекулярная визуализация (Критерии метаболического ответа)*

Среди нескольких проводимых подходов молекулярной визуализации для мониторингования лечения, наиболее часто применяемыми являются такие, как динамическое МРТ с контрастированием, диффузионно-взвешенное МРТ, МР-спектроскопия, оптическая визуализация и ультразвук с контрастированием, ПЭТ с аналогом глюкозы  $^{18}\text{F}$ -FGD (( $^{18}\text{F}$ фтордеоксигликозная позитронно-эмиссионная томография).

Меньший захват или отсутствие снижения захвата  $^{18}\text{F}$ -FGD опухолью считается признаком отсутствия опухолевого ответа. Те опухоли с длительным отсутствием захвата  $^{18}\text{F}$ -FGD с течением времени считаются наиболее склонными к полноценным патологическим ответам благодаря гистологии в конце терапии. Захват  $^{18}\text{F}$ -FGD опухолью также снижается быстрее, чем размер опухоли при эффективном лечении.

Два базовых подхода можно рассматривать для оценки метаболических изменений при лечении: качественный и количественный. Для количественного анализа широко применяют SUV (Стандартизированное Значение Накопления) для оценки аккумуляции меченых веществ в тканях. SUV может быть нормализовано к массе тела, безжировой массе тела (SUL) или площади поверхности тела. Обычно процентное снижение в SUV

опухоли можно применять в качестве способа подсчета для оценки объективного опухолевого ответа на терапию. Тем не менее, также можно применять абсолютные определения SUV.

*Молекулярные маркеры для мониторинга опухолевого ответа на лечение*

Измерение маркеров, специфически секретируемых раковыми клетками в кровь, можно применять для мониторинга опухолевого ответа на терапию. Для некоторых злокачественных опухолей, включая раки простаты, яичников и щитовидной железы, применяют опухолевые маркеры (простато-специфический антиген, СА125 и тиреоглобулин) для мониторинга опухолевого ответа на лечение.

Классическое управление раком систематически подразумевает согласование мультимодальных схем лечения (комбинацию лучевой терапии и химиотерапии для примера).

Описанные здесь наночастицы, предоставленные действию излучения, в частности в контексте лучевой терапии, можно применять в связи с любыми различными протоколами терапии рака. Такой протокол можно выбирать из группы, состоящей из хирургического лечения, радиохимиотерапии, химиотерапии, лечения, включающего введение цитостатика (-ов), цитотоксического (-их) препарата (-ов), таргетной терапии, иммунотерапии, радионуклидов, в частности, иммунорадионуклидов, и любого другого биологического продукта, предназначенного для лечения рака.

Другие аспекты и преимущества изобретения будут очевидны из следующих примеров, которые даны с целью иллюстрирования без ограничения.

**ФИГУРЫ**

**ФИГ. 1** показывает: что после введения объем ( $V_c$ ) композиции изобретения занимает между 2 и 50% объема опухоли ( $V_t$ ). Каждая неорганическая наночастица композиции имеет объем ( $V_{in}$ ), имеющий электронную плотность, по меньшей мере в 5 раз выше, чем электронная плотность соответствующего объема 1 ( $V_{w1}$ ) воды. Эти неорганические наночастицы предоставляют по меньшей

мере, предпочтительно  $3,2 \times 10^{22}$  электронов, предпочтительно более, чем  $7 \times 10^{22}$  электронов в массу опухоли. Объем композиции (Vc) (дополнительно) имеет электронную плотность, по меньшей мере на 3% превышающую электронную плотность соответствующего объема 2 (Vw2) воды.

**ФИГ. 2** показывает распределение и рассредоточение во времени биосовместимой суспензии частиц  $\text{HfO}_2$  после внутриопухолевого введения швейцарским бестимусным мышам, имеющим НСТ116 опухоль. Проводят компьютерную томографию опухоли на 2 и 15 день после введения.

**ФИГ. 3** показывает ослабление рентгеновского излучения как функцию концентрации золота для золотых наночастиц с размером, равным 15 нм (GOLD-15), 30 нм (GOLD-30), 60 нм (GOLD-60), 80 нм (GOLD-80) и 105 нм (GOLD-105).

Значения HU как функция [Au] (г/л) GOLD-15: точки-ромбы.

Значения HU как функция [Au] (г/л) GOLD-30: точки-квадраты.

Значения HU как функция [Au] (г/л) GOLD-60: точки-треугольники.

Значения HU как функция [Au] (г/л) GOLD-80: точки-крестики.

Значения HU как функция [Au] (г/л) GOLD-105: + точки.

**ФИГ. 4** показывает % гибели клеток (послеоперационное патологическое исследование) после лечения на момент операции. Более чем 70% гибель клеток наблюдается у пациентов, которые получают суспензию наночастиц высокой электронной плотности, которую вводят внутрь опухоли в пределы массы опухоли, так, что количество электронов, предоставляемых наночастицами в массу опухоли, составляет более  $7 \times 10^{22}$ .

**ФИГ. 5** показывает распределение и рассредоточение во времени (в течение всего сеанса лучевой терапии:  $2 \times 25\text{Гр}$ ) биосовместимой суспензии частиц  $\text{HfO}_2$  после внутриопухолевого введения субъекту-человеку, имеющему саркому мягких тканей конечности. Компьютерную томографию опухоли проводят на 1 день (до первого сеанса лучевой терапии) и на 65 день (после всех

сеансов лучевой терапии перед операцией) после введения. Снижение объема опухоли (эволюция объема опухоли) составляет 53%.

### ПРИМЕР

Композицию, включающую наночастицы оксида гафния, с концентрацией, равной 53 г/л, вводят внутрь опухоли пациентам с саркомой мягких тканей конечностей поздней стадии. Объем инъекции соответствует 2,5% исходного объема опухоли. Пациенты получают 50Гр лучевой терапии в течение 5 недель и далее проходят резекцию опухоли.

Следующая таблица резюмирует

- исходный объем опухоли ( $\text{см}^3$ );
- объем композиции, который представляет собой объем суспензии наночастиц (составляющих материал оксида гафния), которую вводят внутрь опухоли, и который соответствует 2,5% исходного объема опухоли ( $\text{см}^3$ );
- концентрацию наночастиц, равную 53 г/л;
- электронную плотность каждой наночастицы (с объемом  $V_{in}$ ) в отношении электронной плотности такой же наночастицы (с объемом  $V_{w1}$ ), составляющей молекулы воды;

$$\frac{\rho_{e-HfO_2}}{\rho_{e-water}} = \frac{d_{HfO_2} \times e_{HfO_2}}{d_{water} \times e_{water}} = \frac{9.6 \times 2.52 \times 10^{23}}{1.0 \times 3.34 \times 10^{23}} = 7.3$$

- электронную плотность объема композиции ( $V_c$ ) в отношении электронной плотности такого же объема ( $V_{w2}$ ), составляющего молекулы воды;

$$\frac{(V_c - V_{HfO_2}) \rho_{e-eau} + V_{HfO_2} \times \rho_{e-HfO_2}}{V_c \times \rho_{e-eau}} = 1.034$$

- количество электронов, отдаваемых наночастицами в массу опухоли;

$$\text{Quantity of electrons} = V_{HfO_2} (\text{cm}^3) \times \rho_{e-HfO_2} (e-/cm^3)$$

- % наночастиц в пределах опухоли, выражаемый как вес наночастиц по весу опухоли (например, 0,13% относится к 0,13 г наночастиц на 100 г опухоли).

Vt: объем опухоли (см <sup>3</sup> )		55,0	55,0	95,9	158,0	212,0	476,0	1814,4
Vc: Объем композиции (2,5% от объема опухоли) (см <sup>3</sup> )		1,4	1,4	2,4	4,0	5,3	11,9	45,0
Xсред: Средняя концентрация (г/л)		53,0	53,0	53,0	53,0	53,0	53,0	53,0
Электронная плотность каждой наночастицы в отношении электронной плотности такой же наночастицы, составляющей молекулы воды: e-плотность (Vin)/e-плотность (Vw2)	$\frac{\rho e^-_{Vin}}{\rho e^-_{vw1}}$	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3
Электронная плотность объема композиции (Vc) в отношении того же объема, составляющего молекулы воды: e-плотность (Vc)/e-плотность (Vw2)	$\frac{\rho e^-_{Vc}}{\rho e^-_{vw2}}$	1,03442	1,03442	1,03442	1,03442	1,03442	1,03442	1,03442
		3,4%	3,4%	3,4%	3,4%	3,4%	3,4%	3,4%
Количество e-, отдаваемых наночастицами в массу опухоли		1,87E+22	1,87E+22	3,20E+22	5,27E+22	7,07E+22	1,59E+23	6,00E+23
% наночастиц в пределах опухоли, выражаемый в весе наночастиц на вес опухоли		0,13%	0,13%	0,13%	0,13%	0,13%	0,13%	0,13%
% гибели раковых клеток		44	47	10	55	93	72	93

Фиг. 4 показывает % гибели клеток (послеоперационное патологическое исследование) после лечения во время операции. Более 70% погибших клеток наблюдают у пациента, получающего суспензию с наночастицами высокой электронной плотности, которую вводят внутрь опухоли в пределы массы опухоли, так, что количество электронов, предоставляемых наночастицами в массу опухоли, составляет по меньшей мере  $7 \times 10^{22}$ .

Интересно то, что процент (%) наночастиц в пределах опухоли, выражающийся как вес наночастиц по весу опухоли, равен 0,13% (0,13% соответствует 0,13 г наночастиц на 100 г опухоли). Эта величина соответствует 0,11% элемента гафния в пределах опухоли (т.е., 0,11 г элемента Гафния на 100 г опухоли). Этот % наночастиц по весу не усиливает значительно опухолевый ответ на лучевую терапию, если количество электронов, предоставляемых наночастицами в массу опухоли, не составляет более  $3 \times 10^{22}$ , предпочтительно  $7 \times 10^{22}$ .

Представленные здесь результаты демонстрируют, что только композиция, включающая неорганические наночастицы высокой электронной плотности (т.е., каждая наночастица имеет электронную плотность, по меньшей мере в 5 раз превышающую электронную плотность такой же наночастицы, составляющей молекулы воды), занимающие между 2 и 50% объема опухоли, способна индуцировать более чем 44% или 47%, предпочтительно 70% гибель раковых клеток, когда неорганические наночастицы предоставляют более  $3 \times 10^{22}$ , предпочтительно более  $7 \times 10^{22}$  электронов в массу опухоли.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Композиция, индуцирующая у субъекта-человека, имеющего опухоль, (i) разрушение более чем 30% раковых клеток в объеме опухоли или (ii) по меньшей мере более чем 20% снижение размера опухоли, где объем ( $V_c$ ) указанной композиции занимает между 2 и 50% объема опухоли ( $V_t$ ), и где опухоль подвергают действию ионизирующего излучения, где композиция включает неорганические наночастицы, имеющие объем ( $V_{in}$ ), имеющие электронную плотность, по меньшей мере в 5 раз превышающую электронную плотность соответствующего объема 1 ( $V_{w1}$ ) воды.

2. Композиция по п. 1, где указанный объем композиции ( $V_c$ ) имеет электронную плотность, по меньшей мере на 3% превышающую электронную плотность соответствующего объема 2 ( $V_{w2}$ ) воды.

3. Композиция по п. 1 или 2, где композиция предназначена для индуцирования разрушения более чем 44%, предпочтительно 47% раковых клеток в объеме опухоли, где неорганические наночастицы предоставляют более чем  $3 \times 10^{22}$  электронов в массу опухоли.

4. Композиция по п.п. 1-3, где композиция предназначена для индуцирования разрушения более чем 70% раковых клеток в объеме опухоли, где неорганические наночастицы предоставляют более чем  $7 \times 10^{22}$  электронов в массу опухоли.

5. Композиция по любому из п.п. 1-4, где неорганический материал наночастицы имеет теоретическую (объемную) плотность, равную по меньшей мере 7, и эффективный атомный номер ( $Z_{eff}$ ), равный по меньшей мере 25.

6. Композиция по п. 5, где неорганический материал выбран из оксида, металла, сульфида или любой смеси вышеперечисленных веществ.

7. Композиция по любому из п.п. 1-6, где наибольшая величина наночастицы находится между приблизительно 5 нм и приблизительно 250 нм.

8. Композиция по любому из п.п. 1-7, где композиция представляет собой фармацевтическую композицию в жидкой форме или в форме геля.

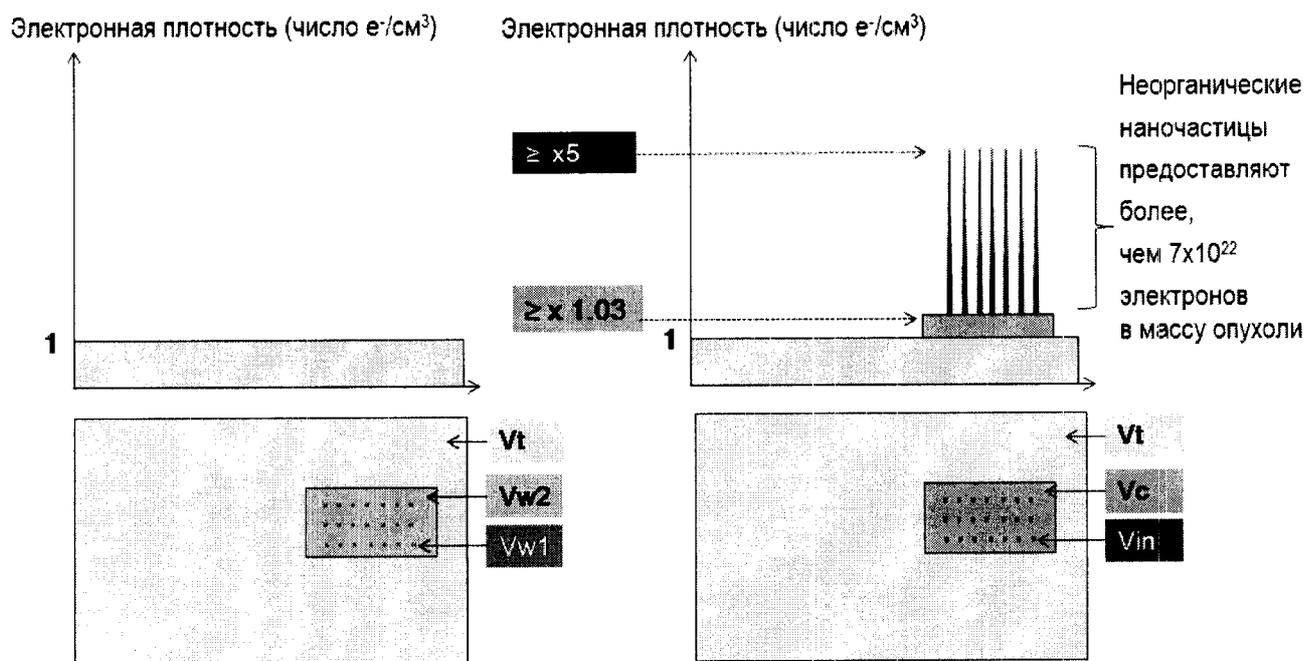
9. Композиция по любому из п.п. 1-8, где опухоль

представляет собой злокачественную солидную опухоль или рак лимфатической системы.

10. Композиция по любому из п.п. 1-9, где неорганические наночастицы вводят субъекту через путь, выбранный из внутриопухолевого, внутриартериального и внутривенного пути.

11. Композиция по любому из п.п. 1-10, где источники ионизирующего излучения выбраны из рентгеновских лучей, обычно рентгеновских лучей 50 кэВ и 6 МэВ, пучков ионов, пучков электронов, гамма-лучей, радиоактивного изотопа.

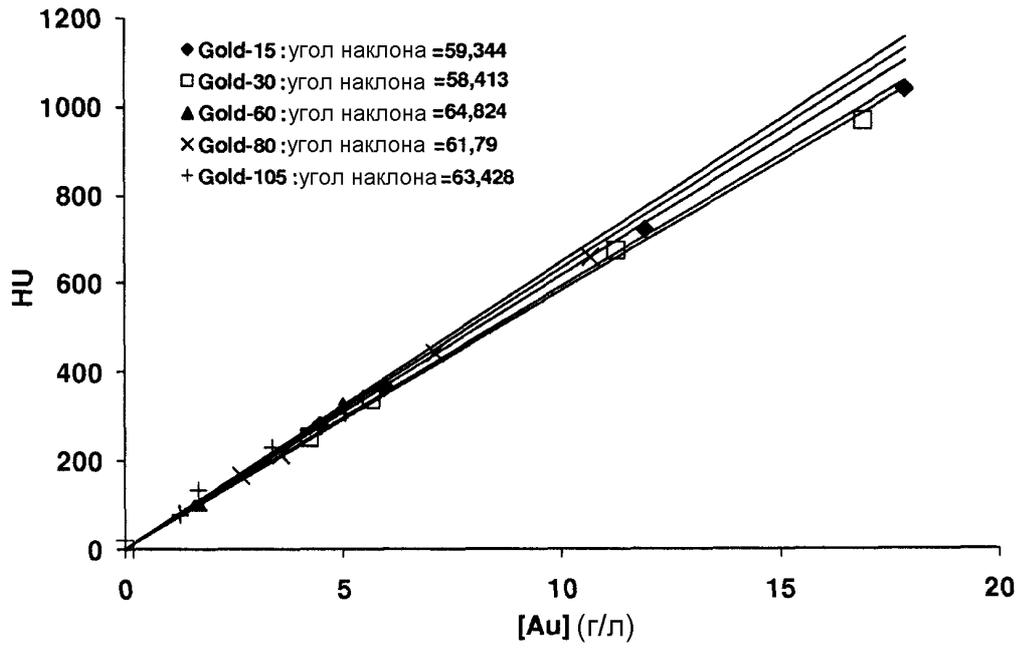
По доверенности



Фиг. 1



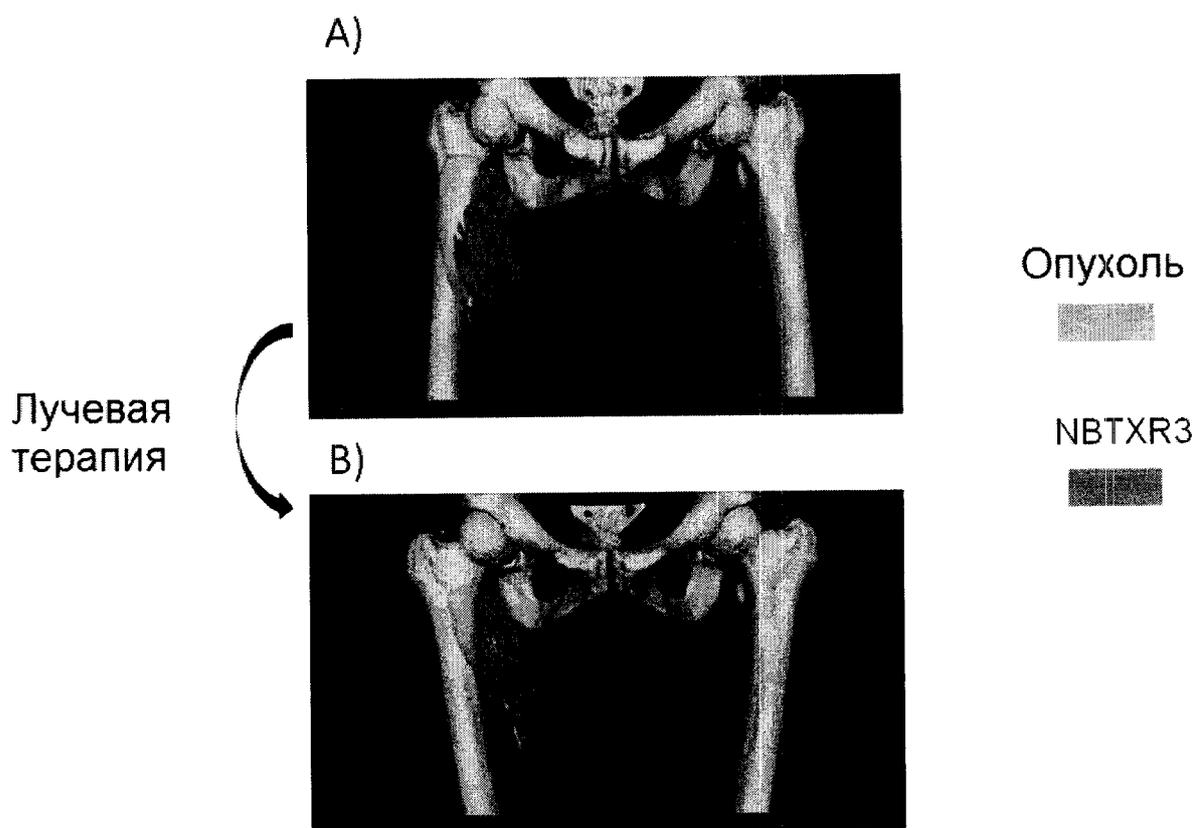
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5