(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103079642 A
(43)申请公布日 2013.05.01

(21)申请号 201180042372.5

(22)申请日 2011.07.15

(30)优先权数据
10169862.9 2010.07.16 EP
61/364,917 2010.07.16 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2013.03.01

(86)PCT申请的申请数据
PCT/EP2011/062122 2011.07.15

(87)PCT申请的公布数据
WO2012/007567 EN 2012.01.19

(71)申请人 丹麦科技大学
地址 丹麦灵比

(72)发明人 托马斯·拉尔斯·安德雷森
莫滕·阿尔布雷克特森

(74)专利代理机构 北京派特恩知识产权代理事务所(普通合伙) 11270
代理人 武晨燕 张颖玲

(51)Int.Cl.
A61N 5/10(2006.01)
A61K 49/00(2006.01)
A61B 6/03(2006.01)

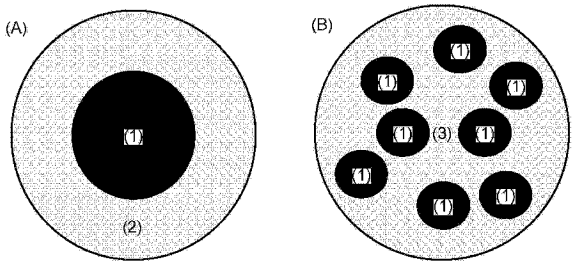
权利要求书2页 说明书32页 附图1页

(54)发明名称

纳米颗粒引导的放射疗法

(57)摘要

本发明涉及用于靶组织的图像引导放射疗法(IGRT)的一种方法以及纳米级颗粒。更确切地,本发明涉及纳米级颗粒,这些纳米级颗粒包括具有阻断x-射线能力的处于固体形式的X-射线-成像造影剂,允许例如使用计算机断层摄影(CT)的同时的或集成的外部光束放射疗法与成像。



CN 103079642 A

1. 一种组合物，该组合物包括纳米级颗粒，这些纳米级颗粒包括由 X- 射线成像可检测的、用于在一个体中的靶组织的图像引导放射疗法中的用途的一种固体形式的化合物，该靶组织包括不希望生长的细胞。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中该图像引导的放射疗法包括 ：

a) 将所述组合物给予所述个体 ；

b) 记录该靶组织的 X- 射线图像以获得该靶组织的一个限定 ；并且

c) 使用在 b) 中获得的该靶组织的该限定以将放射疗法指引至该靶组织 ；

其中 b) 和 c) 是顺序地或同时地进行。

3. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中这些纳米级颗粒具有以至少 1 小时为循环的半衰期。

4. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中这些纳米级颗粒具有 10 至 150nm 的数均直径。

5. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中这些纳米级颗粒是选自下组，该组由以下各项组成 ：脂质体、聚合物囊泡、树状聚合物、水溶性交联聚合物、水状胶体、胶束、包覆的金属颗粒、以及其中该核心是一种固体盐的包覆颗粒。

6. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中这些纳米级颗粒是脂质体。

7. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的组合物，其中这些纳米级颗粒是包覆颗粒，其中该核心包括一种固体金属和 / 或一种固体金属盐。

8. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中这些纳米级颗粒包括一种含有聚乙二醇 (PEG) 的壳或表面包衣。

9. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中该可检测的化合物是该纳米级颗粒除任何水外的至少 10 个重量百分比。

10. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中该可检测的化合物是处于一种固体金属或一种固体金属盐的形式，并且包括一种或多种选自下组的同位素，该组由以下各项组成 ：金 (Au)、铋 (Bi)、铁 (Fe)、钡 (Ba)、钙 (Ca)、以及镁 (Mg)。

11. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中该可检测的化合物是金 (Au) 或铋 (Bi)，例如金 (Au)。

12. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中该靶组织包括肿瘤细胞。

13. 根据权利要求 2 至 12 中任一项所述的组合物，其中在步骤 a) 中的所述组合物的给予允许在步骤 a) 后的步骤 b) 中 X- 射线图像的记录持续至少 3 天，任选地其中这些纳米级颗粒具有以至少 8 小时为循环的半衰期。

14. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中在权利要求 2 中的步骤 b) 导致三维或多维坐标数据组，其中第四维是时间，所述数据组是用于该靶组织的限定以及治疗引导。

15. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中该 X- 射线成像是计算机断层摄影 (CT) 成像。

16. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物，其中该纳米级颗粒包括用于一种或多种成像模式例如磁共振成像 (MRI)、正电子发射断层摄影 (PET) 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像或核闪烁摄影成像的一种放射性的或顺磁性的化合物。

17. 根据权利要求 15 所述的组合物，其中该图像引导的放射疗法进一步包括用一种或多种选自下组的成像模式的一个成像步骤，该组由以下各项组成：磁共振成像 (MRI)、正电子发射断层摄影 (PET) 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像、核闪烁摄影成像、超声扫描成像、超声成像、近红外成像或荧光成像。

18. 一种用于 X- 射线图像记录用途的纳米级颗粒，所述颗粒包括：

(i) 一个壳或表面包衣，该壳或表面包衣包括一个脂质层，例如一个脂质单层和 / 或一个脂质双层；以及

(ii) 一个核心，该核心包括一种用于计算机断层摄影 (CT)- 成像的造影剂，该造影剂选自下组，该组由以下各项组成：金 (Au) 以及铋 (Bi)，其中该造影剂是处于一种固体形式。

19. 根据权利要求 1-17 中任一项所述的组合物，其中该纳米级颗粒是如在权利要求 18 中所定义的。

20. 用于在需要它的个体中治疗一种与不希望的细胞的生长相关联的病症或疾病的一种方法，其中所述方法包括以下步骤：

a) 提供纳米级颗粒，这些纳米级颗粒包括由计算机断层摄影 (CT)- 成像可检测的一种化合物，

b) 将这些纳米级颗粒给予所述个体，

c) 记录包括这些不希望生长的细胞的一个靶组织的多个计算机断层摄影 (CT)- 图像，由此获得该靶组织的一个限定，而给出不希望生长的细胞的精确位置以及从正常组织的分离，

d) 使用在 c) 中获得的该靶组织的限定以将放射疗法指引至这些不希望生长的细胞并且保存正常组织，

其中所述化合物是处于固体形式，并且

其中图像记录与放射疗法治疗的执行被整合，并且顺序地或同时地进行。

纳米颗粒引导的放射疗法

[0001] 在本申请中引用的每个专利和非专利参考文件通过引用以其全文结合在此

技术领域

[0002] 本发明涉及用于图像引导放射疗法 (IGRT) 的一种方法以及纳米级颗粒。更确切地，本发明涉及纳米级颗粒，这些纳米级颗粒包括具有阻断 x- 射线能力的处于固体形式的计算机断层摄影 (CT)- 成像造影剂，这允许同时的或集成的计算机断层摄影 (CT)- 成像与外部光束放射疗法。

背景技术

[0003] 癌症是一个主要死因。目前，基于全世界，8 个人中 1 人死于癌症。关于癌症的另一个毁灭性的事实是它杀死所有年龄的人。癌症是由细胞的不受控制的生长引起，并且癌症的治愈性治疗目的在于除去或破坏这些恶性并且生长的细胞。

[0004] 放射疗法

[0005] 三种不同方法被普遍用于治疗癌症 :外科手术、化学疗法以及放射疗法。放射疗法是用于治疗广范围的不同癌症类型的普遍使用的方法，并且最常见的癌症类型能以一些方式用放射疗法治疗。

[0006] 外部光束放射疗法超出化学疗法和外科手术的主要优点是 :它是一种非系统并且非侵入性的治疗 ;并且放射疗法越来越被优先用于在外科手术是困难时候的不同癌症类型的治疗中。放射疗法经常与上述其他治疗方法组合用于癌症的最佳治疗。

[0007] 放射疗法的目的是破坏癌组织同时保存正常组织。追求这个目标对于某些类型的癌症 (对于这些类型的癌症，对正常的健康组织的放射引起严重的副作用) 是特别重要的。在前列腺癌的放射疗法中的一个实例是 :将前列腺腺体位于膀胱下和直肠前，并且至关重要的是将外部光束放射集中在前列腺中以避免严重的副作用，例如直肠损害、失禁以及阳痿。另一个实例是脑肿瘤，其中在癌性组织与涉及重要功能的健康组织之间的距离可以非常小。

[0008] 对在治疗与成像过程中 / 之间移动的组织中的肿瘤的放射治疗依然是在放射疗法中的主要挑战之一。移动可以例如是由在呼吸时器官填充或移动中的差异引起。为了克服这个问题，患有肺癌的患者被指示在放射疗法过程中不呼吸。然而，对于多种其他类型的癌症，该治疗进一步被复杂化，这是因为这些肿瘤可以位于经受不自主运动的组织附近或之中。

[0009] 成像

[0010] 为了保存正常组织并且避免在健康组织中的有害的放射副作用，极为重要的是获得一个与正常健康细胞相比，目标体积的恶性细胞的一个清晰限定。

[0011] 恶性细胞的限定是通过使用不同的成像模式来获得。因此，成像是放射疗法中的基础。现今，主要的成像模式是计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI)、正电子发射断层摄影 (PET) 成像、以及单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像。

[0012] CT- 成像是一种方法，其中物体的三维限定是从大量的由不同角度取得的二维 X- 射线图像获得。为了基于它们阻断 X- 射线束的能力而展示不同的身体结构，CT- 成像产生了一个能被操作的数据量。现代的扫描器允许这个数据量在不同的平面进行重建并且获得结构的体积的 (3D) 表现。今天在可用性、效率以及成本方面，CT- 成像处于医院里的最便利的成像 / 诊断工具中。

[0013] 通常，不同的成像模式被组合从而获得对于放射疗法中对目标体积的三维良好限定的测量。例如，CT- 成像通常由正电子发射断层摄影 (PET) 和 / 或磁共振 (MR) 成像来补充。该组合允许使来自两种或更多种不同的成像模式的信息有关联并且在叠加图像中被理解，导致关于目标体积的恶性细胞的信息更精确，并且由此准确诊断。

[0014] 规划、纹身以及图像引导的放射疗法

[0015] 放射疗法治疗的重要部分是放射剂量的规划。放射递送至所限定的恶性靶细胞的模式是使用高度定制的计算应用程序来确定，以进行优化和治疗模拟（治疗规划）。通过控制、或调节放射束强度来使放射剂量与肿瘤的 3-D 形状一致。在整个肿瘤体积附近提高放射剂量强度，同时降低或完全避免在邻近正常组织中的放射。该定制放射剂量旨在使肿瘤的剂量最大化而同时保护周围的正常组织。这可以导致更好的肿瘤靶向、减少的副作用、以及改善的治疗成果。

[0016] 总体而言，在规划时，用于治疗的预期区域是由放射肿瘤医师手动描画轮廓。一旦确定了治疗区域，即可以将标记放置在皮肤上。墨水标记的目的在于每日对准并定位患者用于治疗，从而改善场布局的可再现性。通过在放射疗法治疗室中将这些标记与放射场（或它的代表）对准，可以鉴别治疗场的正确布局。（道森 (Dawson) 和夏普 (Sharpe)2006)。

[0017] 随时间的推移，伴随技术中的改进 - 具有十字准线、等中心激光器的并且其中向‘纹身’（为一种程序，在该程序中，在文件表明的位置中使用针，通过将墨水仅应用于皮肤的第一层之下，用永久性标记来替换墨水标记）实践转变，改进了患者设置的可再现性。

[0018] 在另一个称为“在线策略”的策略或图像引导的放射疗法 (IGRT) 中，基于贯穿程序连续更新的信息，在治疗过程期间对患者和光束位置进行了调整。（道森 (Dawson) 和夏普 (Sharpe)2006) 该在线途径要求软件与硬件两者高水平的集成。这个策略的优点是减少系统和随机误差两者，这是因为平面或立体成像技术被采用以测量靶位置并且在治疗递送之前或期间即时校正靶位置误差。IGRT 允许放射递送至一个目标（例如肿瘤）的更准确控制，而减少暴露在健康组织或器官的周围或邻近处。

[0019] 用于成像的标志物

[0020] 新技术（例如 IGRT) 以及通常的放射疗法的成功使用高度取决于成像结果的质量以及用于成像的标志物的协助使用。今天，用于成像的标志物是在 IGRT 和诊断领域中的一个致命弱点 (Achilles heel)。

[0021] 一个实例是将基于标志物的 IGRT 程序用于前列腺癌的治疗中。将金的标志物植入前列腺内以提供该腺体的替代位置。在每天治疗之前，将摄野成像系统结果进行记录。如果质量中心已经移动了大于 3mm，则将躺椅进行再调整，并且造成随后的参考图像（贾弗雷 (Jaffray) 等人 1999)。这种策略的缺点是这些标志物必须是通过外科手术植入，并且那种植入对于多种癌症类型不易于执行。

[0022] 不幸的是，多种其他副作用还将严重的限制强加在成像上。例如，许多当前的造影

剂（包括用于X-射线或MR成像的碘或钆）的使用受到具有短成像时间、需要导管插入、偶尔有肾毒性以及在大量患者中对比度差的问题的影响（汉费尔德(Hainfeld)等人2006)。

[0023] 为了克服短成像时间的问题，WO2006/084382和郑(Zheng)等人(2006)描述了溶解在提供更长体内停留时间的脂质体中溶解的造影剂的配制品。这些造影剂是用于组合的CT与MR成像的、溶解的碘海醇以及钆特醇的配制品。然而，因为造影剂被溶解并且因而在脂质体内以相对低的浓度出现，当使用这类型的脂质体时CT图像质量是相对差的。

[0024] WO2007/129311进一步描述了脂质体，这些脂质体包括用于CT成像的、溶解的碘化造影剂的配制品，其中在脂质体内的造影剂相对于脂质质量的wt/wt比率可以低至20％。该方法依赖于在溶液中或嵌入脂质膜中的造影剂，并且当使用这类型的脂质体时CT图像质量因此是差的。

[0025] WO2004/017814提出了：使用基于碘、钙、或放射示踪物的纳米颗粒造影剂用于检测在组织中的炎症的用途。

[0026] 由于与碘相比的高对比度，金颗粒近来已经被提出作为新的X-射线造影剂。汉费尔德(Hainfeld)等人已经描述了一个研究，其中直径为1.9nm的金纳米颗粒与X-射线成像组合使用检测生成血管的以及富血管性的组织(汉费尔德(Hainfeld)等人2006)。然而，此类小的金颗粒与患者中纳米颗粒的快速清除以及低保留的问题相关联，导致差的对比度和低图像质量。

[0027] WO2007/129791描述了用作X-射线造影剂的、用聚乙二醇(PEG)包覆的金纳米颗粒。该申请描述了作为非毒性的、并且保持在血管中持续长的时间的纳米颗粒。在该申请中没有特别提到用于治疗的、其中健康组织被保存免于放射的方法。

[0028] Chithrani（西斯拉尼）等人研究了包含在脂质体中的金颗粒的细胞内摄取；然而，建议用作放射疗法增强剂(Chithrani（西斯拉尼）等人，2010)。

[0029] 目前在本领域中对用于图像引导放射疗法的改进的方法以及造影剂有一个强烈需求。

发明内容

[0030] 本发明涉及用于图像引导放射疗法的一种方法以及纳米级颗粒。更确切地，本发明涉及纳米级颗粒，这些纳米级颗粒包括处于固体形式的计算机断层摄影(CT)-成像造影剂，这允许通过组合的计算机断层摄影(CT)-成像与放射疗法的靶组织的更安全治疗。

[0031] 本发明提供了用于在个体中治疗一种与不希望的细胞的生长相关联的病症或疾病的一种方法，其中所述方法包括以下步骤：

[0032] a)提供纳米级颗粒，这些纳米级颗粒包括由基于X-射线的成像（例如计算机断层摄影(CT)-成像）可检测的化合物，

[0033] b)将这些纳米级颗粒给予所述个体，

[0034] c)记录这些不希望生长的细胞的X-射线图像（例如计算机断层摄影(CT)-图像），由此获得该靶组织的一个限定，该限定给出不希望生长的细胞的精确位置以及从正常组织的分离，

[0035] d)使用在c)中获得的靶组织的限定，以将外部光束放射疗法指引至这些不希望生长的细胞并且保存正常组织，

[0036] 其中所述化合物是处于固体形式，并且

[0037] 其中放射疗法治疗的图像记录被整合，并且顺序地或同时地进行。

[0038] 根据本发明的方法可以提供在三维或多维坐标数据组（例如三维或四维（例如四维坐标数据组其中第四维是时间））中的成像结果，所述数据组用于靶组织的精确限定。

[0039] 这些纳米级颗粒可以选自下组，例如该组由以下各项组成：脂质体、聚合物囊泡、树状聚合物、水溶性交联聚合物、水状胶体、胶束、包覆的金属颗粒、以及其中核心是一种固体盐的包覆颗粒。这个组的每个成员表示一个单独并特定的实施方案。

[0040] 另外，该可检测的化合物可以包括一种或多种选自下组的同位素，该组由以下各项组成：金 (Au)、碘 (I)、钆 (Gd)、铋 (Bi)、铁 (Fe)、钡 (Ba)、钙 (Ca)、镁 (Mg)。在一个实施方案中，该可检测的化合物是金 (Au) 或铋 (Bi)。在另一个实施方案中，该可检测的化合物是金 (Au)。

[0041] 在一个实施方案中，这些纳米级颗粒包括可检测的化合物，该可检测的化合物与纳米级颗粒的总重量（不计在颗粒内的水）相比，具有的重量百分比为：至少 10％、例如至少 20％、例如至少 30％、例如至少 40％、例如至少 50％、例如至少 60％、例如至少 70％、例如至少 80％、例如至少 90％、例如至少 95％、例如在 90％和 100％之间、例如在 95％和 99％之间。

[0042] 根据本发明的方法可以进一步包括一个成像步骤，其中基于 X- 射线的成像（例如计算机断层摄影 (CT)- 成像）与一种或多种来自下组的成像模式组合，该组由以下各项组成：磁共振成像 (MRI)、正电子发射断层摄影 (PET) 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像、核闪烁摄影成像、超声摄影成像、超声成像、近红外成像或荧光成像。

[0043] 根据本发明的方法可以进一步允许在给予之后的 3 天或更多天的时期期间（例如 3 天至 30 天、例如 30 天至 100 天、例或如 100 天至 200 天、或例如 200 天至 300 天、或例如 300 天至 400 天）进行计算机断层摄影 (CT)- 成像。

[0044] 在本发明的一个优选实施方案中，该方法允许在给予之后的 3 天至 120 天的时期期间进行计算机断层摄影 (CT)- 成像。

[0045] 本发明还提供了一种组合物，该组合物包括纳米级颗粒，这些纳米级颗粒包括由 X- 射线成像可检测的、用于在个体中的靶组织的图像引导放射疗法中用途的一种固体形式的化合物，该靶组织包括不希望生长的细胞。本发明还提供了用于对靶组织（包括不希望生长的细胞）的图像引导放射疗法的方法，其中该方法包括给予这种组合物。

[0046] 在该组合物或方法的一个实施方案中，该图像引导放射疗法包括以下步骤：a) 将所述组合物施给所述个体；b) 记录该靶组织的 X- 射线图像以获得该靶组织的限定；并且 c) 使用在 b) 中获得的靶组织的限定以将放射疗法指引至该靶组织。步骤 b) 和 c) 可以顺序地亦或同时地进行。

[0047] 在一个实施方案中，本发明提供了用于癌性疾病的图像引导治疗的方法以及纳米级颗粒。

[0048] 本发明的方法或组合物的任意实施方案中的纳米级颗粒可以具有以至少 1 小时为循环的半衰期，例如 2 至 4 小时，优选至少 4 至 6 小时，例如至少 6 小时、例如至少 8 小时、例如至少 10 小时、例如至少 12 小时、例如至少 14 小时、例如至少 24 小时、例如至少 36 小时、例如至少 48 小时、例如至少 72 小时、例如至少 120 小时。额外地或可替代地，半衰期可

以是在在1-72小时之间、在12-36小时之间、在1-24小时之间、在10-24小时之间、在5-15小时之间、在24-36小时之间、在24-72小时之间、在36-96小时之间、在48-96小时之间、在48-120小时之间、在72-120小时之间、或在72-168小时之间。

[0049] 额外地或可替代地，纳米级颗粒可以具有10至150nm大小，例如10至150nm的数均直径，例如10至50nm的数均直径，例如10至20nm的数均直径。

[0050] 示例性的纳米级颗粒是选自下组，该组由以下各项组成：脂质体、聚合物囊泡、树状聚合物、水溶性交联聚合物、水状胶体、胶束以及包覆的金属颗粒、或其中核心是一种固体盐的包覆颗粒。

[0051] 在一个具体的实施方案中，这些纳米级颗粒是脂质体。在任意前述实施方案中的另一个具体实施方案中，这些纳米级颗粒是固体，例如包覆颗粒，其中核心包括一种金属和/或一种固体盐。

[0052] 任意前述实施方案中的可检测的化合物可以是纳米级颗粒（任何水除外）的至少10重量百分比，例如至少20重量百分比、例如至少30重量百分比、例如至少50重量百分比、例如至少60％、例如至少70％、例如至少80％、例如至少90％、例如至少95％、例如在90％和100％之间、例如在95％和99％重量百分比之间。

[0053] 该可检测的化合物可以进一步处于一种固体金属或一种固体金属盐的形式，并且可以包括一种或多种选自下组的同位素，该组由以下各项组成：金(Au)、铋(Bi)、铁(Fe)、钡(Ba)、钙(Ca)、以及镁(Mg)。在一个实施方案中，该可检测的化合物是金(Au)或铋(Bi)。在另一个实施方案中，该可检测的化合物是金(Au)。

[0054] 在一个实施方案中，这些纳米级颗粒通过根据实例中描述的方法的方法是可获得的，例如根据至少一个实例I.a、I.b、I.c、I.d、I.e；II.a、II.b、II.c、II.d、II.e、II.f、II.g、II.h、II.i、以及III中的方法。

[0055] 在本发明的组合物或方法的任何实施方案中，该靶组织可以包括肿瘤细胞。

[0056] 在步骤a)中的组合物的给予可以允许步骤b)中的X-射线图像的记录在步骤a)后持续至少3天，例如在步骤a)后持续3天至120天范围内的时期，可任选地其中这些纳米级颗粒具有以至少8小时为循环的半衰期，例如至少10小时、例如至少12小时、例如至少24小时、如例至少36小时、例如至少120小时。

[0057] 此外，步骤b)可以提供三维或多维坐标数据组（例如三维或四维（例如四维坐标数据组其中第四维是时间）），所述数据组用于靶组织的限定和治疗引导。

[0058] 优选地，前述实施方案中的X-射线成像是计算机断层摄影(CT)成像。

[0059] 在一个具体实施方案中，该纳米级颗粒可以进一步包括用于一种或多种成像模式例如磁共振成像(MRI)、正电子发射断层摄影(PET)成像、单光子发射计算机控制断层摄影(SPECT)成像或核闪烁摄影成像的一种放射性的或顺磁性的化合物。在此类实施方案中，该图像引导的放射疗法可以进一步包括用选自下组的一种或多种适合的成像模式的成像步骤，这些适合的成像模式例如，磁共振成像(MRI)、正电子发射断层摄影(PET)成像、单光子发射计算机控制断层摄影(SPECT)成像、核闪烁摄影成像、超声扫描成像、超声成像、近红外成像和/或荧光成像。

[0060] 本发明进一步提供用于图像记录和/或外部光束放射疗法中的用途的纳米级颗粒，该纳米级颗粒包括：

[0061] (i) 一个壳或表面包衣，该壳或表面包衣包括一个脂质层，例如一个脂质单层和 / 或一个脂质双层，

[0062] (ii) 一个核心，该核心包括一种用于基于 X- 射线成像（例如计算机断层摄影 (CT)- 成像）的、选自以下各项的组的造影剂：金 (Au)、铋 (Bi)、钙 (Ca)、钡 (Ba)、以及铁 (Fe)，

[0063] 其中该造影剂是处于一种固体形式。

[0064] 在一个实施方案中，该造影剂是选自金 (Au) 以及铋 (Bi)。在另一个实施方案中，该造影剂是金 (Au)。

[0065] 本发明进一步提供了用于制备根据本发明的纳米级颗粒的方法。

[0066] 本发明的另外的一个目的是提供用于根据本发明的方法中的用途的系统，该系统包括一个用于获得靶组织的限定的集成计算机断层摄影 (CT)- 成像装置、一种集成的外部光束放射装置以及一种用于处理所述装置的数据的集成计算机，其中该系统能够基于由计算机断层摄影 (CT)- 成像装置获得的限定而指引外部光束放射疗法。

附图说明

[0067] 图 1 示出了示例性纳米级颗粒 CT 造影剂。这些纳米级颗粒造影剂可以例如处于结构 (A) 或 (B) 的形式。结构 (A) 是由内核 (1) 构成，该内核 (1) 包括一种由壳 (2)（该壳是由一种给予该颗粒循环特性的金属组成）包围的金属或固体盐造影剂，例如一种聚合物系统（例如 PEG 或脂质）- 作为层状结构（例如单层）亦或处于脂质体（可以进一步用 PEG 功能化）的形式。此外结构 (A) 的内核 (1) 可以是具有沉淀盐或更小纳米结构（例如金纳米颗粒）的水相、或者具有纳米结构的聚合物基质（例如金纳米颗粒）。结构 (B) 是由给予纳米级颗粒循环特性的基质 (3) 构成，该基质进一步包含充当 CT 造影剂的包入的盐或金属。此外结构 (A) 和 (B) 两者可以包括非共价亦或共价结合的药剂，这些药剂通过在本发明中所述的其他成像模式是可见的。

具体实施方式

[0068] 目前，存在对于在治疗之前或期间，协助放射目标体积的限定的高对比标志物的需求。本发明的一个目的是提供纳米颗粒、用于这些纳米颗粒的用途的方法以及用于集成的成像与放射疗法的系统，这允许对需要它们的个体的更安全、更少疼痛并且更便宜的成像与放射治疗。

[0069] 本发明的纳米级颗粒保持循环足够长以将造影标志物定位在目标恶性细胞上。这种标志物直接地定位在不希望生长的组织中，允许用于治疗的靶组织的精确限定。此外，根据本发明，该造影剂持续一个更长的时期是可检测的，这降低了多重剂量的要求以及毒性风险。

[0070] 纳米级颗粒

[0071] 本发明的纳米级颗粒，包括由计算机断层摄影 (CT)- 成像可检测的造影剂。

[0072] 另外，本发明的纳米级颗粒，可以包括由计算机断层摄影 (CT)- 成像以及一种或多种额外的成像模式可检测的造影剂。

[0073] 造影剂或可检测的化合物

[0074] 表述“可检测的化合物”与“造影剂”在此可互换使用。本发明的一个目的是提供纳米级颗粒，该纳米级颗粒包括处于固体形式的、用于 X- 射线和 CT- 成像的可检测的化合物或造影剂。此类可检测的化合物能够阻断或衰减 X- 射线放射并且包括如周期表所定义的过渡金属、稀土金属、碱金属、碱土金属、其他金属。此类可检测的化合物包括一种或多种选自以下各项的组的化合物：金 (Au)、钆 (Gd)、铋 (Bi)、铁 (Fe)、钡 (Ba)、钙 (Ca) 或镁 (Mg)，其中所述金属或碱金属可以表现为对于金属而言非氧化态或任何存在的氧化态。这些氧化态包括单价阳离子、二价阳离子、三价阳离子、四价阳离子、五价阳离子、六价阳离子以及七价阳离子。

[0075] 在本发明的一个优选实施方案中，该可检测的化合物包括一种或多种选自以下各项的组的化合物：金 (Au)、铋 (Bi)、钆 (Gd)、铁 (Fe)、钡 (Ba) 以及钙 (Ca)。

[0076] 在本发明的一个甚至更优选的实施方案中，该可检测的化合物包括一种或多种选自以下各项的组的化合物：金 (Au) 和铋 (Bi)。

[0077] 用于根据本发明的 X- 射线以及 CT- 成像的造影剂被包含在纳米级颗粒之内，并且可以是非共价地或共价地与该颗粒的壳相关联。

[0078] 本发明的一个目的是提供纳米级颗粒，该纳米级颗粒包括处于固体形式（例如固体金属形式，固体盐形式，固体碱金属形式，聚合的、结晶的或沉淀的形式）的可检测的化合物。

[0079] 优选地，该可检测的化合物是固体金属形式、固体盐形式或固体碱金属形式。

[0080] 根据本发明包含在纳米级颗粒之内的造影剂的量可以通过造影剂相对于纳米级颗粒总重量（由纳米级颗粒包含的任何水除外）的重量百分比、通过定义造影剂相对于纳米级颗粒的壳重量的重量百分比、或通过将在所制备纳米级颗粒之内的造影剂的大小进行量化来定量。

[0081] 在本发明的一个优选实施方案中，该可检测的化合物与纳米级颗粒的总重量（水除外）相比较，具有的重量百分比为至少 10％，例如至少 20％、例如至少 30％、例如至少 40％、例如至少 50％、例如至少 60％、例如至少 70％、例如至少 80％、例如至少 90％、例如至少 95％、例如至少 99％、例如在 90％至 100％之间、例如在 95％至 99％之间的相对于纳米级颗粒的总重量（排除任何水）的重量百分比。

[0082] 在本发明的另一个优选实施方案中，该可检测的化合物与纳米级颗粒中包含的脂质的总重量相比较，具有的重量百分比为至少 10％，例如至少 10％、例如至少 20％、例如至少 30％、例如至少 40％、例如至少 50％、例如至少 60％、例如至少 70％、例如至少 80％、例如至少 90％、例如至少 95％、例如至少 99％、例如在 90％至 100％之间、例如在 95％至 99％之间的相对于纳米级颗粒包含的脂质的总重量的重量百分比。

[0083] 纳米级颗粒或包含在纳米级颗粒之内的造影剂的大小可以用本领域中的常规方法测量，例如低温透射电子显微镜或动态光散射。

[0084] 包含在本发明的纳米级颗粒内的造影剂可以是处于纳米级的固体形式。在本发明的一个实施方案中，此类纳米级固体形式具有在 2 至 148nm 范围内的数均直径，例如 2 至 5nm、例如 5 至 80nm、例如 5 至 50nm、例如 5 至 20nm、例如 5 至 15nm、例如 5 至 10nm 的直径、或例如 10 至 15nm、或例如 15 至 20nm、或例如 20 至 30nm、或例如 30 至 40nm、或例如 40 至 50nm、或例如 50 至 60nm、或例如 60 至 70nm、或例如 70 至 80nm、或例如 80 至 90nm、或例如

90 至 100nm、或例如 100 至 110nm、或例如 110 至 120nm、或例如 120 至 130nm、或例如 130 至 140nm、或如 140 至 150nm。

[0085] 根据本发明的纳米级颗粒可以包括由若干不同的成像模式可检测的一种或多种化合物。此类化合物包括用于通过使用计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI)、正电子发射断层摄影 (PET) 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT)、核闪烁摄影成像、近红外荧光成像、超声扫描或荧光成像来检测的化合物。

[0086] 在本发明的一个实施方案中，这些纳米级颗粒进一步包括用于一种或多种成像模式例如磁共振成像 (MRI)、正电子发射断层摄影 (PET) 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像或核闪烁摄影成像的一种或多种放射性的、顺磁性的或铁磁性的化合物。所述化合物可以包括以下同位素：铜 (^{61}Cu、^{64}Cu、以及 ^{67}Cu)、铟 (^{m}In)、锝 (^{99m}Tc)、铼 (^{186}Re、^{188}Re)、镓 (^{67}Ga、^{68}Ga)、锶 (^{89}Sr)、钐 (^{153}Sm)、镱 (^{169}Yb)、铊 (^{201}TI)、砹 (^{211}At)、镥 (^{177}Lu)、锕 (^{225}Ac)、钇 (^{90}Y)、锑 (^{119}Sb)、锡 (^{117}Sn、^{113}Sn)、镝 (^{159}Dy)、钴 (^{56}Co)、铁 (^{59}Fe)、钌 (^{97}Ru、^{103}Ru)、钯 (^{103}Pd)、镉 (^{115}Cd)、碲 (^{118}Te、^{123}Te)、钡 (^{131}Ba、^{140}Ba)、钆 (^{149}Gd、^{151}Gd)、铽 (^{160}Tb)、金 (^{198}Au、^{199}Au)、镧 (^{140}La)、以及镭 (^{223}Ra、^{224}Ra)，其中金属放射性核素的所述同位素可以表现为对该金属而言任何存在的氧化态。这些氧化态包括单价阳离子、二价阳离子、三价阳离子、四价阳离子、五价阳离子、六价阳离子以及七价阳离子。

[0087] 所述顺磁性或铁磁性化合物还可以选自以下各项的组：钪 (Sc)、钇 (Y)、镧 (La)、钛 (Ti)、锆 (Zr)、铪 (Hf)、钒 (V)、铌 (Nb)、钽 (Ta)；铬 (Cr)、钼 (Mo)、钨 (W)、锰 (Mn)、锝 (Tc)、铼 (Re)、铁 (Fe)、钌 (Ru)、锇 (Os)、钴 (Co)、铑 (Rh)、铱 (Ir)、镍 (Ni)、钯 (Pd)、铂 (Pt)、铜 (Cu)、银 (Ag)、金 (Au)、锌 (Zn)、镉 (Cd)、汞 (Hg)、镧系元素 (例如镧 (La)、铈 (Ce)、镨 (Pr)、钕 (Nd)、钷 (Pm)、钐 (Sm)、铕 (Eu)、钆 (Gd)、铽 (Tb)、镝 (Dy)、钬 (Ho)、铒 (Er)、铥 (Tm)、镱 (Yb)、镥 (Lu)) 以及锕系元素 (例如锕 (Ac)、钍 (Th)、镤 (Pa)、铀 (U)、镎 (Np)、钚 (Pu)、镅 (Am)、锔 (Cm)、锫 (Bk)、锎 (Cf)、锿 (Es)、镄 (Fm)、钔 (Md)、锘 (No) 以及铹 (Lr))，其中所述顺磁性或铁磁性化合物可以表现为对该金属而言任何存在的氧化态。这些氧化态包括单价阳离子、二价阳离子、三价阳离子、四价阳离子、五价阳离子、六价阳离子以及七价阳离子。

[0088] 所述一种或多种放射性、顺磁性或铁磁性的化合物可以共价连接至纳米级颗粒上或非共价地与纳米级颗粒相关联。

[0089] 在本发明的一个实施方案中，这些纳米级颗粒进一步包括一种或多种荧光团化合物而用于近红外荧光成像。所述化合物可以包括 Alexa Fluor680、Alexa Fluor700、Alexa Fluor750、Cy7、Cy5.5、IRDye800CW、IRDye680LT、Qdot800nanocrystal、Qdot705 纳米晶体或四氮杂卟啉化合物。

[0090] 纳米级颗粒的另外组分

[0091] 根据本发明的纳米级颗粒包括脂质体、聚合物囊泡、树状聚合物、水溶性交联聚合物、水凝胶、胶束以及包覆的金属颗粒或包覆的固体盐。

[0092] 因此，根据用于治疗的本方法，这些纳米级颗粒可以由多种组分组成。此类纳米级颗粒在本领域中可以是或可以不是已知的。对于用于该治疗方法有用的纳米级颗粒类型的实例是例如：如在 WO2007129791 和金姆 (Kim) 等人 2007 中描述的、用 PEG 包衣或 PEG 化的金纳米棒合成的金的纳米级颗粒，如在拉宾 (Rabin)2006 中描述的聚合物包覆的硫化铋

纳米级颗粒，如在朱 (Chu) 等人 2006 中描述的磷酸钙脂质体核 - 壳纳米复合物，如在哈巴 (Haba) 等人 2007 和小岛 (Kojima) 等人 2010 中描述的用于 CT 成像的、具有包入的金纳米级颗粒的 PAMAM 的树状聚合物以及在本领域中已知的包括 CT 造影剂的其他纳米级颗粒。

[0093] 本发明的纳米级颗粒保持足够长的循环以将造影标志物定位至靶组织，意为：在一个人中，大于 0.001％的给予剂量到达靶组织，例如大于 0.01％、0.05％、0.1％、0.3％、0.5％、1％、1.5％、2％、3％、5％、或 10％。这种标志物直接地定位在不希望生长的组织中，允许用于治疗的靶组织的精确限定。此外，根据本发明，该造影剂持续一个更长的时期是可检测的，这降低了多重剂量的要求以及毒性风险。

[0094] 纳米级颗粒制品的循环特性还可以表述为在人中或在动物（例如大鼠、小鼠、狗、兔、猴或猪）中的半衰期 (T1/2)（优选在人中确定的），该半衰期是循环的纳米级颗粒的一半要从血浆除去所必需的时间量。这个值可以计算为‘真’值（将分配效应考虑进去）以及‘明显的’消除半衰期。在此引用的半衰期是‘真’值。

[0095] 半衰期可以是至少 1 小时，例如至少 2 至 4 小时，优选至少 4 至 6 小时，例如至少 6 小时、例如至少 8 小时、例如至少 10 小时、例如至少 12 小时、例如至少 14 小时、例如至少 24 小时、例如至少 48 小时并且例如至少 72 小时。额外地或可替代地，半衰期可以是在在 1-72 小时之间、在 12-36 小时之间、在 1-24 小时之间、在 10-24 小时之间、在 5-15 小时之间、在 24-36 小时之间、在 24-72 小时之间、在 36-96 小时之间、在 48-96 小时之间、在 48-120 小时之间、在 72-120 小时之间、或在 72-168 小时之间。

[0096] 本发明进一步涉及用于图像记录用途的、其他类型的纳米级颗粒，该纳米级颗粒包括：

[0097] (i) 一个壳或表面包衣，该壳或表面包衣包括一个脂质层，例如一个脂质单层和 / 或一个或多个脂质双层，

[0098] (ii) 一个核心，该核心包括一种用于计算机断层摄影 (CT)- 成像的、选自以下各项的组的造影剂：金 (Au)、铋 (Bi)、钙 (Ca)、钡 (Ba)、以及铁 (Fe)，

[0099] 其中所述造影剂是处于固体形式并且选自在此提及的可检测的化合物的组。

[0100] 根据本发明，脂质体、一个脂质单层或一个或多个脂质双层可以充当在根据本发明的纳米级颗粒上的壳或表面包衣。

[0101] 脂质体通常表征为纳米级囊泡，该纳米级囊泡包含一个内部核心，该内部核心通过一个或多个双层的膜从外部环境分开。双层膜或囊泡可以由两亲性分子（例如包括疏水区和亲水区的合成的或天然的脂质）形成。双层膜还可以由两亲性聚合物构成的颗粒（例如聚合物囊泡）形成。

[0102] 脂质体可以充当一种实体的载体，该实体例如但不局限于能够具有有用的特性或提供有用活性的化学化合物、金属、盐、或放射性核素。为了这个目的，脂质体被制备成包含按一种脂质体结合的形式存在的希望的实体。脂质体结合的实体可以与脂质体膜的外部表面相关联，位于脂质体的内部核心中或在脂质体的双层内。用于金属结合入脂质体的方法是例如在脂质体制备后进行表面标记，将标记物结合入预成型脂质体的脂质双层，通过在制备期间结合脂质螯合剂的结合物而对预成型脂质体进行表面标记，并且对预成型脂质体进行水相加载，结合一种与金属形成沉淀的盐。实体通过水相结合入脂质体还称为“包封 (encapsulating)”或“包入 (entrapping)”实体。

[0103] 理想地，此类脂质体组合物可以被制备成包括希望的实体，例如一种化学化合物、一种金属或放射性核素，(i) 具有高的载入效率，即相对于用于包封过程中的实体的总量而言高百分比的包封实体，以及 (ii) 以一种稳定的形式，即，在储存时或通常在脂质体到达脂质体包入的实体所希望应用其预期活性的部位或环境之前，具有最小释放（即泄露）。

[0104] 理想地，纳米级颗粒的单层表面包衣是通过脂质（这些脂质具有在包覆材料与颗粒表面之间的高亲和相互作用，例如疏水相互作用）或者通过共价结合（例如通过使用脂质硫醇）实现。该单层包衣可以按以下步骤实现，例如结合硫醇脂质之后用脂质（例如磷脂）来包覆单层。

[0105] 理想地，纳米级颗粒的双层表面包衣或多重双层表面包衣是通过在包覆材料与颗粒表面之间的高亲和相互作用（例如疏水相互作用、静电相互作用）或者由于熵来源的疏水效应来实现。

[0106] 囊泡形成组分是一种包括亲水部分和疏水部分的、合成或天然存在的两亲化合物。出于本发明的目的，囊泡形成组分可以用作表面包覆脂质，并且包括例如脂肪酸、中性脂肪、磷脂、糖脂、神经酰胺、鞘脂、脂肪醇、以及类固醇。

[0107] 在本发明或本发明的方法中有用的适合的囊泡形成脂质或表面包覆脂质的实例包括但不局限于：磷脂酰胆碱，例如 1,2- 二油酰基 - 磷脂酰胆碱、1,2- 二棕榈酰基 - 磷脂酰胆碱、1,2- 二肉豆蔻酰基 - 磷脂酰胆碱、1,2- 二硬脂酰基 - 磷脂酰胆碱、1- 油酰基 -2- 棕榈酰基 - 磷脂酰胆碱、1- 油酰基 -2- 硬脂酰基 - 磷脂酰胆碱、1- 棕榈酰基 -2- 油酰基 - 磷脂酰胆碱以及 1- 硬脂酰基 -2- 油酰基 - 磷脂酰胆碱；

[0108] 磷脂酰乙醇胺，例如 1,2- 二油酰基 - 磷脂酰乙醇胺、1,2- 二棕榈酰基 - 磷脂酰乙醇胺、1,2- 二肉豆蔻酰基 - 磷脂酰乙醇胺、1,2- 二硬脂酰基 - 磷脂酰乙醇胺、1- 油酰基 -2- 棕榈酰基 - 磷脂酰乙醇胺、1- 油酰基 -2- 硬脂酰基 - 磷脂酰乙醇胺、1- 棕榈酰基 -2- 油酰基 - 磷脂酰乙醇胺、1- 硬脂酰基 -2- 油酰基 - 磷脂酰乙醇胺以及 N- 琥珀酰基 - 二油酰基 - 磷脂酰乙醇胺；磷脂酰丝氨酸，例如 1,2- 二油酰基 - 磷脂酰丝氨酸、1,2- 二棕榈酰基 - 磷脂酰丝氨酸、1,2- 二肉豆蔻酰基 - 磷脂酰丝氨酸、1,2- 二硬脂酰基 - 磷脂酰丝氨酸、1- 油酰基 -2- 棕榈酰基 - 磷脂酰丝氨酸、1- 油酰基 -2- 硬脂酰基 - 磷脂酰丝氨酸、1- 棕榈酰基 -2- 油酰基 - 磷脂酰丝氨酸以及 1- 硬脂酰基 -2- 油酰基 - 磷脂酰丝氨酸；磷脂酰甘油，例如 1,2- 二油酰基 - 磷脂酰甘油、1,2- 二棕榈酰基 - 磷脂酰甘油、1,2- 二肉豆蔻酰基 - 磷脂酰甘油、1,2- 二硬脂酰基 - 磷脂酰甘油、1- 油酰基 -2- 棕榈酰基 - 磷脂酰甘油、1- 油酰基 -2- 硬脂酰基 - 磷脂酰甘油、1- 棕榈酰基 -2- 油酰基 - 磷脂酰甘油以及 1- 硬脂酰基 -2- 油酰基 - 磷脂酰甘油；聚乙二醇化脂质；聚乙二醇化磷脂，例如磷脂酰乙醇胺 -N-[甲氧基（聚乙二醇）-1000]、磷脂酰乙醇胺 -N-[甲氧基（聚乙二醇）-2000]、磷脂酰乙醇胺 -N-[甲氧基（聚乙二醇）-3000]、磷脂酰乙醇胺 -N-[甲氧基（聚乙二醇）-5000]；聚乙二醇化神经酰胺，例如 N- 辛酰基 - 鞘氨醇 -1-{ 琥珀酰基 [甲氧基（聚乙二醇）1000]}、N- 辛酰基 - 鞘氨醇 -1-{ 琥珀酰基 [甲氧基（聚乙二醇）2000]}、N- 辛酰基 - 鞘氨醇 -1-{ 琥珀酰基 [甲氧基（聚乙二醇）3000]}、N- 辛酰基 - 鞘氨醇 -1-{ 琥珀酰基 [甲氧基（聚乙二醇）5000]}；溶血 - 磷脂酰胆碱、溶血 - 磷脂酰乙醇胺、溶血 - 磷脂酰甘油、溶血 - 磷脂酰丝氨酸、神经酰胺；鞘酯；糖脂，例如神经节苷脂 GMI；糖脂；硫苷脂；磷脂酸，例如二 - 棕榈酰基 - 甘油磷脂酸；棕榈酸脂肪酸；硬脂脂肪酸；花生四烯脂肪酸；月桂脂肪酸；肉豆蔻脂

肪酸；月桂脂肪酸；抹香鲸脂肪酸；肉豆蔻脂肪酸；棕榈酸脂肪酸；岩芹脂肪酸；油酸脂肪酸；异月桂脂肪酸；异肉豆蔻脂肪酸；异硬脂脂肪酸；固醇以及固醇衍生物，例如胆固醇、半琥珀酸胆甾醇酯、硫酸胆甾醇酯、以及 (4- 三甲基季胺基)- 丁酸胆甾醇酯、麦角甾醇、羊毛甾醇；聚氧乙烯脂肪酸酯以及聚氧乙烯脂肪酸醇类；聚氧乙烯脂肪酸醇醚；聚氧乙烯脱水山梨醇脂肪酸酯类、聚乙二醇氧基 - 硬脂酸甘油酯；聚乙二醇蓖麻油酸甘油酯；乙氧基化大豆甾醇类；乙氧基化蓖麻油；聚氧乙烯聚氧丙烯脂肪酸聚合物；聚氧乙烯脂肪酸硬脂酸酯；二 - 油酰基 -sn- 甘油；二棕榈酰基 - 琥珀酰基甘油；1,3- 二棕榈酰基 -2- 琥珀酰基甘油；1- 烷基 -2- 酰基 - 磷脂酰胆碱，例如 1- 十六烷基 -2- 棕榈酰基 - 磷脂酰胆碱；1- 烷基 -2- 酰基 - 磷脂酰乙醇胺，例如 1- 十六烷基 -2- 棕榈酰基 - 磷脂酰乙醇胺；1- 烷基 -2- 酰基 - 磷脂酰丝氨酸，例如 1- 十六烷基 -2- 棕榈酰基 - 磷脂酰丝氨酸；1- 烷基 -2- 酰基 - 磷脂酰甘油，例如 1- 十六烷基 -2- 棕榈酰基 - 磷脂酰甘油；1- 烷基 -2- 烷基 - 磷脂酰胆碱，例如 1- 十六烷基 -2- 十六基 - 磷脂酰胆碱；1- 烷基 -2- 烷基 - 磷脂酰乙醇胺，例如 1- 十六烷基 -2- 十六烷基 - 磷脂酰 - 乙醇胺；1- 烷基 -2- 烷基 - 磷脂酰丝氨酸，例如 1- 十六烷基 -2- 十六烷基 - 磷脂酰丝氨酸；1- 烷基 -2- 烷基 - 磷脂酰甘油，例如 1- 十六烷基 -2- 十六基 - 磷脂酰甘油；N- 琥珀酰基 - 二十八烷基胺；棕榈酰基高半胱氨酸；月桂基三甲基 - 溴化铵；十六烷基三甲基 - 溴化铵；十四烷基三甲基溴化铵；N-[1,2,3- 二油酰基氧基)- 丙基]-N,N,N 三甲基氯化铵 (DOTMA)；1,2- 二油酰基氧基 -3(三甲基 - 铵) 丙烷 (DOTAP)；以及 1,2- 二油酰基 -c-(4′ - 三甲基 - 铵)- 丁酰基 -sn- 甘油 (DOTB)；己基硫醇 (hecyl thiol)；辛基硫醇；癸基硫醇；十二烷基硫醇；十四烷基硫醇；十六烷基硫醇；以及十八烷基硫醇。

[0109] 在本发明的另一个实施方案中，纳米级颗粒的壳包括选自下组的两亲化合物，该组由以下各项组成：摩尔比为 55 ： 40 ： 5 的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸胆碱 (DSPC)、胆固醇、以及 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸乙醇胺 -N-[甲氧基 (聚乙二醇)-2000](DSPE-PEG-2000)。

[0110] 在本发明的另一个实施方案中，纳米级颗粒的壳包括选自下组的两亲化合物，该组由以下各项组成：摩尔比为 A ： B ： C 的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸胆碱 (DSPC)“A”、胆固醇“B”、以及 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸乙醇胺 -N-[甲氧基 (聚乙二醇)-2000](DSPE-PEG-2000) “C”，其中 A 选自 45 至 65 间隔，B 选自 35 至 45 间隔，并且 C 选自 2 至 12 间隔，并且其中 A+B+C ＝ 100。

[0111] 在本发明的一个优选实施方案中，纳米级颗粒的壳包括：摩尔比为 50 ： 40 ： 10 的 DSPC(1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸胆碱)、CHOL(胆固醇)、DSPE-PEG-2000(1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸乙醇胺 -N-[甲氧基 (聚乙二醇)-2000])。

[0112] 在本发明的另一个实施方案中，纳米级颗粒的壳包括选自下组的两亲化合物，该组由以下各项组成：具有摩尔比为 A ： B ： C ： D 的 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸胆碱 (DSPC) “A”、胆固醇“B”、以及 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸乙醇胺 -N-[甲氧基 (聚乙二醇)-2000](DSPE-PEG-2000) “C”，以及 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸乙醇胺 -N-[甲氧基 (聚乙二醇)-2000]-TATE(DSPE-PEG-2000-RGD) “D”，其中 A 选自 45 至 65 间隔，B 选自 35 至 45 间隔，C 选自 5 至 13 间隔，D 选自 0 至 3 间隔，并且其中 A+B+C+D ＝ 100。

[0113] 在本发明的另一个实施方案中，纳米级颗粒的壳包括：摩尔比为 50 ： 40 ： 9 ： 1

的 DSPC(1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸胆碱)、CHOL(胆固醇)、DSPE-PEG-2000(1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸乙醇胺 -N-[甲氧基 (聚乙二醇)-2000]) 以及 1,2- 二硬脂酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸乙醇胺 -N-[甲氧基 (聚乙二醇)-2000]-TATE(DSPE-PEG-2000-RGD)。

[0114] 本发明的纳米级颗粒可以包括一种亲水聚合物,例如一种结合的聚乙二醇 (PEG) 组分或其一种衍生物、或者一种多糖。

[0115] 在一个实施方案中,纳米级颗粒的至少一种组分使蛋白或其他受体亲和分子能够结合至用聚合物衍生化的、囊泡形成组分。

[0116] 在另一个实施方案中,聚合物 (例如 PEG、低聚糖 (例如 GM1 和 GM3)、或者其他亲水聚合物) 与本发明组合物的纳米颗粒的结合允许在血流内的延长的循环时间。包括在其表面上的结合的 PEG 链的纳米级颗粒能够渗出泄漏的血管。

[0117] 在本发明的另一个实施方案中,聚合物表面包衣是通过在聚合物包衣与纳米级颗粒表面之间的高亲和相互作用 (例如疏水相互作用、静电相互作用) 或由于熵来源的疏水效应来非共价地附接至纳米级颗粒表面。这种包衣是基于单层聚合物或多重聚合物层,可以使用叠层 (layer-by-layer) 技术安装。聚合物可以是单个聚合物或嵌段共聚物,例如一种两嵌段共聚物或三嵌段共聚物或它们的混合物。聚合物嵌段之一将典型地选自聚乙二醇 (PEG)(典型地具有从 2000-70000 道尔顿的 PEG 分子量)、或者葡聚糖 (典型地具有在 2000 道尔顿和 1000000 道尔顿之间的分子量) 或者透明质酸 (典型地具有 2000 道尔顿和 1000000 道尔顿之间的分子量)。这些聚合物以使整个聚合物结构带负电的这样一种方式典型地组合为嵌段共聚物,允许与带正电的纳米级颗粒表面发生静电相互作用以实现高效包覆。

[0118] 在本发明的一个优选实施方案中,纳米级颗粒包括一种 PEG 的结合物,例如结合的 PEG1000、PEG2000、PEG3000、PEG5000 或 PEG10000,即分别具有约 1000、2000、3000、5000 和 10000 道尔顿平均分子量的 PEG 制品。

[0119] 形状和尺寸

[0120] 根据本发明的纳米级颗粒可以是准球形的、球形的或非球形的 (例如杆状)。

[0121] 本发明的纳米级颗粒具有一个尺寸,该尺寸允许在血管生成区域、不希望细胞生长的区域或炎症部位中颗粒的优化循环以及积累。该尺寸可以根据本发明,使用在本领域中已知的常规方法 (例如像低温透射电子显微镜或动态光散射),在直径、长度或宽度方面来测量。

[0122] 因而,根据本发明的纳米级颗粒具有以下尺寸 :2 至 500nm、例如 2 至 10nm、或例如 10 至 100nm、例如 10 至 80nm、例如 10 至 50nm、例如 10 至 20nm、例如 10 至 15nm、或例如 15 至 20nm、或例如 20 至 50nm、或例如 50 至 80nm、或例如 80 至 110nm、或例如 110 至 140nm、或例如 140 至 170nm、或例如 170 至 200nm 或例如 200 至 220nm、或例如 220 至 250nm、或例如 250 至 280nm、或例如 280 至 310nm、或例如 310 至 340nm、或例如 340 至 370nm、或例如 370 至 400nm、或例如 400 至 420nm、或例如 420 至 450nm、或例如 450 至 480nm、或例如 480 至 500nm。该尺寸可以根据本发明在直径、长度或宽度方面来测量,包括数均直径、长度或宽度。

[0123] 在一个优选实施方案中,在本发明的组合物中的纳米级颗粒具有一个数均直径,

该数均直径是在以下项的范围内：10nm至150nm、例如10至100nm、例如10至80nm、例如10至50nm、例如10nm至30nm、例如10至20nm、或例如30nm至40nm、或例如40nm至50nm、或例如50nm至60nm、或例如60nm至70nm、或例如70nm至80nm、或例如90nm至100nm、或例如100nm至110nm、或例如110nm至120nm、或例如120nm至130nm、或例如130nm至140nm、或例如140nm至150nm。

[0124] 包含在本发明的纳米大小颗粒内的造影剂可以是处于纳米级的固体形式。在本发明的一个实施方案中，此类纳米级固体形式具有在2至148nm的直径的数均直径，例如2至5nm、例如5至10nm、例如5至80nm、例如5至50nm、例如5至20nm、例如5至15nm、例如10至15nm、例如15至20nm、或例如20至30nm、或例如30至40nm、或例如40至50nm、或例如50至60nm、或例如60至70nm、或例如70至80nm、或例如80至90nm、或例如90至100nm、或例如100至110nm、或例如110至120nm、或例如120至130nm、或例如130至140nm、或例如140至150nm。

[0125] pH

[0126] 为了稳固最佳作用，根据本发明的纳米级颗粒的内部pH可以在颗粒合成期间或在合成之后来控制。在本发明的一个实施方案或本发明的方法中，纳米级颗粒的内部pH受控制，因而实现希望的质子化态。因此，根据本发明，纳米级颗粒的内部pH是在以下项的范围之内：1至10，如1-2，例如2-3，如3-4，例如4-5，如5-6，例如6-7，例如7-8，例如8-9，例如9-10。

[0127] 成像

[0128] 本发明的一个目的是提供用于导致靶组织精确限定的靶组织成像的纳米颗粒和方法。

[0129] 根据本发明，可以在三维或多维坐标数据组（例如三维或四维（例如像四维坐标数据组，其中第四维是时间））中描述靶组织的限定。

[0130] 本发明的方法和纳米级颗粒允许通过允许高质量成像结果而使靶组织从健康组织分离，这导致对与健康组织相比，靶组织或不希望生长的细胞进行更精确的限定。

[0131] 根据本发明的纳米级颗粒可以用于多种不同的成像模式。此类成像模式包括计算机断层摄影(CT)-成像、磁共振成像(MRI)、正电子发射断层摄影(PET)成像、单光子发射计算机控制断层摄影(SPECT)成像或者核闪烁摄影成像、光声成像、超声扫描摄影成像、近红外荧光成像、荧光成像或光学相干断层摄影术。

[0132] 优选地，本发明的纳米级颗粒用于计算机断层摄影(CT)-成像。

[0133] 在一个更优选的实施方案中，本发明的纳米级颗粒用于集成的、顺序的或同时的X-射线-成像与放射疗法，例如整合的、顺序的或同时的计算机断层摄影(CT)与放射疗法。

[0134] 在一个实施方案中，X-射线成像与放射疗法是通过使用来自相同放射来源的X-射线或γ放射来同时实现。因此用于放射疗法的X-射线或基于γ的放射还可以用于生成X-射线图像。

[0135] 在本发明的另一个实施方案中，这些纳米级颗粒是用于集成的、顺序的或同时的磁共振成像(MRI)与放射疗法、正电子发射断层摄影(PET)成像与放射疗法、或单光子发射计算机控制断层摄影(SPECT)与放射疗法，并且因此包括用于在此描述的所述类型的成像的、可检测的化合物。

[0136] 不同类型的成像模式的组合还可以与本发明的纳米级颗粒一起使用。本发明的纳米级颗粒可以与两种成像模式组合使用，这两种成像模式例如计算机断层摄影 (CT)- 成像与磁共振成像 (MRI)、计算机断层摄影 (CT)- 成像与正电子发射断层摄影 (PET) 成像、计算机断层摄影 (CT)- 成像与单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像、计算机断层摄影 (CT)- 成像与核闪烁摄影成像、计算机断层摄影 (CT)- 成像与光声成像、计算机断层摄影 (CT)- 成像与近红外荧光成像、计算机断层摄影 (CT)- 成像与超声扫描成像 (ultrasonography imaging)、计算机断层摄影 (CT)- 成像与荧光成像、或例如断层摄影 (CT)- 成像与光学相干断层摄影术。

[0137] 本发明的纳米级颗粒还可以与三种成像模式组合使用，这三种成像模式例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI) 以及正电子发射断层摄影 (PET) 成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI) 以及单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI) 以及核闪烁摄影成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI) 以及光声成像，或例如 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI) 以及近红外荧光成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI) 以及荧光成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI) 以及超声扫描成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、磁共振成像 (MRI) 以及光学相干断层摄影术，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、正电子发射断层摄影 (PET) 成像以及单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、正电子发射断层摄影 (PET) 成像以及核闪烁摄影成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、正电子发射断层摄影 (PET) 成像以及光声成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、正电子发射断层摄影 (PET) 成像以及近红外荧光成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、正电子发射断层摄影 (PET) 成像以及荧光成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、正电子发射断层摄影 (PET) 成像以及超声扫描成像，计算机断层摄影 (CT)- 成像、正电子发射断层摄影 (PET) 成像以及光学相干断层摄影术，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像以及核闪烁成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像以及光声成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像以及近红外荧光成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像以及荧光成像，计算机断层摄影 (CT)- 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像以及超声扫描成像，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像、单光子发射计算机控制断层摄影 (SPECT) 成像以及光学相干断层摄影术，或例如计算机断层摄影 (CT)- 成像，

[0138] 本发明的纳米级颗粒还可以与一种或多种以上所述的成像模式（例如以上所述的所有成像模式）组合使用。

[0139] 应理解，规划的步骤可以是用于根据本发明的治疗方法的一部分。这种规划的步骤允许模拟放射治疗，记录 (recoding) 图像（用于使用一种或多种上述成像模式得到靶组织的清晰限定）以及在放射治疗之前装置的调整，靶组织的 3-D 形状的控制的、或调节的、放射光束强度的优化。在这样一种规划步骤中，放射剂量强度可以进一步被优化成在整个肿瘤体积附近提高，同时降低或完全避免在邻近正常组织中的放射。

[0140] 放射疗法治疗

[0141] 术语“放射疗法”(““radiotherapy”)、“放射疗法”(“radiation therapy”)、“放射疗法治疗”(“radiotherapeutic treatment”)以及“放射治疗”(“radiation treatment”)在此可互换地使用，并且指的是其中使用离子化放射（包括基于 x- 射线、γ、质子、或离子的放射）以控制或杀死不希望生长的细胞的疗法。根据本发明的放射疗法治疗可以通过使用若干放射疗法的技术来递送。可以从一种生成放射光束的来源（例如线性加速器、环形加速器（例如同步加速器或回旋加速器）和 / 或另一本领域中那些技术人员已知的粒子加速器或放射来源）提供该放射。此类技术进一步包括通常的外部光束放射疗法以及外部光束放射疗法的特定技术，例如常规的外部光束放射疗法 (2DXRT) 以及立体定向放射疗法。此类技术进一步包括选自下组的图像引导放射疗法 (IGRT)，该组由以下各项组成 :三维适形放射疗法 (3DCRT)、四维 (4D) 适形放射疗法 (CRT) 以及调强放射疗法 (IMRT)。

[0142] 需要的放射剂量、份数 (fractions) 的数目、递送的放射的形状、以及放射疗法的频率是根据本发明，由本领域中常规的方法确定。

[0143] 在放射治疗的当前标准中，围绕靶组织添加安全裕度，以尽可能确保杀死癌细胞同时合理地保存健康细胞。根据当前标准的安全裕度典型地小于 20mm，例如约 15mm 或更小，约 10mm 或更小，或者约 5mm 或更小。裕度考虑到了所有的不确定性，例如但不局限于，图像、器官的移动、在划界中的手动错误、经验以及实践。本发明的一个目的是尽可能多地减小裕度，以便保存正常组织同时确保杀死所有癌细胞。

[0144] 本发明的一个目的是提供允许更精确限定的靶组织区域的方法以及纳米级颗粒，其中为了保存健康组织，健康组织的裕度被减小。在本发明的一个实施方案中，该裕度可以相对于当前标准减小至少 0.25mm，例如至少 0.50mm、例如至少 1mm、例如至少 2mm、例如至少 3mm、例如至少 4mm、例如至少 5mm、例如至少 8mm、例如至少 10mm、例如 20mm 或更多。在另一个实施方案中，该裕度被减小至小于 20mm，例如小于 10mm、例如小于 8mm、例如小于 5mm、例如小于 4mm、例如小于 3mm、例如小于 2mm、例如小于 1mm、例如小于 0.50mm、例如小于 0.25mm。

[0145] 根据本发明，放射疗法治疗的图像记录以及执行可以被整合，顺序地或同时地进行。

[0146] 本发明的方法以及纳米级颗粒允许集成的图像记录 (recoding) 和放射疗法，其中成像用于将放射指引至靶组织。根据本发明，放射的位置与形状可以顺序地被调整为靶组织的成像。如果若干成像步骤用于限定靶组织，根据本发明的放射光束可以顺序地被调整为每个成像步骤以便矫正靶组织的位错。在成像与放射步骤之间的时期可以是短时间 - 延迟，例如 1 微秒至 5 秒。

[0147] 在本发明的另一个实施方案中，该成像步骤可以同时完成。在另一个实施方案中，进行该成像步骤为在随后的放射疗法之前的至少 1 秒完成，例如至少 5 秒，例如在 5 秒和 30 天之间。

[0148] 在一些情况中，靶组织需要通过在放射的每个步骤前使用若干图像记录来限定。在其他情况中，一个图像记录足够用于对放射是有用的靶组织限定。因而根据本发明，成像步骤以及放射疗法的顺序可以按这样的方式进行调整，该方式允许靶组织的有效治疗同时保存健康组织。此类顺序允许成像与放射疗法的不同顺序以及重复。

[0149] 在本发明的一个实施方案中，靶组织的成像可以与放射疗法同时进行。这种同时

的成像与放射疗法可以通过利用用于成像的治疗性放射来进行。

[0150] 与健康组织相比，靶组织的更精确限定允许靶组织的更密集的放射以及因此更少份数的治疗。在本发明的一个实施方案中，放射治疗是超分割化的并且是以超过更少份数的大剂量给予的。

[0151] 放射疗法可以按可经若干天的时期分散的若干剂量或份数进行。在这种治疗期间，可以一次或多次给予纳米级颗粒，以便允许不希望生长的细胞的成像。根据本发明的放射疗法可以按 1 至 100 份（例如 1 至 5 份、或例如 5 至 10 份、或例如 10 至 20 份、或例如 20 至 30 份、或例如 30 至 40 份、或例如 40 至 50 份、或例如 50 至 60 份、或例如 60 至 70 份、或例如 70 至 80 份、或例如 80 至 90 份、或例如 90 至 100 份）递送。

[0152] 一个或多个份数的放射疗法可以根据本发明进一步经 1 至 100 天的时期（例如 1 至 10 天、或例如 10 至 20 天、或例如 20 至 30 天、或例如 30 至 40 天、或例如 50 至 60 天、或例如 60 至 70 天、或例如 70 至 80 天、或例如 90 至 100 天）递送。

[0153] 本发明的另外的一个目的是提供用于如在此所述的方法中的用途的系统，该系统包括一个用于获得靶组织的限定的集成计算机断层摄影 (CT)- 成像装置、一种集成的外部光束放射装置以及一种用于处理所述装置的数据的集成计算机，其中该系统能够基于由计算机断层摄影 (CT)- 成像装置获得的限定而指引外部光束放射疗法。

[0154] 与细胞的不希望生长相关联的疾病

[0155] 本发明的方法以及纳米级颗粒涉及与细胞的不希望生长相关联的疾病或病症的治疗。

[0156] 如在此使用，术语“治疗”（“treating”）、“治疗”（“treatment”）以及“疗法”（“therapy”）同等地是指治愈性疗法、预防疾病或预防性疗法以及减轻或缓和性疗法。该术语包括一种用于获得有益的或希望的生理结果的途径，该途径可以在临床上建立。为了本发明的目的，有益的或所希望的临床结果包括但不局限于：症状的减轻、疾病程度的减小、稳定的（即，不恶化）病症、病症 / 症状的进展或恶化的延迟或减慢、病症或症状的改善或减轻、以及缓和（不论是部分还是总体），这些结果不论是可检测的还是不可检测的。如在此使用，术语“减轻”（“palliation”）、及其变体意为：与不给予本发明组合物相比，生理病症或症状的程度和 / 或不希望的表现减轻，和 / 或进展的时程减慢或加长。

[0157] 术语“不希望的生长”包括在可以造成肿瘤 (neoplasm)（即，肿瘤 (tumour)）的组织中细胞的肿瘤性生长，通常其特征是增加的血管生成。术语“不希望的”意为可以是良性的、潜在呈恶性或恶性的细胞生长。恶性细胞生长可以是对于个体有害的、造成损害的、致伤的、伤害的和 / 或具有致死后果的。

[0158] 癌症是一种疾病，其特征在于细胞的不希望生长，并且本发明涉及与以下恶性肿瘤相关联的癌性疾病的监测以及治疗：例如，唇、口或咽喉的恶性肿瘤如舌、舌根、牙龈、口底、颚、腮腺、大唾液腺、扁桃体、口咽、鼻咽、梨状窦、下咽或者唇、口或咽喉的其他部分的恶性肿瘤，或者消化器官的恶性肿瘤如食道、胃、小肠、结肠、直肠乙状结肠结合部、直肠、肛门以及肛管、肝脏以及肝内胆管、胆囊、胆道的其他部分、胰腺以及脾脏的恶性肿瘤，呼吸器官和胸内器官的恶性肿瘤如鼻腔和中耳、副鼻窦、喉、气管、支气管以及肺、胸腺、心脏、纵隔膜以及胸膜的恶性肿瘤，骨和关节软骨的恶性肿瘤如四肢的骨和关节软骨、骨和关节软骨的恶性肿瘤，皮肤、皮脂腺以及汗腺的恶性肿瘤，间皮和软组织的恶性肿瘤如间皮瘤、卡波济

氏肉瘤的恶性肿瘤，外围神经和自主神经系统的恶性肿瘤，腹膜后腔和腹膜的恶性肿瘤，结缔和软组织（如血管、粘液囊、软骨、筋膜、脂肪、韧带、淋巴管、肌肉、滑液、肌腱、头、面部和颈部、腹部、骨盆或结缔和软组织的重叠病变）的恶性肿瘤，乳房或女性生殖器官的恶性肿瘤如外阴、阴道、子宫颈、子宫体、子宫、卵巢、输卵管、胎盘的恶性肿瘤，或者男性生殖器官的恶性肿瘤如阴茎、前列腺、睾丸的恶性肿瘤，泌尿道的恶性肿瘤如肾脏、肾盂、输尿管、膀胱、尿道或其他泌尿器官的恶性肿瘤，眼睛、脑和中央神经系统的其他部分的恶性肿瘤如眼睛以及附器、脑膜、脑、脊髓、颅神经以及中枢神经系统的其他部分的恶性肿瘤，甲状腺以及其他内分泌腺体的恶性肿瘤如甲状腺、肾上腺、甲状旁腺、脑下垂体、颅咽管、松果腺、颈动脉体、主动脉体以及其他副神经节的恶性肿瘤，头、面部和颈部、胸部、腹部以及骨盆的恶性肿瘤，淋巴结、呼吸器官和消化器官、肾脏以及肾盂、膀胱以及其他泌尿器官的继发性恶性肿瘤，皮肤、脑、脑膜、或神经系统的其他部分、骨以及骨髓、卵巢、肾上腺的继发性恶性肿瘤，淋巴、造血的以及相关组织的恶性肿瘤如霍奇金病 (Hodgkin′ sdisease)、滤泡性非霍奇金淋巴瘤、弥漫性非霍奇金淋巴瘤、周围的以及皮肤的 T- 细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、淋巴肉瘤，恶性免疫增生性疾病如华氏巨球蛋白血症、α 重链疾病、γ 重链疾病、免疫增生性小肠疾病、多重骨髓瘤以及恶性血浆细胞瘤（如浆细胞白血病、浆细胞瘤、单发性骨髓瘤）、淋巴性白血病（如急性淋巴细胞白血病、骨髓性白血病、单核细胞白血病、母细胞白血病 (blast cell leukaemia)、干细胞白血病，以及其他未指明的淋巴的、造血的以及相关的组织的恶性肿瘤如莱特雷尔 - 西韦病 (Letterer-Siwe disease)、恶性组织细胞增多病、恶性肥大细胞瘤、真性组织细胞性淋巴瘤或其他类型的恶性肿瘤。

[0159] 还认为在原位的癌瘤是一种与不希望的细胞生长相关联的疾病。根据本发明，一种与不希望的细胞生长相关联的疾病可以是在口腔、食管、胃、消化器官、中耳以及呼吸系统的原位癌瘤，原位黑色素瘤，皮肤的原位癌瘤，乳房的原位癌瘤，女性或男性生殖器的原位癌瘤，膀胱、泌尿器官或眼睛、甲状腺以及其他内分泌腺的原位癌瘤，或其他类型的原位癌瘤。

[0160] 在一个优选实施方案中，本发明涉及与肺癌、前列腺癌、宫颈或卵巢癌相关联的不希望的细胞生长。

[0161] 在一个更优选的实施方案中，本发明涉及与肺癌或前列腺癌相关联的不希望的细胞生长。

[0162] 与不希望的细胞生长相关联的其他类型的病症或疾病包括宫外（异位）孕，脑中的良性肿瘤（例如位于接近视神经的良性肿瘤、伴随激素的过度产生的小腺（如例如下丘脑）的良性肿瘤），与神经压迫相关的骨和软骨，可以在移植之前杀死的血细胞，与大型扁桃体相关联的病症（如急性扁桃体炎或增殖腺炎），阻塞性睡眠窒息，鼻气道阻塞，鼾症，或扁桃体周围脓肿或者增生性的或生成血管的眼部疾患。

[0163] 个体

[0164] 根据本发明的个体是动物个体。认为哺乳动物个体，例如人类个体，是动物个体的一部分。

[0165] 还认为怀孕的雌性个体是根据本发明的个体。

[0166] 循环

[0167] 根据本发明，纳米级颗粒可以按一种允许在血液、淋巴或脑脊液中循环的方式给

予。所述纳米级颗粒的这种循环可以允许脉管或淋巴系统的成像。

[0168] 由于实体在纳米级颗粒内的受到保护的位置，根据本发明的可检测的化合物包含于一种允许增加的循环时间的纳米级颗粒中。此类保护降低了在体内的破坏以及快速排泄。通过增加循环时间，确保了包含在纳米级颗粒内的化合物到达靶组织。包在长循环纳米级颗粒内的可检测化合物可以通过被动靶向至受试者中的病变部位而递送，以便协助它的诊断。

[0169] 本发明的纳米级颗粒可以包括附接至外表面的化合物，这允许在血流中延长的循环时间。延长的循环时间可以通过减少在给予后不久的免疫系统的攻击，由此延缓这些纳米级颗粒的清除并且防止其破裂来获得。在纳米颗粒的外表面上所附接的此类化合物包括PEG、低聚糖（例如GM1和GM3）、以及亲水聚合物。

[0170] 在本发明的一个优选实施方案中，这些纳米级颗粒具有一个包括PEG和/或脂质层（例如一个脂质单层和/或一个或多个脂质双层）的壳或表面包衣。

[0171] 在本发明的另一个优选实施方案中，这些纳米级颗粒具有一个包括PEG或嵌段共聚物（其中一个嵌段是PEG并且另一个稳固了与颗粒核心的稳定附接/粘附）的壳或表面包衣。在这个实施方案中，PEG分子可以例如，可以具有在2-70kD之间的分子量。

[0172] 纳米级颗粒可以具有以至少1小时为循环的半衰期，例如2至4小时，优选至少4至6小时，例如至少6小时、例如至少8小时、例如至少10小时、例如至少12小时、例如至少14小时、例如至少24小时、例如至少36小时、例如至少48小时、例如至少72小时、例如至少120小时。

[0173] 在靶组织中的停留

[0174] 本发明的一个目的是提供能够通过在组织（其特征在于不希望的细胞生长）中被动的靶向递送而积累的纳米级颗粒。这种积累被允许是由于纳米级颗粒的长的循环时间以及用于在泄露的脉管和/或非有效性淋巴引流系统的区域中积累的最佳尺寸。

[0175] 示例性靶组织包括癌性组织，例如肿瘤；正常的组织，例如淋巴结，它们可以包括癌细胞；胎儿组织，例如像在宫外孕中；以及炎性组织。在一个实施方案中，靶组织是癌症相关的，如一种肿瘤。

[0176] 本发明的纳米级颗粒直接地在靶组织中的停留允许靶组织的更精确成像。由于靶组织可以在治疗期间移动，纳米级颗粒直接地在靶组织内的停留允许靶组织的精确位置的连续成像。这转而导致待治疗区域的更好限定并且保存更多健康组织免于放射。

[0177] 本发明的另外的目的是提供纳米级颗粒，这些纳米级颗粒允许在给予这些颗粒后，一个长时期的靶组织成像。因此，根据本发明，将纳米级颗粒给予个体允许在给予后3天或更多天的时期期间（例如在给予后3至300天或更多天，例如3至100天、或例如100至200天、或例如200至300天、或例如300至400天、或例如3至200天或例如3至300天或例如3至400天）进行靶组织的计算机断层摄影(CT)-成像。

[0178] 本发明的一个优选实施方案允许在给予纳米级颗粒后的3至120天的时期期间进行靶组织的计算机断层摄影(CT)-成像。

[0179] 活化的-或配体靶向递送系统是指纳米级颗粒组合物，该纳米级颗粒组合物具有配体，这些配体附接在表面上，靶向至细胞表面抗原或受体。将靶向的和长循环的脂质体的特性组合在一种包括造影化合物的制品中会显著地增加造影化合物定位在靶部位（例如

肿瘤）中的特异性和强度。

[0180] 包含在纳米级颗粒中的靶向部分允许纳米级颗粒在靶组织中或进入靶细胞内的更高程度的递送以及停留。这转而导致可检测化合物定位在靶部位（例如一种肿瘤）中增加的特异性和强度。因此，由本发明提供的纳米级颗粒可以进一步包括靶向部分（如糖类、低聚糖、维生素、肽、蛋白、抗体以及亲和体以及其他受体结合配体），这些靶向部分对于炎性组织或包括不希望生长的细胞的组织具有特异性亲和力。

[0181] 根据本说明书的“抗体”定义为一种特异性结合至抗原表位上的蛋白。在本发明中有用的此类抗体可以是单特异性的、双特异性的、三特异性的、或具有更大的多－特异性。例如，多－特异性抗体可以对于细胞因子、细胞、或酶（与正常组织相比，可以按一个增加的量存在于靶部位处）的不同表位是特异性的。术语抗体应包括单域抗体，还称为纳米抗体。

[0182] 抗体可以是多克隆的或单克隆的。在本发明中有用的单克隆抗体的实例是选自下组，该组由以下各项组成，但不局限于：利妥昔单抗、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、LymphoCide、Vitaxin、Lym-1 以及贝伐单抗。

[0183] 在一个优选实施方案中，单克隆抗体是选自下组，该组由以下各项组成：利妥昔单抗、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、LymphoCide、Vitaxin、Lym-1 以及贝伐单抗。

[0184] “亲和体”被定义为小的并且稳定的抗原结合分子，可以经过工程化特异性地结合至大量的靶蛋白上。根据本发明的亲和体分子包括抗 -ErbB2 亲和体分子以及抗－纤维蛋白原亲和体分子、以及其他的亲和体。

[0185] 在本发明中有用的肽充当一种使纳米级颗粒能够特异性结合至不希望生长的靶组织的靶向部分，其中这些肽是选自下组，该组由以下各项组成，但不局限于：RGD、生长抑素及其类似物、以及细胞穿透肽或允许细胞内化的肽。

[0186] 在一个实施方案中，这些肽是选自下组，该组由以下各项组成：RGD、生长抑素及其类似物、以及细胞穿透肽。

[0187] 给药

[0188] 本发明提供了通过允许纳米颗粒循环的适合途径的给药。将理解的是，优选的途径将取决于待治疗的受试者的总体病症以及年龄、待治疗的病症的性质以及纳米颗粒的选择配方。用于这种给药的适当剂型可以通过常规技术来制备。

[0189] 根据本发明的纳米颗粒还可以局部给药，例如直接进入靶组织或进入靶组织的邻近组织。这种局部给药可以是瘤内给药。

[0190] 根据本发明的纳米颗粒可以不经肠道给药，即通过静脉内、肌肉内、脊柱内、皮下、动脉内、心内、骨内、皮内、脑池内、鞘内、脑内、经皮、经粘膜、吸入、硬膜上、舌下、玻璃体内、鼻内、直肠内、阴道内或腹膜内给药。此外，肠胃外给药可以根据本发明通过输注或注射来进行。

[0191] 在本发明的一个优选实施方案中，纳米颗粒是经输注或肠胃外给药来进行给药。

[0192] 在本发明的又另一个优选实施方案中，纳米级颗粒是经静脉内、动脉内、鞘内、皮下、肌肉内或腹膜内注射来给药。

[0193] 根据本发明的纳米颗粒还可以通过允许本发明的纳米颗粒循环的适合途径（例如经口、直肠、鼻、肺部、颊或舌下给药）肠内给药。

[0194] 此外根据本发明的纳米颗粒可以给予治疗的个体受试者的粘膜，例如鼻、阴道、眼

睛、口、生殖道、肺、胃肠道、或直肠中，优选鼻、口或直肠中的粘膜。

[0195] 根据本发明，纳米颗粒还可以经吸入（经鼻内以及口的吸入给药）给药。用于这种给药的适当剂型（例如气溶胶配制品或定量吸入器）可以通过常规技术来制备。

[0196] 在本发明的一个实施方案中，纳米级颗粒是经局部给药。

[0197] 纳米级颗粒可以作为丸剂或经特定时期的时间（例如 1 分钟或更多，5 分钟或更多，10 分钟或更多，或经约 1 小时）给予的输注来给药。

[0198] 根据本发明的纳米级颗粒可以与至少一种其他的活性化合物一起给药。纳米颗粒与化合物可以同时地给药（作为分开的配制品亦或组合为一个单位剂型），或者顺序给药。

[0199] 在本发明的一个实施方案中，包括纳米级颗粒的组分套件是用于同时的、顺序的或分开的给药。

[0200] 根据本发明纳米级颗粒的给药可以根据递送至不希望生长的细胞处的、可检测的造影剂的毒性和程度来进行调整。因此，在本发明的一个实施方案中，将纳米级颗粒按相同的治疗顺序给予个体一次或多次，例如 1 次、2 次、3 次、4 次、或更多次，例如约 10 次、约 20 次、约 30 次、约 40 次、或约 50 次。

[0201] 待给予特定受试者的纳米颗粒的剂量可以由主治医师基于参数（例如有待治疗的受试者的体重或相对应的表面积、受试者的年龄和病症、以及有待成像并受照射的靶组织的尺寸和位置）来确定。在一个实施方案中，每克或 cm^3(mL) 的组织的纳米颗粒的注射剂量的至少 0.001％，例如大于 0.01％、0.05％、0.1％、0.3％、0.5％、1％、1.5％、2％、3％、5％、或 10％到达人体中的靶组织。在一个实施方案中，递送至患病组织的剂量是至少 0.01mg/mL，例如至少 0.01mg/mL、至少 0.1mg/mL、至少 0.5mg/mL、至少 1mg/mL、至少 5mg/mL、至少 10mg/mL、或至少 50mg/mL。在特别优选实施方案中，递送至患病组织的剂量是在 0.1mg/mL 和 1mg/mL 之间或在 1mg/mL 和 10mg/mL 之间。

[0202] 制备以及合成

[0203] 本发明提供了用于合成或制备如在此所述的纳米级颗粒的方法。

[0204] 可检测化合物可以通过使用晶种或具有低溶解度的盐（允许可检测化合物的沉淀或聚集）而运送进纳米级颗粒内。此类晶体包括如由周期表定义的过渡金属、稀土金属、碱金属、碱土金属、其他金属的晶体，例如金 (Au)、铋 (Bi)、铁 (Fe)、钡 (Ba) 以及钙 (Ca)、钆 (Gd) 的晶体或不溶的或具有低溶解度的上述金属的任何盐。

[0205] 用于协助可检测化合物的沉淀或聚集的还原剂还可以用于根据本发明的纳米级颗粒的合成或制备。此类还原剂包括抗坏血酸、丙烯酸钠、葡萄糖、果糖、甘油醛、乳糖、阿拉伯糖、麦芽糖、柠檬酸以及丙酮醇。

[0206] 在本发明的一个优选实施方案中，纳米级颗粒是通过使用丙烯酸钠、抗坏血酸或柠檬酸作为还原剂来制备的。

[0207] 在本发明的一个优选实施方案中，用于制备纳米级颗粒的方法包括一个或多个以下步骤：

[0208] a) 将金纳米颗粒用带阳离子的分子种类（例如半胱胺）包覆

[0209] b) 将脂质（例如比率为 70 ： 25 ： 5 的 DSPC/DSPG/DSPE-PEG2000) 混合在有机溶液中，通过 a) 首先将它们溶解在氯仿中、b) 使用氮气流将它们干燥、c) 使用油泵过夜除去有机溶剂的痕量残余物，以获得脂质的薄膜。

[0210] c) 将脂质膜在一种含有来自步骤 a 的阳离子金纳米颗粒（例如阳离子的 50mm 金颗粒）的缓冲溶液中水合 60min。

[0211] d) 将脂质体通过 100nm 聚碳酸酯滤器挤出，给出脂质体，其中绝大部分是如通过低温透射电子显微镜评估的在从 60 至 120nm 的大小范围内。

[0212] e) 通过离心将空的脂质体从金纳米颗粒脂质体分离。

[0213] 在本发明的另一个优选实施方案中，用于制备纳米级颗粒的方法包括一个或多个以下步骤：

[0214] a) 将金纳米颗粒用带阳离子的分子种类（例如半胱胺）包覆

[0215] b) 将获得阳离子金纳米颗粒添加至一种含有带负电的聚合物（至少 10000 道尔顿，例如透明质酸）的溶液中，并且搅拌 1 小时。

[0216] c) 将颗粒经离心通过在每个循环之后更换缓冲溶液来洗涤 3x。

[0217] 在本发明的另一个实施方案中，一种或多种离子载体用于将造影剂或可检测化合物运送到纳米级颗粒内。如在此使用，术语“离子载体”是指与一种可检测化合物（例如金属）能够形成复合物的任何化合物，并且此后将这种复合物运送至纳米级颗粒内（例如像跨过脂质体的双层）。

[0218] 根据本发明的离子载体可以包括 2- 羟基喹啉 (carbostyril)、8- 羟基喹啉 (oxine)；8- 羟基喹啉 β -D- 半乳糖苷；8- 羟基喹啉 β -D- 吡喃葡萄糖苷；8- 羟基喹啉葡糖苷酸；8- 羟基喹啉 -5- 磺酸；8- 羟基喹啉 -p-D- 葡糖苷酸钠盐；8- 喹啉醇半硫酸盐；8- 喹啉醇 N- 氧化物；2- 氨基 -8- 喹啉醇；5,7- 二溴 -8- 羟基喹啉；5,7- 二氯 -8- 羟基喹啉；5,7- 二碘 -8- 羟基喹啉；5,7- 二甲基 -8- 喹啉醇；5- 氨基 -8- 羟基喹啉二盐酸化物；5- 氯 -8- 喹啉醇；5- 硝基 -8- 羟基喹啉；7- 溴 -5- 氯 -8- 喹啉醇；N- 丁基 -2,2′ - 亚氨基 - 二 (8- 喹啉醇）；8- 羟基喹啉苯甲酸盐；2- 苄基 -8- 羟基喹啉；5- 氯 -8- 羟基喹啉盐酸盐；2- 甲基 -8- 喹啉醇；5- 氯 -7- 碘 -8- 喹啉醇；8- 羟基 -5- 硝基喹啉；8- 羟基 -7- 碘 -5- 喹啉磺酸；5,7- 二氯 -8- 羟基 -2- 甲基喹啉，其他的喹啉组成的化学化合物及其衍生物，以及其他离子载体。

[0219] 在本发明的一个优选实施方案中，这些离子载体选自下组，该组由以下各项组成：8- 羟基喹啉 (Oxine) 及其衍生物，2- 羟基喹啉及其衍生物，A23187，六甲基丙烯胺肟 (HMPAO) 及其衍生物，二异丙基亚氨基二乙酸二异丙基亚氨基二乙酸 (DISIDA) 及其衍生物。

[0220] 用于制备脂质体（包括 CT 造影剂）的根据本发明的方法，它包括在其中使用离子载体的一个步骤并且可以包括一个或多个以下步骤：

[0221] a) 将脂质进行混合，例如通过首先将它们溶解在氯仿中随后进行干燥以获得脂质的薄膜。

[0222] b) 将脂质膜用缓冲溶液（包括一种化学化合物，该化学化合物能够将金属盐还原为处在零价氧化态的金属，亦或与处在高于零价的氧化态的金属化合物形成一种不溶的盐，或者还原和低溶解度盐形成的组合）进行水合。

[0223] c) 获得具有 20 至 150nm 的优选大小的脂质体。

[0224] d) 交换外部缓冲液，给出在其中金属盐具有高溶解度的缓冲液。

[0225] e) 添加一种溶液（该溶液包含一种在水中具有高溶解度的金属盐）以及一种离子

载体。

[0226] f) 将溶液进行搅拌以确保高效的载入。

[0227] 在本发明的另一个实施方案中，用于纳米级颗粒的制备的方法是用于脂质体（包括 CT 造影剂以及能由 MR、SPECT 或 PET 可视化的在溶液中的药剂）的制备，并且包括离子载体的使用并包括一个或多个以下步骤：

[0228] a) 将脂质进行混合，例如通过首先将它们溶解在氯仿中其次进行干燥以获得脂质的薄膜。

[0229] b) 将脂质膜用缓冲溶液（包括一种化学化合物，该化学化合物能够将金属盐还原为处在零价氧化态的金属，亦或与处在高于零价的氧化态的金属化合物形成一种不溶的盐，或者还原和使用低溶解度盐形成的组合）进行水合。并且在该步骤中的所述缓冲液另外包括一种螯合剂，该螯合剂强烈地结合由 MR、SPECT 或 PET 可视的药剂。

[0230] c) 获得具有 20 至 150nm 的优选大小的脂质体。

[0231] d) 通过一种适合的方法将外部缓冲液交换为一种缓冲液（在该缓冲液中用于 CT 成像的所使用的金属盐以及用于 MR、SPECT 或 PET 的金属盐具有高溶解度）。

[0232] e) 将一种溶液（该溶液包含用于 CT- 成像的、具有在水中高的溶解度的金属盐，和一种用于 MR、SPECT 或 PET 的金属盐）以及一种离子载体添加至在溶液中的脂质体中。

[0233] f) 将溶液搅拌持续至少 30min 以确保有效载入。

[0234] 在本发明的另一个实施方案中，用于纳米级颗粒的制备的方法是用于使用离子载体以及可以由 MR、SPECT 或 PET 可视化的、共价结合至脂质体膜的药剂来制备具有 CT 造影剂的脂质体，并且包括一个或多个以下步骤：

[0235] a) 将脂质进行混合，例如首先通过将它们溶解在氯仿或氯仿和甲醇或其他有机溶剂的混合物中，随后进行干燥以获得脂质的薄膜。脂质组分之一包括一种药剂，该药剂可以通过一种共价附接的药剂或一种可以包入该药剂的螯合剂而由 MR、SPECT 或 PET 可视化，其中该药剂可以存在于这个步骤中或在后面步骤中引入。

[0236] b) 将脂质膜用缓冲溶液（包括一种化学化合物，该化学化合物将会将金属盐还原为处在零价氧化态的金属，亦或与处在高于零价的氧化态的金属化合物形成一种不溶的盐，或者还原和使用低溶解度盐形成的组合）进行水合。

[0237] c) 获得具有 20 至 150nm 的优选大小的脂质体。

[0238] d) 交换外部缓冲液。

[0239] e) 添加一种溶液（该溶液包含一种在水中具有高溶解度的金属盐）以及一种离子载体。

[0240] f) 将溶液搅拌持续至少 30min 以确保有效载入。

[0241] 用于制备的方法可以进一步包括一个纯化步骤，例如使用 sephadex G50 的尺寸排阻色谱法。

[0242] 根据本发明，高于零价的氧化态包括单价阳离子、二价阳离子、三价阳离子、四价阳离子、五价阳离子、六价阳离子以及七价阳离子。

[0243] 根据本发明，具有优选尺寸的脂质体的获得可以通过低温透射电子显微镜对尺寸的评估以及均化和 / 或使用聚碳酸酯滤器挤出来完成。

[0244] 交换外部缓冲液可以根据上述方法通过使用适合的方法（例如透析、柱层析、或

离心）来完成。

[0245] 由MR、SPECT或PET可视的、并且用于制备的方法中的药剂是如在此定义的放射性的、顺磁性或铁磁性的化合物，如例如钆、锆、锝或铜。

[0246] 本发明或本发明的方法中的螯合剂可以是一种与MR、SPECT以及PET药剂形成螯合复合物的螯合剂。螯合剂的实例包括但不局限于，1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)及其衍生物；1,4,8,11-四氮杂环十四烷（环拉胺）及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷（轮环藤宁）及其衍生物；1,4-乙醇-1,4,8,11-四氮杂环十四烷(et-环拉胺）及其衍生物；1,4,7,11-四-氮杂环十四烷（异环拉胺）及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十三烷([13]aneN$_4$)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二乙酸(DO2A)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸(DO3A)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二（甲烷膦酸）(DO2P)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三（甲烷膦酸）(DO3P)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四（甲烷膦酸）(DOTP)及其衍生物；乙二胺四乙酸(EDTA)及其衍生物；二乙基三胺五乙酸(DTPA)及其衍生物；1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸(TETA)及其衍生物，或其他的金刚烷(adamanzanes)及其衍生物。

[0247] 根据本发明，可以将包括脂质体、金属盐以及离子载体的溶液搅拌至少30min，例如至少3小时，例如至少12小时。

[0248] 此外，根据本发明，包括脂质体、金属盐以及离子载体的溶液的搅拌在适合的温度下完成，用于有效载入。这样的温度包括至少10℃，例如至少20℃、例如至少30℃、例如至少40℃、例如至少50℃、例如至少60℃以及小于95℃。

[0249] 如在此使用，术语“载入”（“loading”）、“包封”（“encapsulation”）、或“包入”（“entrapment”）是指可检测化合物结合入纳米级颗粒组合物的内部。如在此可互换使用，术语“载入效率”、“包入效率”或“包封效率”是指可检测化合物结合入纳米级颗粒组合物的内部的部分，表述为在制品中（水除外）使用的可检测化合物按重量计的总量的百分比。术语“包封稳定性”、“储存稳定性”或“血清稳定性”是指纳米级颗粒组合物的稳定性测试，以测量包入在纳米级颗粒组合物内的可检测化合物的泄露和/或释放的程度。

[0250] 载入效率的确定可以通过重量或使用MS方法（例如ICP-MS、ICP-AES或AAS）、或通过光谱方法（例如UV）或其他本领域中已知方法。

[0251] 在根据本发明的用于制备的方法中，与脂质相比，以造影剂的重量百分比而测量的载入效率是至少50wt/wt%、例如至少60wt/wt%、或例如至少70wt/wt%、或例如至少80wt/wt%、或例如至少90wt/wt%、或例如至少95wt/wt%、或例如至少97wt/wt%、或例如至少98wt/wt%、或例如至少99wt/wt%、或例如至少99.9wt/wt%。

[0252] 根据本发明，用于纳米颗粒的制备中的金属包括如由周期表所定义的过渡金属、稀土金属、碱金属、碱土金属、其他金属。这些金属应该是处于使用形式的CT造影剂。

[0253] 在本发明的一个优选实施方案中，用于制备包括金颗粒的脂质体的方法包括一个或多个以下步骤：

[0254] a)将脂质（例如比例为50：40：10的DSPC/Chol/DSPE-PEG2000）混合在有机溶液中，该混合经由首先将它们溶解在氯仿中，其次使用氮气流将它们干燥，然后使用油泵过夜除去有机溶剂的痕量残余物，以获得脂质的薄膜。

[0255] b) 将脂质膜在一种缓冲溶液中水合 60min，该缓冲溶液包含柠檬酸钠以及具有 2-4nm 直径的少量柠檬酸盐稳定的金纳米颗粒。这些金纳米颗粒在脂质体内充当晶种。

[0256] c) 将脂质体通过 100nm 聚碳酸酯滤器挤出，给出脂质体，其中绝大部分是如通过低温透射电子显微镜评估，在从 60 至 140nm 的大小范围内。

[0257] d) 通过使用 sephadex G50 的尺寸排阻色谱法，将外部缓冲液用不包含柠檬酸盐的缓冲液系统进行交换。

[0258] e) 将 HAuCU 的缓冲溶液连同 8- 羟基喹啉 (oxine) 添加至脂质体溶液。

[0259] f) 在 50℃将溶液搅拌至少 3 小时。

[0260] g) 将脂质体通过使用 sephadex G50 的尺寸柱层析进行纯化。

[0261] 羟磷灰石存在于骨中并且是钙磷灰石（是一种良好功能的 CT 造影剂）的天然发生形式。通过离子载体的帮助可以将钙载入脂质体中。

[0262] 在本发明的另一个优选实施方案中，用于制备纳米级颗粒的方法包括一个或多个以下步骤：

[0263] d) 将脂质（例如比例为 50 ： 40 ： 10 的 DSPC/Chol/DSPE-PEG2000）混合在有机溶液中，该混合经由 a) 首先将它们溶解在氯仿中、b) 使用氮气流将它们干燥、c) 使用油泵过夜除去有机溶剂的痕量残余物，以获得脂质的薄膜。

[0264] e) 将脂质膜在包含高浓度磷酸铵的，具有调整至高于 7、优选 7.1、或 7.4、或 8.0、或 9.0 的 pH 的 pH 的缓冲溶液中水合 60min。

[0265] f) 将脂质体通过 100nm 聚碳酸酯滤器挤出，给出脂质体，其中绝大部分如通过低温透射电子显微镜评估，在从 60 至 140nm 的大小范围内。

[0266] g) 通过使用 sephadex G50 的尺寸排阻色谱法，将外部缓冲液用不包含磷酸铵的缓冲液系统进行交换。

[0267] h) 将硝酸钙的缓冲溶液连同 8- 羟基喹啉 (oxine) 添加至脂质体溶液。

[0268] i) 在 50℃将溶液搅拌至少 3 小时。

[0269] j) 将脂质体通过使用 sephadex G50 的尺寸柱层析进行纯化。

[0270] 在本发明的一个优选实施方案中，将如上述所产生的纳米级颗粒给予一位个体，该个体作为用于治疗的方法（该治疗方法根据本发明包括成像和放射疗法）中的一部分。

[0271] 实例

[0272] 实例 I- 根据本发明的脂质体的制备

[0273] a. 使用离子载体的脂质体的制备方法的大体实例

[0274] 如果通过离子载体的帮助将 CT 造影剂载入脂质体内，则优选的制备过程包括以下步骤：

[0275] a) 混合选择的脂质，例如首先通过将它们溶解在氯仿中然后干燥以获得脂质的薄膜。

[0276] b) 将脂质膜用一种缓冲溶液（该缓冲溶液包括一种化学化合物，该化学化合物将会将金属盐还原为处在零价氧化态的金属，亦或与处在高于零价（例如 +1、+2、+3）的氧化态的金属化合物形成一种不溶的盐，或者还原和使用低溶解度盐形成的组合）进行水合。

[0277] c) 利用一种方法来获得具有如通过低温透射电子显微镜评估的、20 至 150nm 优选大小的脂质体，例如均化和 / 或挤出。

[0278] d) 通过一种适合的方法（例如透析、柱层析、或离心）交换外部缓冲液，给出在其中金属盐具有高溶解度的缓冲液。

[0279] e) 添加一种溶液（该溶液包含一种在水中具有高溶解度的金属盐）以及一种离子载体。

[0280] f) 在一个用于有效载入的适合温度（例如 10℃、或 20℃、或 30℃、或 40℃、或 50℃、或大于 60℃并且小于 95℃），将溶液搅拌至少 30min、或至少 3 小时、或至少 12 小时。

[0281] 可以可任选地采用纯化步骤，例如使用 sephadex G50 的尺寸排阻色谱法。

[0282] 与脂质相比，载入效率应是至少 50wt/wt％的造影剂。载入效率的确定可以通过重量或使用 MS 方法（例如 ICP-MS、ICP-AES 或 AAS），或通过光谱方法（例如 UV）。

[0283] 金属包括：如由周期表所定义的过渡金属、稀土金属、碱金属、碱土金属、其他金属。这些金属应该是处于使用形式的 CT 造影剂。

[0284] 离子载体包括但不局限于：8- 羟基喹啉 (Oxine) 及其衍生物，2- 羟基喹啉及其衍生物，A23187，六甲基丙烯胺肟 (HMPAO) 及其衍生物，二异丙基亚氨基二乙酸二异丙基亚氨基二乙酸 (DISIDA) 及其衍生物。

[0285] b. 使用离子载体以及柠檬酸盐作为还原剂而远距离载入金的特定实例

[0286] 通过使用以下方法，Au(0)CT 造影剂是通过离子载体的帮助而在脂质体内形成。

[0287] 该过程包括以下步骤：

[0288] a) 将脂质（例如比例为 50 ： 40 ： 10 的 DSPC/Chol/DSPE-PEG2000）混合在有机溶液中，该混合经由首先将它们溶解在氯仿中，其次使用氮气流将它们干燥，然后使用油泵过夜除去有机溶剂的痕量残余物，以获得脂质的薄膜。

[0289] b) 将脂质膜在一种缓冲溶液中水合 60min，该缓冲溶液包含柠檬酸钠以及具有 2-4nm 直径的少量柠檬酸盐稳定的金纳米颗粒。这些金纳米颗粒在脂质体内充当晶种。

[0290] c) 将脂质体通过 100nm 聚碳酸酯滤器挤出，给出脂质体，其中绝大部分是如通过低温透射电子显微镜评估，在从 60 至 140nm 的大小范围内。

[0291] d) 通过使用 sephadex G50 的尺寸排阻色谱法将外部缓冲液用不包含柠檬酸盐的缓冲液系统进行交换。

[0292] e) 将 HAuCU 的缓冲溶液连同 8- 羟基喹啉 (oxine) 添加至脂质体溶液。

[0293] f) 在 50℃将溶液搅拌至少 3 小时。

[0294] g) 将脂质体通过使用 sephadex G50 的尺寸柱层析进行纯化。

[0295] c. 使用离子载体远距离载入钙、给出低溶解度羟磷灰石的沉淀的实例

[0296] 羟磷灰石存在于骨中并且是钙磷灰石（是一种良好功能的 CT 造影剂）的天然发生形式。通过离子载体的帮助可以将钙载入脂质体中。

[0297] 这种方法可以包括以下步骤：

[0298] a) 将脂质（例如比例为 50 ： 40 ： 10 的 DSPC/Chol/DSPE-PEG2000）混合在有机溶液中，该混合经由首先将它们溶解在氯仿中，其次使用氮气流将它们干燥，然后使用油泵过夜除去有机溶剂的痕量残余物，以获得脂质的薄膜。

[0299] b) 将脂质膜在包含高浓度磷酸铵的，具有调整至高于 7、优选 7.1、或 7.4、或 8.0、或 9.0 的 pH 的 pH 的缓冲溶液中水合 60min。

[0300] c) 将脂质体通过 100nm 聚碳酸酯滤器挤出，给出脂质体，其中绝大部分是如通过

低温透射电子显微镜评估，在从 60 至 140nm 的大小范围内。

[0301] d) 通过使用 sephadex G50 的尺寸排阻色谱法，将外部缓冲液用不包含磷酸铵的缓冲液系统进行交换。

[0302] e) 将硝酸钙的缓冲溶液连同 8- 羟基喹啉 (oxine) 添加至脂质体溶液。

[0303] f) 在 50℃将溶液搅拌至少 3 小时。

[0304] g) 将脂质体通过使用 sephadex G50 的尺寸柱层析进行纯化。

[0305] d. 使用离子载体，具有 CT 造影剂以及一种在溶液中的可以由 MR、SPECT 或 PET 可视化的药剂的脂质体的制备方法的实例

[0306] 通过离子载体的帮助将 CT 造影剂载入脂质体中。该方法包括以下步骤：

[0307] a) 混合选择的脂质，例如首先通过将它们溶解在氯仿中然后进行干燥以获得脂质的薄膜。

[0308] b) 将脂质膜用缓冲溶液（包括一种化学化合物，该化学化合物将会将金属盐还原为处在零价氧化态的金属，亦或与处在高于零价（例如 +1、+2、+3）的氧化态的金属化合物形成一种不溶的盐，或者还原和使用低溶解度盐形成的组合）进行水合。并且缓冲溶液另外包含螯合剂，该螯合剂强烈地结合一种由 MR、SPECT 或 PET 可视化的药剂（例如钆、锝（例如锝 -99m）、或铜（例如 ^{64}Cu））。

[0309] c) 利用一种方法来获得具有如通过低温透射电子显微镜评估的、20 至 150nm 优选大小的脂质体，例如均化和 / 或挤出。

[0310] d) 通过一种适合的方法（例如透析、柱层析、或离心）将外部缓冲液进行交换，给出一种缓冲液（在该缓冲液中用于 CT 成像的所采用的金属盐以及用于 MR、SPECT 或 PET 的金属盐具有高溶解度）。

[0311] e) 添加一种溶液（该溶液包含用于 CT 的、具有在水中的高溶解度的金属盐，和一种用于 MR、SPECT 或 PET 的金属盐）以及一种离子载体。

[0312] f) 在一个用于有效载入的适合温度（例如 10℃、或 20℃、或 30℃、或 40℃、或 50℃、或大于 60℃并且小于 95℃）将溶液搅拌至少 30min、或至少 3 小时、或至少 12 小时。

[0313] g) 可以可任选地采用纯化步骤，例如使用 sephadex G50 的尺寸排阻色谱法。

[0314] h) 与脂质相比，测量的载入效率是至少 50wt/wt％的造影剂。载入效率的确定是通过重量或使用 MS 方法（例如 ICP-MS、ICP-AES 或 AAS）、或通过光谱方法（例如 UV）来完成。

[0315] 金属包括：如由周期表所定义的过渡金属、稀土金属、碱金属、碱土金属、其他金属。这些金属应该是处于使用形式的 CT 造影剂。

[0316] 离子载体包括但不局限于：8- 羟基喹啉 (Oxine) 及其衍生物，2- 羟基喹啉及其衍生物，A23187，六甲基丙烯胺肟 (HMPAO) 及其衍生物，二异丙基亚氨基二乙酸二异丙基亚氨基二乙酸 (DISIDA) 及其衍生物。

[0317] 螯合剂组分是一种与 MR、SPECT 和 PET 药剂形成螯合复合物的螯合剂。螯合剂的实例包括但不局限于，1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 -1,4,7,10- 四乙酸 (DOTA) 及其衍生物；1,4,8,11- 四氮杂环十四烷（环拉胺）及其衍生物；1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 (cyclen) 及其衍生物；1,4- 乙醇 -1,4,8,11- 四氮杂环十四烷 (et- 环拉胺）及其衍生物；1,4,7,11- 四氮杂环十四烷（异环拉胺）及其衍生物；1,4,7,10- 四氮杂环十三烷 ([13]aneN$_4$) 及其衍生

物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二乙酸(DO2A)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸(DO3A)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二(甲烷膦酸)(DO2P)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三(甲烷膦酸)(DO3P)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四(甲烷膦酸)(DOTP)及其衍生物；乙二胺四乙酸(EDTA)及其衍生物；二乙基三胺五乙酸(DTPA)及其衍生物；1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸(TETA)及其衍生物，或者其他的金刚烷及其衍生物。

[0318] e. 使用一种离子载体以及一种可以由MR、SPECT或PET可视化的、共价结合至脂质体膜的药剂的具有CT造影剂的脂质体的制备方法的实例

[0319] 通过离子载体的帮助将CT造影剂载入脂质体内，该过程包括以下步骤：

[0320] a)将脂质进行混合，该混合是通过首先将它们溶解在氯仿或氯仿和甲醇或其他有机溶剂的混合物中，随后进行干燥以获得脂质的薄膜。脂质组分之一包括一种药剂，该药剂可以通过一种共价附接的药剂亦或一种可以包入该药剂的螯合剂而由MR、SPECT或PET可视化。该药剂可以存在于这个步骤中或在后面步骤中引入。

[0321] b)将脂质膜用缓冲溶液(包括一种化学化合物，该化学化合物将会或将金属盐还原为处在零价氧化态的金属，亦或与处在高于零价(例如+1、+2、+3)的氧化态的金属化合物形成一种不溶的盐，或者还原和使用低溶解度盐形成的组合)进行水合。

[0322] c)利用一种方法来获得具有如通过低温透射电子显微镜评估的、20至150nm优选大小的脂质体，例如均化和/或挤出。

[0323] d)通过一种适合的方法(例如透析、柱层析、或离心)交换外部缓冲液，给出在其中金属盐具有高溶解度的缓冲液。

[0324] e)添加一种溶液(该溶液包含一种在水中具有高溶解度的金属盐)以及一种离子载体。

[0325] f)在一个用于有效载入的适合温度(例如10℃、或20℃、或30℃、或40℃、或50℃、或大于60℃并且小于95℃)将溶液搅拌至少30min、或至少3小时、或至少12小时。

[0326] g)可以可任选地采用纯化步骤，例如使用sephadex G50的尺寸排阻色谱法

[0327] h)与脂质相比，载入效率应是至少50wt/wt%的造影剂。载入效率的确定可以通过重量或使用MS方法(例如ICP-MS、ICP-AES或AAS)、或通过光谱方法(例如UV)。

[0328] 金属包括如由周期表所定义的过渡金属、稀土金属、碱金属、碱土金属、其他金属。这些金属应该是处于使用形式的CT造影剂。

[0329] 离子载体包括8-羟基喹啉(Oxine)及其衍生物，2-羟基喹啉及其衍生物，A23187，六甲基丙烯胺肟(HMPAO)及其衍生物，二异丙基亚氨基二乙酸二异丙基亚氨基二乙酸(DISIDA)及其衍生物。

[0330] 螯合剂可以是一种具有适用于共价附接至脂质的功能性手柄的以下项的衍生物：1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)及其衍生物；1,4,8,11-四氮杂环十四烷(环拉胺)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷(cyclen)及其衍生物；1,4-乙醇-1,4,8,11-四氮杂环十四烷(et-环拉胺)及其衍生物；1,4,7,11-四-氮杂环十四烷(异环拉胺)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十三烷([13]aneN$_4$)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二乙酸(DO2A)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三乙酸(DO3A)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,7-二(甲烷膦酸)(DO2P)及

其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7-三（甲烷膦酸）(DO3P)及其衍生物；1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四（甲烷膦酸）(DOTP)及其衍生物；乙二胺四乙酸(EDTA)及其衍生物；二乙基三胺五乙酸(DTPA)及其衍生物；1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,8,11-四乙酸(TETA)及其衍生物，或者其他的金刚烷及其衍生物。

[0331] 实例II-在本发明的方法中有用的纳米级颗粒的制备

[0332] a.用于获得具有从16-80nm的不同大小的金钠米颗粒(AuNP)的合成程序

[0333] 材料：

[0334] 四氯代氢金(III)合四水化物是从Wako Pure化学工业有限公司(Wako Pure Chemical Industries Ldt.)购得。丙烯酸钠、氢氧化钠、硝酸以及盐酸是从西格玛-艾尔德林公司(Sigma-Aldrich)购得。贯穿金纳米颗粒的制备中使用MilliQ水（密理博公司(Millipore)，贝德福德，马萨诸塞州）。不经进一步纯化使用所有材料。

[0335] 表征：

[0336] 颗粒是通过动态光散射以及ζ电位测量（纳米粒度仪(Zetasizer Nano)；马尔文仪器有限公司(Malvern Instruments)，马尔文，英国）连同通过它们的紫外-可见光谱(Unicam Helios Uni-9423)来表征。使用Tecnai T20G2(FEI公司，美国）透射电子显微镜以及原子力显微镜(PSIAXE150Park Systems，韩国）来可视化颗粒的尺寸以及同质性。

[0337] 合成：

[0338] 16nmAuNP

[0339] 将玻璃器皿以及磁铁在王水(HCl ： $HNO_3$3 ： 1)中进行洗涤并且用MilliQ水进行广泛漂洗。将$HAuCl_4x3H_2O$(156.8mg)溶解在MilliQ水(380.8mL)中，装上冷凝器并且在油浴中加热至回流。添加丙烯酸钠(859mg，80mM，114.2mL)的预热（大约70℃）溶液并且允许该反应回流一小时。该反应经历颜色变化，从清澈至紫色并且最终为酒红色。将该反应冷却至室温。

[0340] DLS：27.6nm，PDI：0.096；ζ(Zeta)：-25.85mV±1.43mV；UV-vis：A_{max}526nm；TEM16nm-20nm；AFM16nm-20nm。

[0341] 30nmAuNP

[0342] 将玻璃器皿在王水(HCl ： $HNO_3$3 ： 1)中进行洗涤并且用MilliQ水进行广泛漂洗。

[0343] 将$HAuCl_4x3H_2O$(125.2mg)溶解在MilliQ水(1.34L)中，并且使用0.1M氢氧化钠溶液将pH调整至7。将在MilliQ水中的丙烯酸钠(1.72g，446.7mL，41mM)添加至调整pH的溶液中，将烧瓶短暂地进行漩涡并且放在室温3-4天。在这些天期间，酒红色缓慢发展。通过在紫外-可见光谱中的强度(OD)来监测该反应。通过离心(6500rpm，10分钟)，AuNP的浓度增加至～0.8mM。

[0344] DLS：32.8nm，PDI：0.050；ζ(Zeta)：-32.94mV±1.0mV；UV-vis：A_{max}523nm；TEM30nm；AFM30nm。

[0345] 50nmAuNP

[0346] 使用30nm大小的AuNP作为种来生长50nmAuNP。将玻璃器皿在王水(HCl ： $HNO_3$3 ： 1)中进行洗涤并且用MilliQ水进行广泛漂洗。将$HAuCl_4x3H_2O$(64mg)溶解在MilliQ水(546mL)中，并且使用0.1M氢氧化钠溶液将pH调整至7。以$1.17x10^{11}$纳

米颗粒 /mL 的浓度添加 30nm 的种，然后添加丙烯酸钠溶液 (876.3mg，182mL，51.2mM)。使用的体积比是 (Au^{3+} ： Au ：丙烯酸钠) ： (6 ： 2 ： 2)。将烧瓶短暂地进行漩涡并且放在室温下 3-4 天。经 DLS 通过颗粒的生长来监测反应。通过离心 (6500rpm，10 分钟)，AuNP 的浓度增加至大约 0.8mM。DLS :52.6nm，PDI :0.126 ；ζ (Zeta) :-40.21mV±1.62mV ;UV-vis : A_{max}531nm ;TEM50nm ;AFM50nm。

[0347] 80nmAuNP

[0348] 使用 50nm 大小的 AuNP 作为种来生长 80nm AuNP。使用如用于 50nm AuNP 的生长的相同的程序。将颗粒通过在 4300rpm 离心 10 分钟来进行浓缩。

[0349] DLS :85.4nm，PDI :0.047 ；ζ (Zeta) :-50.31mV±1.58mV ;UV-vis : A_{max}557nm ; TEM80nm ;AFM80-85nm。

[0350] b. 用于 CT 成像的 PEG 聚合物包覆的金纳米颗粒

[0351] 金纳米颗粒是通过进一步地与在实例 IIa 中获得的溶液发生反应用 PEG 包衣来合成。在 PEG_{2000} 至 PEG_{10000} 的大小范围内的硫醇功能化的单甲氧基聚乙二醇是从拉普聚合物公司 (Rapp Polymere) 购得。将 PEG 化的金纳米颗粒通过离心进行收集并且用 MQ 水或缓冲液洗涤。

[0352] 16nm AuNP 的 PEG 化程序 :将过量的 mPEG 硫醇 (每 nm^2 表面 8 个 PEG 分子) 添加至 16nm AuNP 的溶液中并且将该反应放在室温以搅拌过夜。将 AuNP 通过在 9500rpm 离心 40 分钟来进行收集。

[0353] 30nm AuNP 的 PEG 化程序 :将 mPEG 硫醇 (每 nm^2 表面 8 个 PEG 分子) 添加至 30nmAuNP 的溶液中，并且在通过在 9500rpm 离心 20 分钟来收集 AuNP 之前允许搅拌过夜。

[0354] 50nm AuNP 的 PEG 化程序 :将 mPEG 硫醇 (每 nm^2 表面 8 个 PEG 分子) 添加至 50nmAuNP 的溶液中并且允许搅拌过夜。将 AuNP 通过在 9500rpm 离心 10 分钟来进行收集。

[0355] 80nm AuNP 的 PEG 化程序 :将 mPEG 硫醇 (每 nm^2 表面 8 个 PEG 分子) 添加至 AuNP 并且允许该混合物搅拌过夜。将颗粒通过在 9000rpm 离心 10 分钟来进行收集。

[0356] c.PEG 化的金纳米棒

[0357] 将高度稳定的 13x47nm 的、溴化十六烷基三甲基铵 (CTAB) 包覆的金纳米棒 (来自 Nanopartz) 在 16,000rcf 进行离心以将这些棒进行浓缩，这是在它们重悬浮于 MeO-PEG-SH(5kDa) 的溶液中以后进行的。纳米棒可以通过离心来收集，在此之后将它们用 MQ 水依次进行洗涤。

[0358] d. 聚合物包覆的硫化铋纳米颗粒

[0359] 硫化铋纳米晶体是在表面活性剂的存在下通过沉淀来制备。铋硫醇盐溶液是通过将 3- 巯基丙酸添加至在 NH_4OH 中的柠檬酸铋来制备。在有力的搅拌下将硫化钠逐滴添加至铋硫醇盐溶液。将混合物进行过滤并且将产物进行冻干。将产物溶解在水性聚乙烯吡咯酮 (PVP) 中，并且针对水性聚氧化乙烯进行透析，生成 PVP 包覆的纳米颗粒。

[0360] e. 磷酸钙脂质体核 - 壳纳米复合物

[0361] 脂质体核 - 壳纳米复合物的制备是通过将大豆卵磷脂溶解在氯仿中、进行干燥以形成一种脂质薄膜来完成。然后使用经 HNO_3 调整至 pH2.4 的 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 和 $(NH_4)_2HPO_4$ 溶液来将干的脂质膜进行水合以形成脂质体。将囊泡悬浮液通过 emulsiflex-B3(奥维斯汀公司 (Avestin)，加拿大) 乳化十次。为了获得均匀大小的脂质体，然后将溶液通过具有

200nm 孔径的聚碳酸酯膜滤器 (Poretics 公司,美国) 来挤出。将该挤出重复 10 次。将悬浮液通过 Na^+ 离子交换柱以除去未包封的 Ca^{2+}。将 pH 用 NH_4OH 溶液调整至 10,该 NH_4OH 溶液由于氢氧化物到脂质体内部的缓慢扩散而驱使在脂质体内的沉淀过程。

[0362] f. 具有用于 CT 成像的、包入的金纳米颗粒的 PAMAM 的树枝状化合物

[0363] 将 $HAuCl_4$ 添加至包含种金纳米颗粒 (例如,2nm 颗粒) 的 PAMAM 树枝状化合物,在此之后立刻添加抗坏血酸并且反应 30min。由抗坏血酸的温和的还原作用稳固了在可以用于 CT 成像的树枝状化合物内金种 (gold seed) 生长至更大的金纳米颗粒。

[0364] g. 纳米颗粒是用于与 MR 或 PET 成像组合的 CT 成像的、PEG 聚合物包覆的金纳米颗粒

[0365] 根据两个以下实例,螯合剂是一种具有接头 (含硫醇基) 的以下项的衍生物,1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 -1,4,7,10- 四乙酸 (DOTA) 及其衍生物 ;1,4,8,11- 四氮杂环十四烷 (环拉胺) 及其衍生物 ;1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 (cyclen) 及其衍生物 ;1,4- 乙醇 -1,4,8,11- 四氮杂环十四烷 (et- 环拉胺) 及其衍生物 ;1,4,7,11- 四 - 氮杂环十四烷 (异环拉胺) 及其衍生物 ;1,4,7,10- 四氮杂环十三烷 ([13]aneN4) 及其衍生物 ;1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 -1,7- 二乙酸 (DO2A) 及其衍生物 ;1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 -1,4,7- 三乙酸 (DO3A) 及其衍生物 ;1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 -1,7- 二 (甲烷膦酸)(DO2P) 及其衍生物 ;1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 -1,4,7- 三 (甲烷膦酸)(DO3P) 及其衍生物 ;1,4,7,10- 四氮杂环十二烷 -1,4,7,10- 四 (甲烷膦酸)(DOTP) 及其衍生物 ;乙二胺四乙酸 (EDTA) 及其衍生物 ;二乙基三胺五乙酸 (DTPA) 及其衍生物 ;1,4,8,11- 四氮杂环十四烷 -1,4,8,11- 四乙酸 (TETA) 及其衍生物,或者其他的金刚烷及其衍生物。

[0366] h. 用于 CT 成像和 MR 成像的、PEG 聚合物包覆的金纳米颗粒

[0367] 金纳米颗粒是通过在有力搅拌下,将 $HAuCl_4$ 的溶液加热 10min(这是在将柠檬酸钠快速添加至溶液中之前进行) 用 PEG 包衣来合成。在将该溶液冷却后,添加一种适当长度的 MeO-PEG-SH(例如 PEG2000-SH) 连同一种硫醇衍生的螯合剂 (该螯合剂将结合一种可以使用 MR 成像来可视化的金属)。将该混合物搅拌 1 小时。添加 MR 成像剂,例如钆,并且将该溶液搅拌 1 小时。将 PEG 化的金纳米颗粒通过离心进行收集并且用 MQ 水进行洗涤。

[0368] i. 用于 CT 成像和 PET 成像的、PEG 聚合物包覆的金纳米颗粒

[0369] 金纳米颗粒是通过在有力搅拌下,将 $HAuCl_4$ 的溶液加热 10min(这是在将柠檬酸钠快速添加至溶液中之前进行) 用 PEG 包衣来合成。在将该溶液冷却后,添加一种适当长度的 MeO-PEG-SH(例如 PEG2000-SH) 连同一种硫醇衍生的螯合剂 (该螯合剂将结合一种可以使用 PET 成像来可视化的金属)。将该混合物进行搅拌 1 小时。将 PEG 化的金纳米颗粒通过离心进行收集并且用 MQ 水进行洗涤。添加在例如 PBS 缓冲液中的 PET 成像剂 (例如铜 (^{64}Cu)),并且将该溶液搅拌 30min。

[0370] 实例 III- 在本发明的方法中有用的、脂质包覆的纳米级颗粒的制备

[0371] 这个实例描述脂质包覆的纳米级颗粒的合成。

[0372] 步骤 1 :50nm 金纳米级颗粒 (AuNP) 的合成

[0373] 将玻璃器皿在王水 (HCl ： $HNO_3$3 ： 1) 中进行洗涤并且用 MilliQ 水进行广泛漂洗。

[0374] 将 $HAuCl_4x3H_2O$(125.2mg) 溶解在 MilliQ 水 (1.34L) 中,并且使用 0.1M 氢氧化钠

溶液将 pH 调整至 7。将在 MilliQ 水中的丙烯酸钠 (1.72g,446.7mL,41mM) 添加至调整 pH 的溶液中,将烧瓶短暂地进行漩涡并且放在室温 3-4 天。在这些天期间,酒红色缓慢发展。通过在紫外 - 可见光谱中的强度 (OD) 来监测该反应。将 AuNP 通过在 6500rpm 离心 10 分钟来进行浓缩。

[0375] 使用获得的 30nm 大小的 AuNP 作为种来生长 50nmAuNP。将玻璃器皿在王水 (HCl ： $HNO_3$3 ： 1) 中进行洗涤并且用 MilliQ 水进行广泛漂洗。将 $HAuCl_4x3H_2O$(64mg) 溶解在 MilliQ 水 (546mL) 中,并且使用 0.1M 氢氧化钠溶液将 pH 调整至 7。以 $1.17x10^{11}$ 纳米颗粒 /mL 的浓度添加 30nm 的种,随后添加丙烯酸钠溶液 (876.3mg,182mL,51.2mM),并且是在 2- 氨基乙烷硫醇的存在下 ($HAuCl_4$ ： 2- 氨基乙烷硫醇比率是 1 ： 1.3) 进行。使用的体积比是 (Au^{3+} ： Au^0 ：丙烯酸钠) ： (6 ： 2 ： 2)。将烧瓶短暂地进行漩涡并且放在室温下 3-4 天。经 DLS 通过颗粒的生长来监测反应。将 AuNP 通过在 7500rpm 离心 10 分钟来进行收集并进行洗涤。

[0376] 将获得的阳离子颗粒悬浮液添加至在 70℃被水合 60min 的、DSPC/DSPG/DSPE-PEG2000(70 ： 25 ： 5) 的脂质膜。将脂质金颗粒通过在 8500rpm 离心 10 分钟进行收集,并且使用这个程序通过更换上清液进行洗涤 3 次。

[0377] 参考文献

[0378] 1.Dawson LA,Sharpe MB.Image-guided radiotherapy :rationale,benefits,and limitations.Lancet Oncol.20060ct ;7(10) :848-58.

[0379] 2.Jaffray, DA ;JP Bissonnette, T Craig(1999)[1999]." X-ray Imaging for Verification and Localization in Radiation Therapy in Modern Technology of Radiation Oncology(suppl.1)" .Modern Technology of Radiation Oncology.Madison, WI :Medical Physics Pub

[0380] 3.Hainfeld JF,Slatkin DN,Focella TM,Smilowitz HM.Gold nanoparticles :a new X-ray contrast agent.Br J Radiol.2006Mar ;79(939) :248-53.

[0381] 4.Kim D, Park S, Lee JH, Jeong YY, Jon S.Antibiofouling polymer-coated gold nanoparticles as a contrast agent for in vivo X-ray computed tomography imaging.J Am Chem Soc.2007Jun20 ;129(24) :7661-5.

[0382] 5.Rabin O, Manuel Perez J, Grimm J, Wojtkiewicz G, Weissleder R.An X-ray computed tomography imaging agent based on long-circulating bismuth sulphide nanoparticles.Nat Mater.2006Feb ;5(2) :118-22.

[0383] 6.Chu M and Liu G.Preparation and characterization of hydroxoapatite/liposome core-shell nanocomposites.Nanotechnology16,2005,1208-1212.

[0384] 7.Haba Y, Kojima C, Harada A, Ura T, Horinaka H, Kono K.Preparation of poly(ethylene glycol)-modified poly(amido amine)dendrimers encapsulating gold nanoparticles and their heat-generating ability.Langmuir.2007May8 ;23(10) : 5243-6.

[0385] 8.Zheng J, Perkins G, Kirilova Am Allen C and Jaffray DA.Multimodal Contrast Agent for Combined Computed Tomo graphy and Magnetic Resonance Imaging Applications.Investigative Radiology41,2006,339-348.

[0386] 9.Chithrani, DB ;Dunne, M ;Stewart, J., Allen, C ;and Jaffray, DA.Cellular uptake and transport of gold nanoparticles incorporated in a liposomal carrier. Nanomedicine2010 ;6 :161-169.

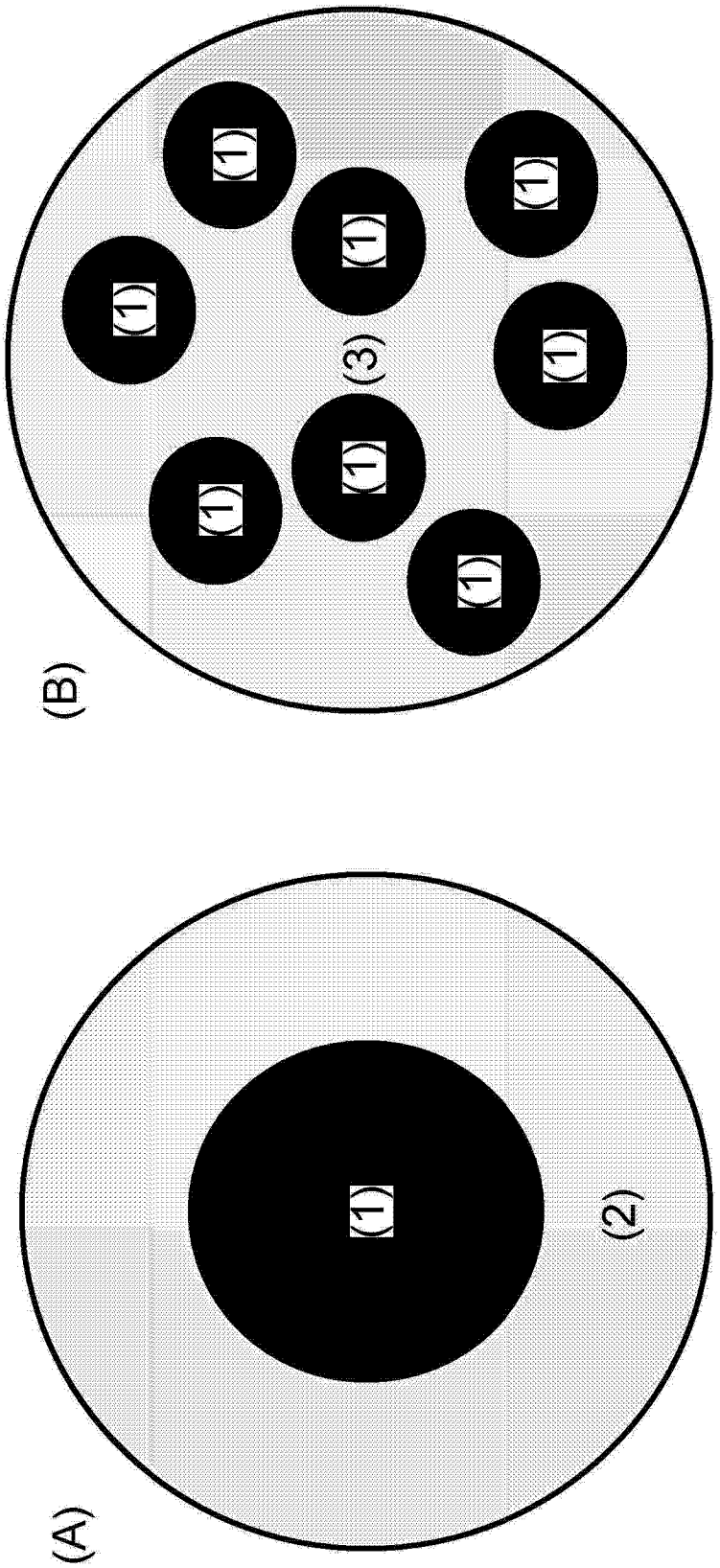


图 1