



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I500433 B

(45)公告日：中華民國 104 (2015) 年 09 月 21 日

(21)申請案號：098111303

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 04 月 03 日

(51)Int. Cl. : A61N5/06 (2006.01)

A61N5/10 (2006.01)

(30)優先權：2008/04/04 美國

61/042,561

(71)申請人：伊穆諾萊特公司(美國) IMMUNOLIGHT, LLC (US)

美國

公爵大學(美國) DUKE UNIVERSITY (US)

美國

(72)發明人：布克 弗端德瑞克 A 二世 BOURKE, FREDERIC A. JR. (US) ; 沃 迪恩 杜安

VO DINH, TUAN (US) ; 沃德 哈洛德 WALDER, HAROLD (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 6719778B1

US 2007/0218049A1

Sonia Kumar, Rebecca Richards-Kortum: Optical molecular imaging agents for cancer diagnostics and therapeutics. *Nanomedicine* 1(1), 23-30, 2006.

審查人員：蔡宇婷

申請專利範圍項數：146 項 圖式數：35 共 218 頁

(54)名稱

用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之醫藥組合物及套組

PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND KIT FOR MODIFYING A TARGET STRUCTURE WHICH MEDIATES OR IS ASSOCIATED WITH A BIOLOGICAL ACTIVITY

(57)摘要

本發明係關於用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構，包括治療由靶結構介導或與靶結構有關之病況、病症或疾病的產品、組合物、系統及方法，靶結構諸如病毒、細胞、亞細胞結構或胞外結構。該等方法可以原位非侵入方式藉由向個體施加起始能量，因此直接或經調節劑對靶結構產生作用或改變而進行。該等方法另可藉由視情況在一或多種電漿子活性劑(plasmonics active agents)存在下，向個體原位施加起始能量以直接或經能量調節劑活化醫藥劑，因此對靶結構產生作用或改變而進行。用於實踐此等方法之含有經調配或經組裝(configured)之產品或組合物的套組及系統。

Products, compositions, systems, and methods for modifying a target structure which mediates or is associated with a biological activity, including treatment of conditions, disorders, or diseases mediated by or associated with a target structure, such as a virus, cell, subcellular structure or extracellular structure. The methods may be performed in situ in a non-invasive manner by application of an initiation energy to a subject thus producing an effect on or change to the target structure directly or via a modulation agent. The methods may further be performed by application of an initiation energy to a subject in situ to activate a pharmaceutical agent directly or via an energy modulation agent, optionally in the presence of one or more plasmonics active

agents, thus producing an effect on or change to the target structure. Kits containing products or compositions formulated or configured and systems for use in practicing these methods.

(無元件符號說明)

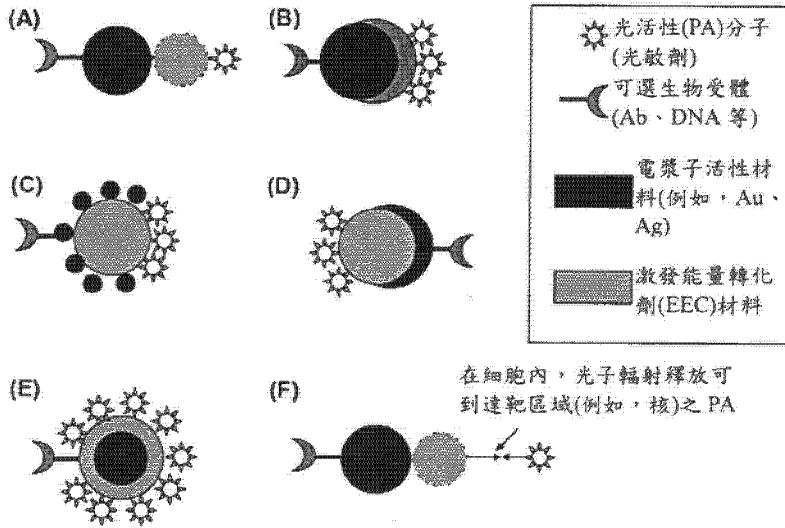


圖 15

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於用於治療個體之病症或病況之方法及系統，其在正常、健康細胞與彼等罹患病症或病況之細胞(下文稱為「靶細胞」)之間提供更好區別且較佳可使用非侵入性或最小侵入性技術進行。

本申請案係關於2007年11月6日申請之美國專利申請案11/935,655及2008年3月31日申請之12/059,484；2009年2月20日申請之美國專利申請案12/389,946及2008年4月4日申請之美國臨時專利申請案61/042,561，其全部內容係以引用的方式併入本文中。

【先前技術】

光生物調節

亦稱為低能量雷射療法(LLLT)、冷雷射療法及雷射生物刺激之光生物調節為新興醫學及獸醫技術，其中暴露於低能量雷射光可刺激或抑制導致有益臨床作用之細胞功能。波長、強度、持續時間及處理間隔的「最佳」組合為複雜的且有時因需要不同治療參數及技術的不同疾病、損傷及功能障礙而存在爭議。

特定強度之某些波長之光(由雷射、LED或另一單色源傳遞)將(例如)幫助組織再生、消炎、減輕疼痛及加強免疫系統。確切機制仍在探索及討論之中，但公認該機制為光化學機制而非熱相關機制。所觀測到之生物學及生理學效應包括細胞膜滲透性之變化，及三磷酸腺苷與氧化氮的上

調及下調。

所有光誘導之生物學效應視照射參數(波長、劑量、強度、照射時間、靶細胞深度及連續波或脈衝模式、脈衝參數)而定。(例如參見Karu IT, Low-Power Laser Therapy, in Biomedical Photonics Handbook, Vo-Dinh T. 編, CRC Press, Boca Raton, FL, 第48-1至48-25頁, (2003))。雷射平均功率通常在1-500 mW範圍;一些高峰值功率、短脈寬裝置在1-100 W範圍內,其通常具有200 ns脈寬。平均光束輻照度則通常為10 mW/cm²-5 W/cm²。波長通常在600-1000 nm範圍內。紅光至近紅外(NIR)區對於光生物調節而言為較佳的。亦可使用其他波長,例如用於神經元之UV光,及用於前列腺組織之綠光。當在620、680、760及820-830 nm下照射時發生最大生物學反應(Karu TI等人, (1998). The Science of Low Power Laser Therapy. Gordon and Breach Sci. Publ., London)。大量及相對較深組織層僅可由雷射成功照射(例如,內耳及中耳疾病、損傷之坐骨神經或視神經、發炎)。LED用於照射表面損傷。

感光器(photoacceptor)必需首先吸收用於照射之光。在促進電子激發態之後,此等能態之第一分子過程可在細胞層次上產生可量測之生物效應(經第二生物化學反應,或光信號傳導級聯,或細胞信號傳導)。可信紅色至NIR區之真核細胞的感光器為位於細胞粒線體中之呼吸鏈細胞色素c氧化酶的末端轉移酶(terminal enzyme)。在紫色至藍色光譜區中,黃素蛋白(例如,呼吸鏈開頭之NADH脫氫酶)亦

為感光器。

光生物調節之臨床應用包括(例如)治療軟組織及骨骼損傷、慢性疼痛、傷口癒合、神經再生、感觀再生/恢復及甚至可能解決病毒及細菌感染、治療神經病及精神病(例如，癲癇症及帕金森氏症(Parkinson's disease))(例如，Zhang F.等人，Nature, 446:617-9 (2007年4月5日；Han X.等人，PloS ONE, 2(3):e299 (March 21, 2007)；Arany PR等人，Wound Repair Regen., 15(6):866-74 (2007)；Lopes CB等人，Photomed. Laser Surg., 25(2):96-101 (2007))。一種顯示重大前景之臨床應用為治療發炎，其中局部且劑量特異性雷射的消炎作用產生類似於NSAID之結果，但不具有潛在有害副作用(Bjordal JM, Couppé C, Chow RT, Tunér J, Ljunggren EA (2003). 「A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders」. The Australian journal of physiotherapy 49(2):107-16)。

NIR光處理可防止培養之神經元(大腦)細胞中細胞死亡(細胞凋亡)(Wong-Reiley MT等人，JBC, 280(6):4761-71 (2005))。特定波長之光可促進細胞增殖以活化粒線體，粒線體為細胞內經細胞色素c氧化酶產生能量之細胞器。NIR處理可增加粒線體功能且刺激抗氧化劑保護路徑。NIR處理可增加粒線體功能且刺激抗氧化劑保護路徑的證據來自使用帕金森氏症(PD)實驗室模型(人類多巴胺能神經元細胞培養物)進行之光生物調節實驗(Whelan H.等人，SPIE,

Newsroom，第1-3頁(2008))。

亦已顯示光對赤潮鞭毛蟲(red tide flagellate)、古老卡盾藻(*Chattonella antique*)的細胞生長及分化具有誘導及抑制作用(Nemote Y., *Plant and Cell Physiol.*, 26(4):669-674 (1985))。

當興奮性細胞(例如，神經元、心肌細胞)以單色可見光照射時，亦成信感光器為呼吸鏈之組件。此由照射可經線粒體吸收引起無色素興奮性細胞的生理學及形態學變化的實驗資料(Karu, T.I., (2002). *Low-power laser therapy*. In: *CRC Biomedical Photonics Handbook*, T. Vo-Dinh, Editor-in-Chief, CRC Press, Boca Raton (USA))清晰可見。隨後，以神經元以及低功率雷射療法進行類似照射實驗。在80年代已顯示He-Ne雷射輻射改變神經放電模式；亦已發現以HeNe雷射經皮照射會模擬行為反射的外周刺激作用。發現此等研究結果與疼痛療法有關(Karu TI等人，(2002))。

當感光器吸收光子時，發生自較低激發態(第一單重態及三重態)產生的電子激發，繼之以光化學反應。亦已知吸收中心的電子激發會改變其氧化還原特性。至今，已在文獻中論述5種主要反應(Karu TI等人，(2002))。其中兩者與改變氧化還原特性有關且兩個機制涉及產生反應性氧物質(ROE)。同樣，有可能誘導吸收發色團的局部瞬時(極短時間)加熱。此等機制之細節可見於(Karu TI等人，(2002)；Karu TI等人，(1998). *The Science of Low Power Laser Therapy*. Gordon and Breach Sci. Publ., London)中。

咸信經呼吸鏈之活化產生之光生物學作用為細胞中存在之一般機制。由於細胞氧化還原電位向更多氧化之方向遷移以及由於ATP額外合成而發生此類型之細胞新陳代謝活化之關鍵事件。對照射之敏感性及活化之能力視所照射細胞之生理學狀態而定：總氧化還原電位向更多還原態遷移之細胞(實例：一些病理學狀況)對照射較敏感。並非在呼吸鏈中第一反應之層次下而是在細胞信號傳導級聯期間轉錄層次下測定最終光生物學反應之特異性。在一些細胞中，此機制僅發生細胞新陳代謝的部分活化(實例：淋巴細胞的氧化還原引發)。

遠紅外及NIR輻射已顯示促進傷口癒合(例如，感染、缺血性及低氧性傷口)(Wong-Reley, WTT, JBC, 280(6):4761-4771 (2005))。紅色至NIR輻射亦在甲醇毒性之齧齒動物模型中保護視網膜免於甲醇產生之甲酸的毒性作用且可增強自視網膜損傷及其他眼病(其中假設粒線體功能障礙起作用)之恢復(Eells JT., PNAS, 100(6):3439-44 (2003))。光生物調節的其他臨床應用為藉由IR雷射照射修復軟組織及骨骼組織(Martinez ME等人, Laser in Med. Sci., 2007)。侵入性雷射輔助之吸脂術為新近研發之方法，其中將雷射光纖經管子引入至皮膚中且直接引入至脂肪細胞，從而使細胞破裂且將其以液體形式排去(Kim KH, Dermatol. Surg., 32(2):241-48 (2006))。該區域周圍之組織凝固。同樣，光生物調節之另一應用為非手術性靜脈曲張治療(一種靜脈內雷射療法)，其中雷射穿過切口及整個靜脈曲張長度

(Kim HS, J. Vasc. Interv. Radiol., 18(6):811 (2007))。當雷射緩慢抽出時，向靜脈壁施加熱，使靜脈永久關閉且消失。

諸如雷射之技術進步已重新定義肥大前列腺的手術治療。綠光雷射為使肥大前列腺組織蒸發及移除之雷射(Heinrich E., Eur. Urol., 52(6):1632-7 (2007))。雷射光顏色(綠色)的重要性在於此導致由包含於紅血球內之血色素吸收而不是由水吸收。該程序亦可稱為雷射前列腺切除術或雷射經尿道前列腺切除術(TURP)。該技術涉及以雷射顯示肥大的前列腺直至到達前列腺被膜。藉由解除前列腺此部分，患者能經前列腺中完全敞開之通道更容易地排泄。該程序必需在全身或脊髓麻醉下進行。該程序之優勢為即使服用血液稀釋劑(例如，用於防止中風之阿司匹林(aspirin))之患者亦可受到治療，因為此相較於傳統手術出血較少。

此外，光生物調節之另一應用領域為以光直接控制腦細胞活性。該技術係基於NIR光譜學且比其他方法(諸如，功能性磁共振成像及正電子發射斷層攝影術)易於使用且成本低。

只要一大腦區域受活化，則彼大腦部分使用更多氧。此技術藉由量測大腦中的血流及耗氧量起作用。NIR雷射二極體發射之光經光纖運送至個體頭部。光穿透顱骨，在此處評定大腦氧含量及血容量。散射之光接著藉由光纖收集，發送至偵測器且由電腦分析。藉由檢驗散射了多少光

及吸收了多少光，可繪製出大腦之各部分及關於大腦活動的確切資訊。藉由量測散射，可測定神經元在何處放電。此意謂科學家可同時偵測血流灌注及神經活動兩者。該技術可用於許多診斷、預測及臨床應用中。舉例而言，該技術可用於發現兒童體內之血腫、研究睡眠呼吸暫停期間大腦中之血流及以每日或甚至每小時為基礎監測恢復之中風患者(此對MRI而言不切實際)。為了驗證該技術，比較由NIR光譜及功能性MRI同時獲得之大腦中的血色素氧濃度(當前大腦研究中之「黃金標準」)。兩方法皆用於產生手指運動及休息的週期性刺激序列期間大腦運動皮質的功能性作圖。已證明與手指運動有關的運動皮質中血色素信號與MRI信號之間的空間疊合。研究者亦證明大腦活動引起之血色素氧含量與散射變化之間的搭配。與快速神經元信號有關之散射變化來自完全相同之位置。

低強度雷射光-氧癌症療法為光生物調節的另一應用。涉及藉由直接光激發溶解於生物系統中之分子氧使其轉化為單態(亦即，藉由自溶解於細胞中之 O_2 光產生分子單態氧)以低光學劑量之光學輻射來活化或破壞生物系統的光-氧效應(LOE)類似於光動力學效應(Zakharov SD等人，Quantum Electronics, 29(12):1031-53 (1999))。顯示He-Ne雷射輻射可在存在或不存在光敏劑之狀況下破壞腫瘤細胞。LOE可由與光動力學效應(PDE)形式之熟悉類似物進行比較時發現之彼等劑量低4-5個數量級的小光學劑量活化。

使用「經遮罩」分子及光敏蛋白質的光生物刺激作用

此類型之光生物調節法分為兩種一般類別：一組方法使用光釋放接著變得具有生物化學活性而與下游效應子結合之化合物。舉例而言，此方法涉及向樣本施用「經遮罩」化學品且接著使用光打開遮罩來激活反應。經修飾麩胺酸適用於發現神經元之間的激發性連接，因為釋放之麩胺酸模擬一種彼此碰撞之神經元的天然突觸活動。此方法用於使用(例如)雙光子麩胺醯胺釋放闡明大腦切片中之神經元功能及成像(Harvey CD等人，Nature, 450:1195-1202 (2007)；Eder M等人，Rev. Neurosci., 15:167-183 (2004))。其他信號傳導分子可由UV光激發釋放，例如GABA、第二信使(例如， Ca^{2+} 及 Mg^{2+})、碳醯膽鹼(carbachol)、辣椒鹼及ATP(Zhang F等人，2006)。

另一主要光刺激法為使用光來活化諸如視紫質(ChR2)之光敏蛋白質，該蛋白質接著可激發表現視蛋白之細胞。

已顯示通道視紫質-2(含有光感測器及陽離子通道之單塊蛋白)提供適當速度及量值之電激發來活化神經元放電(neuronal spike firing)。最近，藉由應用諸如光活化之氯離子泵鹵視紫質的分子進行神經控制使光抑制(以光抑制神經活動)變得可行。總之，藍光活化之通道視紫質-2及黃光活化之氯離子泵鹵視紫質使得能夠多重色彩、光學活化及默化神經活動。

ChR2光刺激涉及使ChR2遺傳靶向神經元及光脈衝表現ChR2蛋白之神經元。已藉由使用光纖將光傳遞至下視丘

外側部 (lateral hypothalamus) 的活體內深部腦光刺激對小鼠進行活體外及活體內實驗 (Adamantidis AR 等人, Nature 450:420-425 (2007))。ChR2 的遺傳靶向允許獨佔式刺激限定細胞子集且無需添加便於活體內光刺激之遮罩麩胺酸 (Wang H. 等人, PNAS, 104(19):8143-48 (2007))。ChR2 光刺激已用於恢復視覺受損之小鼠的視力活動, 喚起蠕蟲及蠅類的行為反應 (Wang H. 等人, 2007)。小鼠體內由 ChR2 輔助之光刺激誘導之強關聯學習使活體內研究知覺及認知的電路基礎成為可能 (Huber D. 等人, 2007)。此類神經元靶向及刺激可具有臨床應用, 例如深部腦刺激治療帕金森氏症及其他病症, 控制行為、知覺及認知特徵及使大腦如何工作成像及研究大腦如何工作 (Zhang F. 等人, Nature Methods, 3(10):785-792 (2006); Wong-Riley MT. 等人, JBC, 280(6):4761-4771 (2005))。

自稱為古細菌 (archaebacterium) 之微生物借用之另一基因 (即氯離子泵 (NpHR)) 可使神經元在存在黃光之狀況下活性較小。兩個組合之基因 ChR2 及 NpHR 現可使神經元像司機服從交通號志一樣服從光脈衝: 藍色意謂「通行」(發信號), 且黃色意謂「停止」(不發射)。

可經多種技術將光敏蛋白質引入至細胞或活個體中, 包括電穿孔、DNA 顯微注射、病毒傳遞、脂質轉染及磷酸鈣沈澱。

第三種光刺激技術為對離子通道及受體進行化學改質以賦予其光反應性。細胞中多數基本信號傳導機制中的一些

涉及Ca²⁺離子的釋放及攝取。Ca²⁺與控制受精、分化、增殖、細胞凋亡、突觸可塑性、記憶及軸突發育有關。已顯示可藉由UV照射(單光子吸收)及NIR照射(雙光子吸收)釋放遮罩之Ca²⁺、胞外嘌呤能信使InsP3(Braet K.等人, Cell Calcium, 33:37-48 (2003))或離子通道配位體(Zhang F.等人, 2006)誘導Ca²⁺波。

以光直接控制腦細胞活性為以神經迴路進行實驗之新穎方式且可導致一些病症的治療。此成果為針對以毫秒時標繪製神經迴路動力學之目標的步驟，以觀察此等動力學之減損是否為嚴重精神病症狀之基礎。瞭解不同神經元所具有之作用可最終幫助研究者弄清健康及不健康腦迴路之運作方式。若該技術之用途可顯示特定種類神經元的活性改變為症狀之基礎，則(例如)此見解將允許發展靶向遺傳或醫藥治療以固定彼等神經元。令人信服地，以光直接控制神經元活動本身有朝一日可成為治療方法。

在活生物體中，科學家能夠使蠕蟲(線蟲(*C. elegans*))在其遺傳改變之運動神經元暴露於經顯微鏡強化之黃光脈衝時停止遊動。在一些實驗中，暴露於藍光使蠕蟲以未受擾時不移動之方式擺動。當將光關掉時，蠕蟲恢復其正常行為。

同時，在自小鼠提取之活大腦組織中進行的實驗中，研究者能夠使用該技術使神經元如其天然行為一般以毫秒時標發信號或停止。其他實驗顯示細胞看似未因暴露於光而經受有害效應。其在暴露結束後恢復其正常功能。

光學神經元控制的最直接應用為以神經迴路進行實驗來測定不健康迴路為何失敗及健康迴路如何運作。

在患有帕金森氏症之患者體內，(例如)研究者已顯示細胞的電「深部腦刺激」可幫助患者，但未確切知道原因。藉由使研究者選擇性地刺激或阻抑大腦中之不同神經元，光刺激技術可幫助測定哪一個特定神經元受益於深部腦刺激。此可導致進行電治療，該電治療具有一些非所要副作用，但更具靶向性。

另一潛在應用為以刺激神經通訊(neural communication)進行實驗。因為神經元藉由產生時開時關之信號模式(如二進位電腦碼-0s及1s)通訊，所以在此等模式中閃爍藍光及黃光可強迫神經元發射與實時神經指令對應之訊息。將來，此可允許研究者測試及調整複雜神經元行為。更進一步而言，人工刺激神經信號(諸如，運動指令)之能力可使醫生橋接受損脊柱中之阻塞，或許可使癱瘓患者之肢體恢復一些功能。

最終，該技術可適用於測試出健康大腦的大量未知功能。

LLLT、冷雷射療法及雷射生物刺激之問題

目前用於生物刺激之雷射系統不允許在無手術侵入狀況下在密集組織深處之區域中進行光生物調節。雷射療法多數在表面或近表面靶細胞及組織中進行，因為用於光生物調節及光生物刺激之UV及紅色至NIR輻射的穿透不超過皮膚表面下幾公分。此外，腦細胞的成像及刺激主要可能在

薄大腦切片，或細胞之薄單層或懸浮液中。對於較深組織之原位雷射療法而言，個體經歷各種侵入性手術程序，例如經進入脂肪層或靜脈之切口侵入性插入光纖、向深處組織中植入輻射源或在桶狀皮質上方植入玻璃觀察窗(Huber D.等人，Nature, 451:61-66 (2007))。進一步公認，與現有光生物調節法有關之另一問題在於正常細胞與靶細胞的區別。

光照治療術

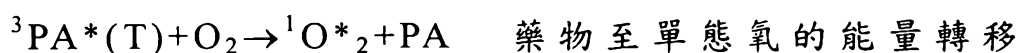
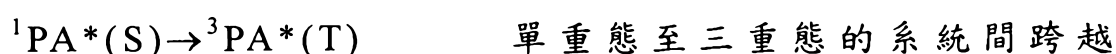
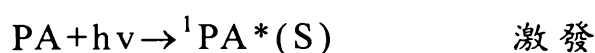
光照治療術中存在兩種主要類型之反應：

- (1) I型反應涉及在光活性分子(亦稱為光敏劑)與基質或溶劑分子之間轉移的電子及氫原子。氧可參與隨後反應：例如，光除去法(photopheresis)及PUVA中之補骨脂素。
- (2) II型反應涉及藉由自最低三重態PA分子向基態氧的能量轉移形成單態氧：例如，光動力學療法(PDT)。

光動力學療法(PDT)為使用光敏劑及雷射光殺死細胞之治療模態。PDT為相對新穎的基於光之治療，其最近已由美國食品及藥品管理局(United States Food & Drug Administration, FDA)批准用於治療早期及晚期肺癌。其他國家亦已批准PDT用於治療各種癌症。與化學療法、輻射及手術不同，PDT適用於治療不管為小細胞或為非小細胞癌之所有細胞類型。PDT涉及對特定光活性類藥物之光作用藉由活體內光動力學作用破壞或改變組織來治療諸如癌症之疾病 [Dougherty T.J.及 Levy J.G., 「Photodynamic

Therapy and Clinical Applications」, in **Biomedical Photonics Handbook**, Vo-Dinh T. 編, CRC Press, Boca Raton FL (2003)]。最初由各種癌症的治療發展而來之PDT現已用於治療(包括)癌前病況(例如,日光性角化症(actinic keratose)、巴瑞特氏食道症之高度發育不良現象(high-grade dysplasia in Barrett's esophagus))及非癌病況(例如,各種眼病,例如年齡相關之黃斑變性(AMD))。已批准用於各種癌症(肺、食道)及AMD之光動力學療法(PDT)在全世界範圍商業化。

PDT法需要三個要素:(1)PA藥物(亦即,光敏劑)、(2)可激發光敏劑之光及(3)內源氧。假定之細胞毒性劑為單態氧,根據II型光化學法如下形成之基態三態氧之電子激發態。



其中PA=基態之光活性藥物; ${}^1PA^*(S)$ =激發之單重態;

${}^3PA^*(T)$ =激發之三重態; ${}^1O^*_2$ =氧的單重激發態

因為三重態具有相對長的壽命(微秒至秒),所以僅與激發三重態經歷有效系統間跨越之光敏劑將具有充分時間與氧碰撞從而產生單態氧。基態與單態氧之間的能量差為94.2 kJ/mol且對應於近紅外中約1270 nm之躍遷。臨床使用中之多數PA光敏劑具有40-60%範圍內之三重態量子產率,其中單態氧產率略微較低。競爭過程包括藉由螢光或

內部轉化失活至基態的能量損失(向環境或周圍介質中損失能量)。

然而，儘管需要高產量之單態氧，但其決不足以使光敏劑臨床適用。藥物動力學、藥效學、活體內穩定性及可接受之毒性亦起關鍵作用 [Henderson BW, Gollnick SO, 「Mechanistic Principles of Photodynamic Therapy」, in *Biomedical Photonics Handbook*, Vo-Dinh T. 編, CRC Press, Boca Raton FL(2003)]。舉例而言，在腫瘤或所治療之其他組織中需要具有相對於亦將必然暴露於激發光中之正常組織的相對選擇性攝取。藥效問題(諸如光敏劑的亞細胞位置)可能為重要的，因為某些細胞器看似比其他細胞器(例如，粒線體)對PDT破壞更敏感。若需要高劑量之光敏劑以獲得對治療的完全反應，則毒性可能成為問題。與PDT藥物活性有關之重要機制涉及細胞中之細胞凋亡。在吸收光後，光敏劑(PS)起始化學反應，導致直接或間接產生諸如自由基及單態氧之細胞毒性物質。細胞毒性物質與亞細胞細胞器及高分子(蛋白質、DNA等)的反應導致接收PDT藥物之細胞的細胞凋亡及/或壞死。PDT藥物分子在癌細胞中之優先累積與向腫瘤局部傳遞光組合，導致選擇性破壞癌病灶。相較於其他慣用抗癌療法，PDT不涉及普遍破壞健康細胞。除了直接殺死細胞之外，PDT亦可作用於維管結構，減少流向腫瘤之血流，使腫瘤壞死。在特定狀況中，其可用作手術的較少侵入性替代。

存在若干種用於PDT之化學物質，包括基於卟啉之敏化

劑。純血卟啉衍生物(Photofrin®)已獲美國食品及藥品管理局批准。卟啉一般用於皮膚上或皮膚下或內臟襯裏或空腔上之腫瘤，因為此等藥物分子吸收波長短於640 nm之光。對於存在於組織深處之腫瘤而言，已研究出具有NIR區中之吸收率的第二代敏化劑，諸如基於卟啉之系統[R.K. Pandey, 「*Synthetic Strategies in designing Porphyrin-Based Photosensitizers*」, in *Biomedical Photonics Handbook*, Vo-Dinh T. 編, CRC Press, Boca Raton FL (2003)]、氯、酞菁及萘酞菁。

PDT在腫瘤中保留若干種光敏劑歷時長於在正常組織中之時間，因此提供潛在治療選擇性改良。參見Comer C., 「Determination of [3H]-and[14C] hematoporphyrin derivative distribution in malignant and normal tissue,」 *Cancer Res* 1979, 39:146-151；Young SW等人，「Lutetium texaphyrin (PCI-0123) a near-infrared, water-soluble photosensitizer,」 *Photochem Photobiol* 1996, 63:892-897；及Berenbaum MC等人，「Meso-Tetra (hydroxyphenyl)porphyrins, a new class of potent tumor photosensitisers with favorable selectivity,」 *Br J Cancer* 1986, 54:717-725。光動力學療法使用特定波長之光使光敏劑活化。已針對PDT研發各種光源，包括染料雷射及二極體雷射。雷射產生之光可與將光傳輸至所要部位的光纖耦合。參見Pass 1-11, 「Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use,」 *J Natl Cancer*

Inst 1993, 85:443-456。據研究者稱，PDT之細胞毒性效應為光氧化反應之結果，如 Foote CS, 「Mechanisms of photooxygenation,」 Proa Clin Biol Res 1984, 170:3-18中所揭示。光在氧存在下激發光敏劑產生各種毒性物質，諸如單態氧及羥基自由基。未明確對DNA之直接破壞為主要作用；因此，此可表明DNA交聯之光活化未得以有效刺激。

此外，當經由組織表面的外部照明投與雷射光時，PDT之治療作用限於幾毫米(亦即，表層)。此表層限制之原因主要為用於使光敏劑活化之可見光的有限穿透。因此，使用PDT處理關鍵器官(諸如，肺或腹內器官)之表面而不會損壞底層結構。然而，甚至此等治療都需要顯著侵入性技術來處理受影響器官之表面。臨床狀況使用該程序以及縮小腫瘤體積之手術來破壞細微或最小格羅斯病(gross disease)的殘餘物。雷射光及少量殘餘細微及最小格羅斯病有可能導致極少或過度損壞之結構。臨床前資料顯示產生一些免疫反應，但臨床試驗報導未產生類似於臨床條件中體外光除去法所產生之自體疫苗作用。此外，免疫反應看似僅在有限條件下劇烈且僅經歷有限持續時間。

PDT在腫瘤中保留若干種光敏劑歷時長於在正常組織中之時間，因此提供潛在治療選擇性改良。參見Comer C., 「Determination of [3H]-and [14C] hematoporphyrin derivative distribution in malignant and normal tissue,」 Cancer Res 1979, 39:146-151；Young SW等人，「Lutetium texaphyrin (PCI-0123) a near-infrared, water-

soluble photosensitizer,」 Photochem Photobiol 1996, 63:892-897；及Berenbaum MC等人，「Meso-Tetra (hydroxyphenyl) porphyrins, a new class of potent tumor photosensitisers with favorable selectivity,」 Br J Cancer 1986, 54:717-725。光動力學療法使用特定波長之光使光敏劑活化。已針對PDT研發各種光源，包括染料雷射及二極體雷射。雷射產生之光可與將光傳輸至所要部位的光纖耦合。參見 Pass 1-11, 「Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use,」 J Natl Cancer Inst 1993, 85:443-456。據研究者稱，PDT之細胞毒性效應為光氧化反應之結果，如 Foote CS, 「Mechanisms of photooxygenation,」 Proa Clin Biol Res 1984, 170:3-18中所揭示。光在氧存在下激發光敏劑產生各種毒性物質，諸如單態氧及羥基自由基。未明確對DNA之直接破壞為主要作用；因此，此可表明DNA交聯之光活化未得以有效刺激。

光除去法已成功用於治療細胞增殖病症。例示性細胞增殖病症可包括(但不限於)癌症、細菌感染、器官移植的免疫排斥反應、實體腫瘤、病毒感染、自體免疫病症(諸如，關節炎、狼瘡、發炎性腸病、休格連氏症候群(Sjogrens syndrome)、多發性硬化症)或其組合，以及細胞增殖相對於健康細胞較低之再生不能性病況(諸如，再生障礙性貧血)。其中，癌症或許最為人所熟知。

PDT的其他成功應用為(例如)心臟消融(cardiac ablation)療法，例如治療咸信為腦中風的重要原因之心律不整及心

房微顫。

U.S. 6,811,562描述投與光可活化劑且使用侵入性技術(例如,光纖元件)使含有所投與藥劑之心臟組織經受波長為350至700 nm之雷射照射。

同樣,PDT之另一應用為用於動脈疾病(包括重生動脈粥樣硬化及再狹窄)之光血管成形術(Rockson AG等人,Circulation, 102:591-596 (2000); Hsiang YN等人,J. Endovasc. Surg., 2:365-371 (1995))。在人類臨床應用中,血管內光(730 nm)在靜脈內投與莫特沙芬鑷(motexafin lutetium)之後經圓柱形纖維傳遞。PDT亦用於活體內預防及治療血管中之內膜增生(例如參見U.S. 6,609,014)。

年齡相關之黃斑變性(AMD)為新失明之起因。脈絡膜新血管形成導致多種眼病中之出血及纖維化。習知治療利用氬雷射器藉由熱凝固使洩漏血管閉合。然而,符合此治療條件之患者的百分比有限。PDT用於治療AMD且涉及注射維替泊芬(verteporfin),隨後應用692 nm下之非熱光。

1937年首次報導使用具有血嘧啶之PUVA改良牛皮癬斑塊及丘膿皰(palmopustular)牛皮癬的臨床外觀。痤瘡、禿頭症、葡萄酒色斑(portwine stain)及脫毛亦顯示以PDT治療之希望。

療法的選擇一般視病症之位置及嚴重程度、疾病階段以及患者對治療之反應而定。

儘管一些治療可能僅設法控制及緩解病症的症狀,但任何有效療法之最終目標為完全移除或治癒所有患病細胞而

不破壞身體其餘部分。

在一稱為體外光除去法(ECP)之現有治療中，自其1988年由FDA最初批准以來已觀測到極佳結果。

體外光除去法為美國食品及藥品管理局已批准用於治療皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)之基於白細胞去除術之免疫調節劑療法。在全世界超過150個中心針對多種適應症進行亦稱為體外光化學療法之ECP。自許多調查員獲得長期隨訪資料，表明ECP產生疾病緩解且改良CTCL患者的存活率。除了CTCL之外，ECP已顯示對治療其他T細胞介導之病症具有功效，包括慢性移植物抗宿主疾病(GVHD)及實體器官移植排斥。亦開發用於治療自體免疫疾病(諸如，全身性硬化症及類風濕性關節炎)之ECP。

ECP一般使用Therakos, Inc(Exton, Pa)研發之UVAR XTS光除去法系統進行。該方法經一個靜脈內進入孔進行且具有3個基本階段：(1)白細胞去除術，(2)光活化，及(3)再輸注，且歷時3-4小時結束。典型治療期將類似於以下事件順序：

(1) 在患者體內建立一個16號靜脈管(peripheral intravenous line)或中心靜脈通路；

(2) 視患者血球比值及體型而定，使血液(225 mL)通過3次白細胞去除術循環，或使125 mL血液通過6次循環。在各白細胞去除術循環結束時，使紅血球及血漿返回至患者；

(3) 將收集之WBC(包括約5%外周血單核細胞)與肝素、

生理食鹽水及8-甲氧基補骨脂素(8-MOP)混合，將其在暴露於UVA光後插入淋巴細胞之DNA中且使其在暴露於UVA輻射時更易於發生細胞凋亡；

(4)使混合物以1 mm膜形式通過UVA燈包圍之無菌盒，導致 2 J/cm^2 的平均UVA暴露；且

(5)使經處理之WBC混合物返回至患者。

在過去的20年中，進行之研究已探索ECP的作用機制。8-MOP與UVA輻射之組合使經處理之T細胞發生細胞凋亡且可優先使經活化或異常T細胞發生細胞凋亡，因此靶向CTCL或GVHD之病原細胞。然而，因為僅小百分比之身體淋巴細胞經處理，所以此看似不可能為僅有之作用機制。

其他證據表明ECP亦誘導單核細胞分化為能吞噬及處理細胞凋亡T細胞抗原之樹突狀細胞。當此等經活化樹突狀細胞再輸注入全身循環時，其可針對經加工細胞凋亡T細胞抗原引起全身性細胞毒性 CD8^+ T淋巴細胞介導之免疫反應。

最終，動物研究表明光除去法可誘導抗原特異性調節T細胞，其可導致對同種異體移植排斥或GVHD的抑制。

然而，仍存在許多ECP之限制。舉例而言，ECP需要患者在每次治療時與機器連接數小時。需要建立外周靜脈管或中心靜脈通路，此在某些疾病狀態(諸如，全身性硬化症或關節炎)中難以進行。在靜脈或中心管部位或在中心管套管中亦存在感染風險。此外，通常需要自患者移除數百毫升全血，因此該治療限於具有足夠大初始血容量供抽

取之患者。美國血庫協會(American Association of Blood Bank)推薦15%患者全身血容量之體外容量的限度。因此，可處理之容量大小一般必需為至少40 kg或40 kg以上。亦關注由於暴露於污染操作系統而感染血液傳染之病原體(肝炎、HIV等)之風險。

或者，患者可經光敏劑活體內處理，隨後自患者抽取樣本，以活體外(離體)UV輻射處理且將經處理之樣本再注入患者體內。已知此方法用於產生自體疫苗。未描述以光敏劑處理患者、使患者暴露於能源且產生自體疫苗作用之方法，其中所有步驟均活體內進行。參見WO 03/049801；U.S. 6,569,467；U.S. 6,204,058；U.S. 5,980,954；U.S. 6,669,965；U.S. 4,838,852；U.S. 7,045,124及U.S. 6,849,058。此外，體外光除去法之副作用為熟知的且包括噁心、嘔吐、皮膚紅斑、陽光過敏及繼發性惡性血液病。研究者嘗試在患有心臟、肺及腎臟同種異體移植排斥；自體免疫疾病及潰瘍性結腸炎之患者的實驗治療中使用光除去法。

已知治療法之調查揭示此等方法通常由於產生已知非選擇性攻擊細胞之單態氧，以及需要離體或經高度侵入性程序(諸如，手術程序)進行處理以到達個體體內超過幾公分深之組織而傾向於面臨之主要困難為在給予治療時區分正常細胞及靶細胞。

U.S. 5,829,448描述以低能量光子(諸如，紅外或近紅外光(NRI))照射依序及同時雙光子激發光活性劑(photo-

agent)。針對補骨脂素衍生物比較單光子及同時雙光子激發，其中細胞以光活性劑處理且以NRI或UV輻射照射。此專利表明以低能量照射處理為有利地，因為其比UV輻射吸收及散射的程度低。然而，已知使用NRI或UV輻射僅穿透組織幾公分之深度。因此，個體體內之任何治療深度將必需使用離體方法或高度侵入性技術以使照射源到達所關注之組織。同樣，此專利未描述發射除UV、可見光及近紅外能量外之能量的起始能源；除對應於UV及IR光範圍之外的能量升級，及高能量至低能量之降級。

Chen 等人，J. Nanosci. and Nanotech., 6:1159-1166 (2006)；Kim 等人，JACS, 129:2669-2675 (2007)；U.S. 2002/0127224；及U.S. 4,979,935各自描述使用各種類型之能量活化個體體內之藥劑的治療方法。然而，各自經歷治療視待對所處理組織產生所要作用之單態氧產量而定之缺點且因此對於影響健康細胞及需要處理之患病組織而言無顯著區別。

美國專利第6,908,591號揭示以照射使組織滅菌從而降低一或多種活性生物學污染物或病原體(諸如，病毒、細菌、酵母、黴菌、真菌、孢子、朊病毒或單獨或組合造成可傳輸海綿狀腦病之類似因子)及/或單細胞或多細胞寄生物的含量，使得組織可隨後用於移植以置換動物體內之患病及/或其他缺陷組織之方法。該方法可包括使用諸如補骨脂素、補骨脂素衍生物或其他光敏劑之敏化劑以改良照射效力或減少使組織滅菌所需之暴露。然而，該方法不適

於治療患者且未間接教示任何激發光敏劑之機制。

美國專利第5,957,960號揭示投與光動力學療法以使用具有紅外或近紅外波帶之光處理患者身體內之部位的雙光子激發裝置。然而，參考案未能揭示使用能量調節劑的任何光活化機制，該能量調節劑將起始能量轉化為使可活化醫藥劑活化之能量且亦使用其他能量波帶(例如，X射線、 γ 射線、電子束、微波或無線電波)。

美國專利第6,235,508號揭示補骨脂素及其他光可活化分子的抗病毒應用。其教示使來自生物溶液之病毒及細菌污染物失活之方法。該方法包括使血液與光敏劑及阻斷劑混合且照射混合物以激發光敏劑，大體上使血液中的所有污染物失活而不破壞紅血球。阻斷劑防止或降低光敏劑在不存在阻斷劑狀況下將產生之有害副反應。根據該參考案，阻斷劑作用模式主要不在於猝滅任何反應性氧物質。

同樣，美國專利第6,235,508號表明鹵化光敏劑及阻斷劑可適於置換光除去法及某些增生性癌症(尤其可經光纖燈裝置到達之實體局限性腫瘤或表面皮膚癌)治療中之8-甲氧基補骨脂素(8-MOP)。然而，該參考案未能提出任何用於治療淋巴腫瘤或任何其他癌症之特異性分子。換言之，該參考案提出用於對生血及血漿進行抗病毒治療之光除去法。

美國專利第6,235,508號教示8-MOP及4'-胺基甲基-4,5',8-三甲基補骨脂素(AMT)及許多其他光可活化分子，其經教示具有特定弊端。螢光光敏劑據稱為較佳，但該參考案未

教示如何選擇使用螢光光敏劑之螢光激發或光活化系統。換言之，螢光光敏劑限於與DNA結合之插入劑。該參考案表明，螢光指示該插入劑較不可能激發氧自由基。

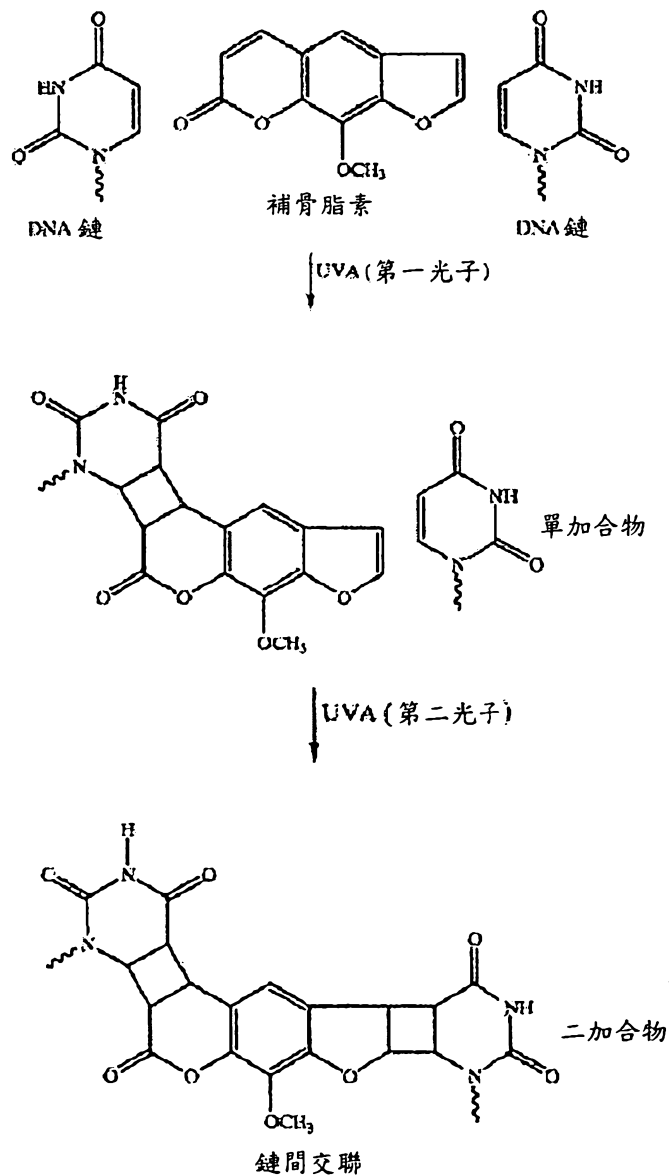
美國公開之申請案2002/0127224揭示用於光動力學療法之方法，其包含投與發光奈米粒子及可經雙光子活化事件藉由自奈米粒子再發射之光活化的光可活化劑。起始能源一般為發射350至1100 nm範圍之波長之光的發光二極體、雷射、白熾燈或鹵素光。起始能量由奈米粒子吸收。奈米粒子又再發射波長500至1100 nm之光，較佳為UV-A光，其中再發射之能量使光可活化劑活化。Kim等人(JACS, 129:2669-75, 2/9/2007)揭示藉由來自對應於300-850 nm能量範圍內之雙光子吸收染料單元(能量供體)的螢光共振能量轉移(FRET)間接激發光敏單元(能量受體)。此等參考案未描述發射除UV、可見光及近紅外能量外之能量的起始能源；除對應於波長350-1100 nm範圍之外的能量升級，及高能量至低能量之降級。

此等參考案除藉由UV、可見光及近紅外能量直接光活化之外未揭示光可活化分子的任何光活化機制。

補骨脂素及相關化合物

美國專利第6,235,508號進一步教示補骨脂素為天然存在之化合物，其在亞洲及非洲已以治療方式用於巴固斯洛(millennia)。已利用補骨脂素及光的作用治療白癜風及牛皮癬(PUVA療法；補骨脂素紫外光A)。補骨脂素能夠藉由在鹼基對(腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶及胸腺嘧啶(DNA)或尿

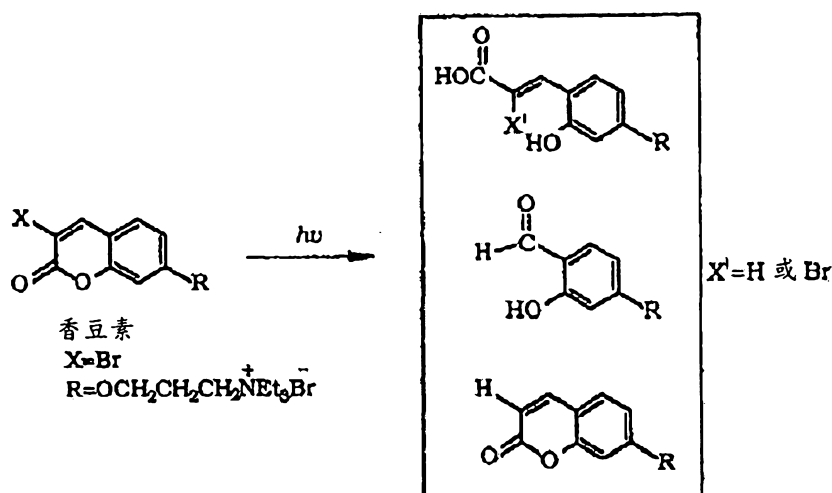
嘧啶(RNA))之間插入而與核酸雙螺旋結合。在連續吸收雙UV-A光子後，激發態之補骨脂素與胸腺嘧啶或尿嘧啶雙鏈反應且與核酸螺旋雙鏈共價附接。交聯反應看似對胸腺嘧啶(DNA)或尿嘧啶(RNA)鹼基具有特異性。只有當補骨脂素插入至含有胸腺嘧啶或尿嘧啶之部位時才進行結合，但初始光致加合物必需吸收第二UVA光子以與雙螺旋之相對鏈上的第二胸腺嘧啶或尿嘧啶反應從而使雙螺旋之雙鏈中之每一者交聯，如下文所示。與同時吸收兩個或兩個以上光子相對，此為如圖所示之兩個單光子的連續吸收。



此外，參考案教示 8-MOP 不適用於用作抗病毒劑，因為其會破壞細胞及病毒兩者。當補骨脂素在相對鏈上含有兩個胸腺嘧啶(或尿嘧啶)之部位插入至核酸雙鏈時，但僅當其依序吸收 2 個 UVA 光子且存在胸腺嘧啶(或尿嘧啶)時，對細胞或病毒產生致命破壞。Wiesehan 之美國專利第 4,748,120 號為使用某些經取代補骨脂素藉由光化學去汙法處理血液或血液產品之實例。

諸如抗氧化劑之添加劑有時與補骨脂素(諸如，8-MOP、AMT 及 I-IMT)一起使用來清除單態氧及補骨脂素光活化期間形成之其他高反應性氧物質。熟知 UV 活化會形成該等能夠嚴重破壞其他健康細胞之反應性氧物質。許多病毒失活可為此等反應性氧物質而非任何補骨脂素光活化作用的結果。然而，咸信未觀測到自體疫苗作用。

最熟知之光可活化化合物為補骨脂素或香豆素的衍生物，其為核酸插入劑。使用補骨脂素及香豆素光敏劑可產生用於使激發態消散之替代化學途徑，該激發態既不利於病毒失活之目標，又實際上對處理有害。對於補骨脂素及香豆素而言，此化學途徑可能會導致形成多種開環物質，諸如下文針對香豆素所示：



此領域之研究過於簡化涉及光活化機制及形成高反應性氧物質(諸如, 單態氧)之機制。兩者皆可導致對腫瘤細胞、病毒及健康細胞的滅活破壞。然而, 單獨或組合皆不會導致自體疫苗作用。此需要活化身體自身免疫系統來鑑別作為威脅之惡性細胞或病毒且形成能夠持續針對彼威脅之細胞毒性效應的免疫反應。咸信(不以任何方式限制)體外光除去法中出現之光活化及所產生之惡性細胞的細胞凋亡引起對未經處理之惡性細胞具有細胞毒性效應的免疫反應活化。儘管研究者完全瞭解免疫反應及細胞毒性效應之複雜性, 但控制系統以針對靶向之惡性細胞成功激發自體疫苗作用的療法難以捉摸, 例外為用於治療淋巴瘤的體外光除去法。

Midden(W. R. Midden, Psoralen DNA photobiology, 第11卷(F. P. Gasparoloco編)CRC press, 第1頁。(1988))已提出補骨脂素與不飽和脂質光反應且與分子氧光反應產生對細胞膜引起致命破壞之活性氧物質(諸如, 過氧化物及單態氧)的證據。美國專利第6,235,508號教示8-MOP及AMT

為不可接受之光敏劑，因為其各自無區別破壞細胞及病毒。陽離子性側鏈對作為光敏劑之呋喃香豆素之作用的研究評論於Psoralen DNA Photobiology，第I卷，F. Gaspano編，CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.，第2章中。美國專利第6,235,508號自此評論搜集到以下資訊：多數胺基化合物與DNA結合及形成交聯之能量相較於8-MOP低得多，表明第一胺基官能基為光結合及交聯的較佳離子性物質。

Heindel的美國專利第5,216,176號揭示大量補骨脂素及香豆素，其作為表皮生長因子的光活化抑制劑具有一些效力。補骨脂素/香豆素主鏈中可包括之大量官能基中包括鹵素及胺。此參考案以引用的方式併入本文中。

美國專利第5,984,887號揭示使用具有8-MOP之體外光除去法處理經CMV感染之血液。接著使用經處理之細胞以及無致病力及/或減毒之病毒、肽、病毒本身的天然子單元(其在細胞破裂及/或流入血液後釋放)及/或病源性非傳染性病毒產生針對病毒之免疫反應，該免疫反應在治療之前不存在。

PDT之問題

公認與診斷及治療細胞增殖病症之現有方法有關的主要問題為區分正常細胞與靶細胞。藉由以高能階高能輻射(諸如高能光子、電子或質子)照射細胞進行輻射療法。此等高能束使組成DNA鏈之原子離子化，此又導致細胞死亡。與手術不同，輻射療法不需要使患者處於麻醉下且具

有以身體之最小侵入治療身體內部深處之病症的能力。然而，該等療法所需之高劑量輻射破壞健康細胞，此破壞與其對患病細胞之破壞一樣有效。因此，與手術類似，輻射療法中健康細胞與患病細胞之間的區分僅藉助於位置進行。對於輻射束而言亦不存在區分健康細胞與患病細胞的固有方式。PDT療法遭遇之另一問題為不藉助於侵入性技術不能處理在皮膚表面下超過幾公分深的目標區域。

因此，仍需要可更準確靶向患病細胞而不實質上對健康組織引起副作用或間接傷害，且能夠藉由非侵入性或最小侵入性技術治療病症的更佳且更有效之治療。

【發明內容】

因此，本發明之一目標為提供一種用於治療個體之病況、病症或疾病之方法，其允許治療個體身體的任何區域同時為非侵入性的且對靶向細胞具有相對於健康細胞的高選擇性。

本發明之另一目標為提供一種治療個體之病況、病症或疾病之方法，其可使用任何合適能源作為起始能源以在個體體內之靶結構中原位誘導預定變化從而治療該病況、病症或疾病。

本發明之另一目標為提供一種使用調節劑治療病況、病症或疾病之方法，該調節劑將吸附、強化起始能量或將其改變為實現靶結構中之預定變化的能量。

結合以下較佳實施例之實施方式將變得更顯而易見之本發明之此等及其他目標(單獨或其組合形式)已由發現治療

個體之病況、病症或疾病之方法得到滿足，包含：

自至少一個能源向需要治療之個體體內的靶結構施加起始能量，其中起始能量與靶結構接觸且在該靶結構中原位誘導預定變化，

因此治療該病況、病症或疾病。

本發明之另一目標為向該個體進一步投與至少一種能量調節劑，該能量調節劑吸附、強化該起始能量或將其改變為實現該靶結構中之預定變化之能量。

本發明之另一目標為提供一種治療病況、病症或疾病之方法，其可使用任何合適能源作為起始能源使可活化醫藥劑活化且藉此在靶結構中誘導預定變化從而治療病況、病症或疾病。

本發明之另一目標為提供一種治療病況、病症或疾病之方法，其使用能量級聯使可活化醫藥劑活化，該可活化醫藥劑接著處理罹患病況、病症或疾病之細胞。

本發明之另一目標為提供一種在個體體內產生自體疫苗作用之方法，該方法可為活體內方法，因此避免離體處理個體組織或細胞之需要，或可為離體方法。

本發明之另一目標為提供一種在個體體內產生自體疫苗作用之方法，該方法可為活體內方法因此避免離體處理個體組織或細胞之需要，或可為離體方法。

本發明之另一目標為提供一種用於進行本發明方法之電腦實施系統。

本發明之又一目標為提供一種用於本發明方法之套組及

醫藥組合物。

結合以下較佳實施例之實施方式將變得更顯而易見之本發明之此等及其他目標(單獨或其組合形式)已由發現用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之方法得到滿足，包含：

自至少一個能源向需要治療之個體體內的靶結構施加起始能量，其中起始能量與靶結構接觸且在該靶結構中原位誘導預定變化，

其中該預定變化修飾靶結構且調節靶結構之生物活性。

本發明之另一目標為提供一種用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之方法，其包含：

(1) 視情況在至少一個選自由能量調節劑、電漿子活性劑(plasmonics-active agents)及其組合組成之群的成員存在下使該靶結構與至少一種可活化醫藥劑(PA)接觸，該可活化醫藥劑在活化時能夠實現靶結構中之預定變化；及

(2) 自起始能源向該靶結構施加起始能量，

-其中該能量調節劑(若存在)將起始能量升級或降級為能夠使至少一種可活化醫藥劑活化之活化能；

-其中該電漿子活性劑(若存在)增強或改變所施加之起始能量或由能量調節劑產生之活化能，或其兩者；且

-因此使靶結構發生預定變化，其中該預定變化修飾靶結構且調節靶結構之生物活性；

及進行該等方法之套組、醫藥組合物、進行該等方法之

電腦實施系統及在個體體內引起自體疫苗作用之方法及系統。

本發明之另一目標為提供以下方法，該等方法可使用作為起始能源之任何合適能源以及電漿子材料使可活化醫藥劑活化且藉此引起預定變化。

本發明之另一目標為提供如下方法，該等方法使用電漿子以能量級聯使可活化醫藥劑活化，該可活化醫藥劑接著引起預定變化。

本發明之另一目標為提供如下方法，該等方法用於原位產生直接或間接引起預定變化之能量。

本發明之另一目標為提供一種用於治療細胞增殖病症之方法，其允許治療個體身體的任何區域同時為非侵入性的且藉由使用激子-電漿(plasmon)增強對靶向細胞具有相對於健康細胞的高選擇性。

本發明之另一目標為提供一種治療病況、病症或疾病之方法，其可使用作為起始能源之任何合適能源以及激子-電漿增強使可活化醫藥劑活化且藉此引起預定變化從而處理罹患病況、病症或疾病之細胞。

本發明之另一目標為提供一種治療病況、病症或疾病之方法，其以能量級聯使用激子-電漿增強使可活化醫藥劑活化，該可活化醫藥劑接著處理罹患病況、病症或疾病之細胞。

本發明之另一目標為一種用於治療與個體體內之靶結構有關之病況、病症或疾病之方法，其包含：

(1) 向個體投與至少一種在活化時能夠實現靶結構中預定變化之可活化醫藥劑及至少一種電漿子活性劑；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中電漿子活性劑增強或改變所施加之起始能量，使得所增強之起始能量使可活化劑原位活化，

-因此使靶結構發生預定變化，其中該預定變化修飾靶結構且治療該病況、病症或疾病。病況、病症或疾病可由異常細胞增殖介導且該預定變化可改善異常細胞增殖。異常細胞增殖可高於或低於來自不具有該病況、病症或疾病之個體之細胞的增殖。

所治療之病況、病症或疾病可或可不由異常細胞增殖顯著介導且該預定變化不必實質上影響細胞增殖。

本發明之又一目標為一種用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之方法，其包含：

(1) 使該靶結構與至少一種在活化時能夠實現靶結構中預定變化之可活化醫藥劑及至少一種電漿子活性劑接觸；及

(2) 自起始能源向靶結構施加起始能量

其中電漿子活性劑增強或改變所施加之起始能量，使得所增強之起始能量使可活化劑活化，

-因此使靶結構發生預定變化，其中該預定變化修飾靶結構且調節靶結構之生物活性。靶結構不必存在於生物體內，而可為活體外或離體靶結構。預定變化可增強靶結構之表現，促進靶結構之生長或增加靶結構之量；或預定變

化可相較於未經處理之類似靶結構增強、抑制或穩定靶結構之一般生物活性。舉例而言，預定變化可改變靶結構之免疫學或化學特性，該靶結構可為細胞、細胞膜、內部細胞結構、多肽或非多肽化合物，其可經該預定變化修飾變得具有較多或較少抗原性或免疫原性。在另一實施例中，可無需醫藥劑或電漿子活性劑即進行靶結構之修飾。

【實施方式】

由於藉由參考以下實施方式當結合隨附圖式考慮時將對本發明及其許多伴隨優點有更好的理解，因此易於獲得對其更全面之瞭解。

本發明闡述一種修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之新穎方法，其包括治療個體之病況、病症或疾病，該方法為有效的、具有特異性且幾乎不具有副作用。彼等罹患病況、病症或疾病之細胞在本文中稱為靶細胞。

所有與本文所述類似或等效之方法及材料均可用於實踐或測試本發明，合適方法及材料描述於本文中。本文提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考案以引用的方式全部併入本文中。在有衝突之狀況下，以本說明書(包括定義)為準。此外，除非另外說明，否則材料、方法及實例僅為說明性的且不欲為限制。

一般而言，本發明提供修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構的方法，其包含：

自至少一個能源向需要治療之個體體內的靶結構施加起始能量，其中起始能量與靶結構接觸且在該靶結構中原位

誘導預定變化，

其中該預定變化修飾靶結構且調節靶結構之生物活性。

本發明之另一目標為提供用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之方法，其包含：

(1) 視情況在至少一個選自由能量調節劑、電漿子活性劑及其組合組成之群的成員存在下使該靶結構與至少一種可活化醫藥劑(PA)接觸，該可活化醫藥劑在活化時能夠實現靶結構中之預定變化；及

(2) 自起始能源向該靶結構施加起始能量，

-其中該能量調節劑(若存在)將起始能量升級或降級為能夠使至少一種可活化醫藥劑活化之活化能；

-其中該電漿子活性劑(若存在)增強或改變所施加之起始能量或由能量調節劑產生之活化能，或其兩者；且

-因此使靶結構發生預定變化，其中該預定變化修飾靶結構且調節靶結構之生物活性。

在較佳實施例中，本發明提供用於治療病況、病症或疾病之方法，其中起始能源提供起始能量，該起始能量直接引起預定細胞變化以處理個體體內之靶細胞。在一較佳實施例中，起始能源經能量調節劑較佳接近於靶細胞間接施加。本發明進一步提供用於治療病況、病症或疾病之方法，其中起始能源提供起始能量，該起始能量使可活化醫藥劑活化以處理個體體內之靶細胞。在一較佳實施例中，起始能源經能量調節劑較佳接近於靶細胞間接施加至可活化醫藥劑。本發明亦提供治療病況、病症或疾病之方法，

其中起始能源經電漿子活性劑增強或改變使得增強之起始能量使醫藥劑原位活化。

如上文所提及，本發明之目標為修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構，且在較佳實施例中為使用光生物調節治療個體之病況、病症或疾病。例示性病況、病症或疾病可包括(但不限於)癌症、自體免疫疾病、軟組織及骨骼組織損傷、慢性疼痛、傷口癒合、神經再生、病毒及細菌感染、脂肪沈著(吸脂術)、靜脈曲張、前列腺肥大、視網膜損傷及其他眼病、帕金森氏病(Parkinson's disease)及行為、知覺及認知病症。例示性病症亦可包括神經(大腦)成像及刺激、以光直接控制大腦細胞活性、控制細胞死亡(細胞凋亡)及改變細胞生長及分化。

因此在一實施例中，本發明提供能夠克服現存方法之缺點的方法。一般而言，本發明方法利用來自至少一個能源之起始能量，將其施加至需要治療之個體體內之靶結構，其中起始能量與靶結構接觸且在該靶結構內原位誘導預定變化，因此修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構，較佳治療病況、病症或疾病。起始能量較佳可完全穿透個體且可自單一能源或一個以上能源施加。例示性起始能量可為UV輻射、可見光、紅外輻射(IR)、x射線、 γ 射線、電子束、微波或無線電波。

在一實施例中，電漿子活性劑增強或改變所施加之起始能量，使得增強之起始能量在該靶結構中引起預定變化。在不同實施例中，電漿子活性劑增強或改變所施加之起始

能量，使得增強之起始能量由調節劑吸收、強化或改變為實現該靶結構中之預定變化之能量。

在又一較佳實施例中，本發明方法利用能量向分子劑之轉移及在分子劑之間轉移的原理藉由照射控制細胞變化之傳遞及活化，使得所要作用之傳遞比習知技術更強化、精確且有效。可向個體投與至少一種能量調節劑，該能量調節劑將該起始能量吸附、強化或改變為實現該靶結構中之預定細胞變化之能量。能量調節劑可位於該靶結構周圍、位於該靶結構上或位於該靶結構中。此外，能量調節劑可將光子起始能量轉換為實現該靶結構中之預定變化的光子能。在一較佳實施例中，能量調節劑使光子起始能量之波長減小。在另一較佳實施例中，能量調節劑可使光子起始能量之波長增加。在不同實施例中，調節劑為一或多個選自生物相容螢光金屬奈米粒子、螢光金屬氧化物奈米粒子、螢光染料分子、金奈米粒子、銀奈米粒子、金塗覆之銀奈米粒子、由聚醯胺基胺樹枝狀聚合物囊封之水溶性量子點、螢光素酶、生物相容磷光分子、組合之電磁能採集分子及顯示強烈發光之鑷系螯合物的成員。

本發明之另一目標為使用可活化醫藥劑治療個體之病況、病症或疾病。例示性病況、病症或疾病可包括(但不限於)癌症、自體免疫疾病、心臟消融(例如，心律不整及心房微顫)、光血管成形病況(例如，重生動脈粥樣硬化、再狹窄)、內膜增生、動靜脈瘤、黃斑變性、牛皮癬、痤瘡、斑禿、鮮紅斑痣、脫毛、類風濕性及發炎性關節炎、

關節病況、淋巴結病況與認知及行為病況。

因此，在一實施例中，本發明提供如下方法，其利用能量向分子劑之轉移及在分子劑之間轉移的原理控制醫藥學活化劑之傳遞及活化，使得所要藥理學作用之傳遞比習知技術更集中、精確且有效。

在又一較佳實施例中，起始能源較佳接近於靶細胞直接或間接(經能量調節劑)施加至可活化醫藥劑。

在本發明內容中，短語「間接施加」當指起始能量之施加時意謂起始能量在個體表面之下穿透個體且到達個體體內之調節劑及/或可活化醫藥劑。在一實施例中，起始能量與先前投與之能量調節劑相互作用，該能量調節劑接著活化預定細胞變化。在另一實施例中，起始能量與先前投與之能量調節劑相互作用，該能量調節劑接著使可活化醫藥劑活化。在另一實施例中，起始能量本身使可活化醫藥劑活化。在另一實施例中，起始能源不能在調節劑及/或可活化醫藥劑的視線內。「不能在視線內」意謂若假定觀測者位於調節劑或可活化醫藥劑之位置，則彼觀測者將不能看到起始能源。

儘管不欲受任何特定理論約束或另外以任何方式限制，但仍提供以下科學原理及定義之理論論述幫助閱讀者獲得對本發明之理解及瞭解。

如本文中所用，術語「個體」不欲限於人類，而是亦可包括動物、植物或任何合適生物有機體。

如本文所用，短語「疾病或病況」係指可包括(但不限

於)癌症、軟組織及骨骼組織損傷、慢性疼痛、傷口癒合、神經再生、病毒及細菌感染、脂肪沈著(吸脂術)、靜脈曲張、前列腺肥大、視網膜損傷及其他眼病、帕金森氏病及行為、知覺及認知病症之病況、病症或疾病。例示性病況亦可包括神經(大腦)成像及刺激、以光直接控制大腦細胞活性、控制細胞死亡(細胞凋亡)及改變細胞生長及分化。又一例示性病況、病症或疾病可包括(但不限於)心臟消融(例如，心律不整及心房微顫)、光血管成形病況(例如，重生動脈粥樣硬化、再狹窄)、內膜增生、動靜脈瘤、黃斑變性、牛皮癬、痤瘡、斑禿、鮮紅斑痣、脫毛、類風濕性及發炎性關節炎、關節病況及淋巴結病況。

如本文所用，術語「靶結構」係指真核細胞；原核細胞；亞細胞結構，諸如細胞膜、核膜、細胞核、核酸、粒線體、核糖體或其他細胞器或組份；胞外結構；病毒或朊病毒；及其組合。

預定細胞變化之特性將視所要醫藥結果而定。例示性病況變化可包括(但不限於)細胞凋亡、壞死、某些基因之上調、某些基因之下調、細胞因子分泌、細胞因子受體反應改變、細胞色素c氧化酶及黃素蛋白之調節、粒線體活化、刺激抗氧化劑保護路徑、細胞生長及分化之調節、神經放電模式改變、氧化還原特性改變、反應性氧物質產生、細胞中胞內組份之活性、量或數目的調節、細胞產生、分泌或與細胞有關之胞外組份之活性、量或數目的調節，或其組合。預定細胞改變可或可不導致靶結構破壞或

失活。

如本文所用，「能量調節劑」係指能接收來自能源之能量輸入且接著向接收靶重發射不同能量的藥劑。分子之間的能量轉移可以多種方式發生。能量形式本質上可為電子、熱、電磁、動力或化學屬性。能量可自一分子轉移至另一分子(分子間轉移)或自分子的一部分轉移至同一分子的另一部分(分子內轉移)。舉例而言，調節劑可接收電磁能且將該能量以熱能形式重發射。在較佳實施例中，能量調節劑接收較高能量(例如，x射線)且以較低能量重發射(例如，UV-A)。一些調節劑可具有極短能量滯留時間(大約為飛秒(fs)，例如螢光分子)，而其他調節劑可具有極長半衰期(大約為數分鐘至數小時，例如發光分子或磷光分子)。合適能量調節劑包括(但不限於)生物相容螢光金屬奈米粒子、螢光染料分子、金奈米粒子、由聚醯胺基胺樹枝狀聚合物囊封之水溶性量子點、螢光素酶、生物相容磷光分子、組合電磁能採集分子及能夠強烈發光之鏽系螯合物。此等調節劑之各種例示性用途描述於下文中之較佳實施例中。

調節劑可另外與用於細胞靶向目的之載劑偶合。舉例而言，可選擇生物相容分子(諸如在UV-A帶範圍內發射之螢光金屬奈米粒子或螢光染料分子)作為能量調節劑。

能量調節劑可較佳藉由向個體全身投與而定向於所需部位(例如，腫瘤)。舉例而言，UV-A發射能量調節劑可藉由物理性插入，或藉由使UV-A發射能量調節劑與腫瘤特異

性載劑(諸如脂質、甲殼素或甲殼素衍生物、螯合物或能夠將UV-A發射源集中於特定靶腫瘤中的其他官能化載劑)結合而集中於腫瘤部位。

此外，能量調節劑可單獨使用或以一系列兩種或兩種以上能量調節劑形式使用，其中能量調節劑提供能量級聯。因此，級聯中之第一能量調節劑將吸收活化能，將其轉化為不同能量，該能量隨後由級聯中之第二能量調節劑吸收等等，直至達至級聯終點，其中級聯中之最終能量調節劑發射使可活化醫藥劑活化必需之能量。

例示性能量調節劑可包括(但不限於)至少一種選自由生物相容螢光金屬奈米粒子、螢光金屬氧化物奈米粒子、螢光染料分子、金奈米粒子、銀奈米粒子、金塗覆之銀奈米粒子、由聚醯胺基胺樹枝狀聚合物囊封之水溶性量子點、螢光素酶、生物相容磷光分子、組合之電磁能採集分子及顯示強烈發光之鑰系螯合物組成之群的能量調節劑。

如本文所用，「可活化醫藥劑」為不存在活化信號狀況下通常以失活狀態存在之藥劑。當藥劑在活化條件下由匹配活化信號活化時，其能夠對靶細胞實現所要藥理學作用(亦即，較佳預定細胞變化)。

可用於使相應藥劑活化之信號可包括(但不限於)特定波長之光子(例如，x-射線或可見光)、電磁能(例如，無線電波或微波)、熱能、音能或其任何組合。

藥劑之活化可如將信號傳遞至藥劑一般簡單或可能另外需要一組活化條件。舉例而言，在先前狀況下，可活化醫

藥劑(諸如，光敏劑)可由UV-A輻射活化。活化之後，呈活性狀態之藥劑可隨後直接繼續產生細胞變化。

若活化可能另外需要其他條件，則僅傳遞活化信號可能不足以產生所要細胞變化。舉例而言，藉由以活性狀態與特定細胞結構結合達成醫藥作用之光活性化合物在傳遞活化信號時可能需要實體接近靶細胞結構。對於該等可活化劑而言，在非活化條件下傳遞活化信號將不會產生所需藥理作用。活化條件之一些實例可包括(但不限於)溫度、pH值、位置、細胞狀態、輔因子之存在或不存在。

可活化醫藥劑之選擇主要視以下多個因素而定，諸如所需細胞變化、所需活化形式以及可能施加之物理及生物化學約束。例示性可活化醫藥劑可包括(但不限於)可由光子能、電磁能、音能、化學或酶促反應、熱能或任何其他合適活化機制活化之藥劑。

當活化時，可活化醫藥劑可實現以下細胞變化：包括(但不限於)細胞凋亡、代謝路徑再定向、某些基因之上調、某些基因之下調、細胞因子之分泌、細胞因子受體反應之改變或其組合。

可活化醫藥劑可藉以實現其所需作用之機制不特別受限。該等機制可包括對預定靶之直接作用以及經由生物化學路徑之改變實現的間接作用。較佳直接作用機制為使藥劑與關鍵細胞結構(諸如，核DNA、mRNA、rRNA、核糖體、粒線體DNA或任何其他功能上重要之結構)結合。間接機制可包括在活化後釋放代謝物以干擾正常代謝路徑、

活化後釋放化學信號(例如，促效劑或拮抗劑)以改變靶向之細胞反應及其他合適生物化學或代謝改變。

本發明之治療可藉由2007年11月6日申請之美國申請案第11/935,655號中所述之獨特方法(藉由上文之引用併入)，或藉由諸如PDT之習知治療的改良型式進行，但使用電漿子活性劑藉由改變或增強所施加之能量來增強治療，或在使用能量調節劑之狀況下改變所施加之能量、來自能量調節劑之發射能量或其兩者。

在一較佳實施例中，可活化醫藥劑能夠以治療有效量與DNA或粒線體化學結合。在此實施例中，可活化醫藥劑(較佳光可活化劑)原位暴露於由能量調節劑發射之活化能，該能量調節劑又自起始能源接收能量。

合適可活化劑包括(但不限於)光活性劑、音活性劑、熱活性劑及無線電波/微波活性劑。可活化劑可為小分子；生物分子，諸如蛋白質、核酸或脂質；超分子組件；奈米粒子；或活化之後具有醫藥活性之任何其他分子實體。

可活化劑可由天然或合成來源產生。可由合適活化信號源活化以實現預定細胞變化之任何該分子實體可有利地用於本發明。

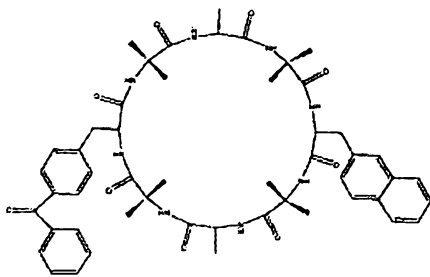
合適光活性劑包括(但不限於)：補骨脂素及補骨脂素衍生物；芘膽固醇油酸酯；吡啶；卟啉；螢光素；若丹明(rhodamine)；16-重氮可體松；乙錠；博萊黴素(bleomycin)之過渡金屬錯合物；去糖博來黴素之過渡金屬錯合物；有機鉑錯合物；咯嗪，諸如7,8-二甲基-10-核糖醇基異咯嗪

(核黃素)、7,8,10-三甲基異咯嗪(光黃素)、7,8-二甲基咯嗪(lumichrome)、異咯嗪-腺嘌呤二核苷酸(黃素腺嘌呤二核苷酸[FAD])、咯嗪單核苷酸(亦稱為黃色單核苷酸[FMN]及核黃素-5-磷酸鹽)；維生素Ks、維生素L、其代謝物及前驅物；及萘醌；萘；萘酚及其具有平面分子構型之衍生物；卟啉；染料，諸如中性紅、亞甲基藍、吡啶、甲苯胺、黃素(鹽酸吡啶黃素)及啡噻嗪衍生物、香豆素、喹諾酮、醌及蔥醌、四磺酸酞菁鋁(111)、血卟啉及酞菁；及優先吸附至核酸而對蛋白質有極少影響或無影響之化合物。術語「咯嗪」包括異咯嗪。

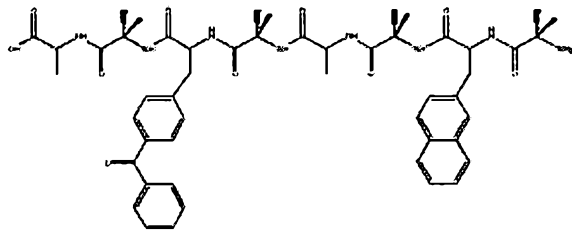
基於內源之衍生物包括內源光活化分子之合成衍生類似物及同源物，其可具有或缺乏衍生該等類似物及同源物之光敏劑的低碳(1至5個碳)烷基或鹵素取代基且其保持功能且實質上無毒。內源分子本身無毒且在光輻射之後可能不產生有毒光產物。

表1列出一些能夠經光活化以誘導自體疫苗作用之光可活化分子。

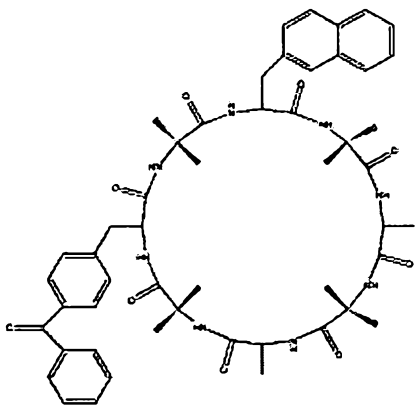
化合物	λ_{ex} (nm)	E_{DDET}	k_s 供體 (s^{-1})	k_{DDET} (s^{-1})	$k_{DDET}(s^{-1})$ (平均值)	R_0 (Å)	R (Å)	R_{model} (Å) (平均值)	E_{TDET}	k_{TDET} (s^{-1})
1B	224	96.3	9.5×10^5	2.44×10^8	1.87×10^9	14.7	9	9.5		
	266	95		1.8×10^8					2.5	5×10^2
	280	94		1.36×10^8						
1A	224	80	9.5×10^5	3.8×10^7	3.67×10^7	14.7	11.8	14.1		
	266	79		3.6×10^7					2	3.6×10^2
	280	79		3.8×10^7						
2B	224	77	9.5×10^5	3.1×10^7	3.9×10^7	14.7	11.9	6.5		
	266	81		3.9×10^7					32	9.4×10^3
	280	83		4.7×10^7						
2A	224	69	9.5×10^5	2.1×10^7	3×10^7	14.7	12.2	8.1	74.3	5.7×10^4
	266	80		3.7×10^7						
	280	77		3.2×10^7						



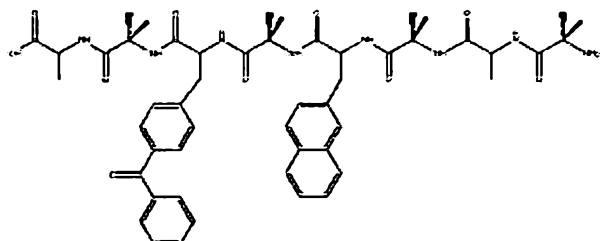
1A



1B



2A



2B

表2列出一些其他內源性光可活化分子。

內源性螢光團	激發最大值 (nm)	發射最大值 (nm)
胺基酸：		
色胺酸	280	350
酪胺酸	275	300
苯丙胺酸	260	280
結構蛋白：		
膠原蛋白	325, 360	400, 405
彈性蛋白	290, 325	340, 400
酶及輔酶：		
黃素腺嘌呤二核苷酸	450	535
還原性菸鹼醯胺二核苷酸	290, 351	440, 460
還原性菸鹼醯胺		
二核苷酸磷酸鹽	336	464
維生素：		
維生素A	327	510
維生素K	335	480
維生素D	390	480
維生素B ₆ 化合物：		
吡哆醇	332, 340	400
吡哆胺	335	400
吡哆醛	330	385
吡哆酸	315	425
磷酸吡哆醛	5'-330	400
維生素B ₁₂	275	305
脂質：		
磷脂	436	540, 560
脂褐質	340-395	540, 430-460
類蠟質	340-395	430-460, 540
卟啉	400-450	630, 690

圖1提供例示性以公尺計之電磁波譜(1 nm等於 10^{-9} m)。

儘管可活化醫藥劑及能量調節劑可為不同且各別的，但應理解兩種藥劑不必為獨立且各別之實體。實際上，兩種藥劑可經許多不同組態彼此相關。若兩種藥劑可彼此獨立且各別移動，則彼等一般經由共同周圍介質內擴散及偶然碰撞而彼此相互作用。若可活化醫藥劑及能量調節劑並非各別的，則彼等可合併為單一實體。

起始能源可為任何能提供能量足以直接或經調節劑(其將起始能量轉移為能引起預定細胞變化之能量)引起細胞

變化之能源。起始能源亦可為任何能夠提供能量足以直接活化可活化劑，或提供能量於調節劑以發射用於可活化劑之活化能(間接活化)所需輸入的能源。較佳起始能源包括(但不限於)UV-A燈或光纖線，光針，內視鏡，及產生x射線、 γ 射線或電子束之線性加速器。在一個較佳實施例中，起始能量能夠完全穿透個體。在本發明之論述中，短語「能完全穿透個體」係用於指可穿透至個體內任何深度以活化可活化醫藥劑之能量。並不需要任何施加能量實際上完全穿過個體，這麼做只為可穿透至任何所欲深度以活化可活化醫藥劑。能夠完全穿透個體之例示性起始能源包括(但不限於)UV光、可見光、IR輻射、x射線、 γ 射線、電子束、微波及無線電波。

本發明之另一實施例為提供一種用於藉由在有需要之個體體內原位產生能量來治療病況、疾病或病症之方法，其中所產生之能量可直接用於實現變化，藉此治療病況、疾病或病症，或能量可用於使可活化醫藥劑活化，該可活化醫藥劑在活化後實現變化，藉此治療病況、疾病或病症。能量可由任何所要方法(包括(但不限於)化學反應，諸如化學發光)原位產生，或藉由使用一或多種能量調節劑使外部施加至個體之能量轉化，該能量原位轉化為不同能量(具有低於或高於所施加之彼者的能量)。

本發明之另一實施例將病況、疾病或病症之治療與受影響之靶結構中的熱量產生組合從而增強治療之作用。舉例而言，在使用光可活化醫藥劑(諸如，補骨脂素或其衍生

物)治療細胞增殖病症時，可藉由施加直接或間接使醫藥劑活化之起始能量使光可活化醫藥劑活化。如本申請案別處所註釋，此起始能量可為任何類型，只要其可轉化為適於使醫藥化合物活化之能量。除了施加此起始能量之外，在本發明之此實施例中，施加使靶結構發熱之能量。在細胞增殖病症(諸如，癌症)之狀況下，發熱將增加癌細胞的增殖速率。儘管此最初看起來可能違反直覺，但是當使用DNA插入劑(諸如，補骨脂素或其衍生物)治療細胞增殖病症時，此細胞增殖中之增加可實際上幫助補骨脂素引起細胞凋亡。詳言之，當補骨脂素插入DNA中時，細胞在經歷其下一分化循環時發生細胞凋亡。可使用本發明方法藉由增加細胞分化之速率來增強細胞凋亡的開始。

對於此實施例而言，可以任何所要方式產生熱量。較佳地，可將微波或NIR能量施加至靶結構或藉由使用金屬奈米粒子或具有金屬殼之奈米粒子產生熱量。在奈米粒子實施例中，如腫瘤熱療法中所進行，可使用習知技術使磁性金屬奈米粒子靶向癌細胞，接著將其用於藉由在受控條件下向個體施加磁場來產生熱。(DeNardo SJ、DeNardo GL、Natarajan A等人：Thermal dosimetry predictive of efficacy of ^{111}In -ChL6 NPAMF-induced thermoablative therapy for human breast cancer in mice. *J. Nucl. Med.* 48(3), 437-444 (2007).)

或者，可藉由將NIR施加至具有金屬殼之奈米粒子來產生熱量，其中NIR轉化為熱能。(Hirsch LR、Stafford RJ、

Bankson J等人：Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. Proc. Natl Acad. Sci. USA100(23), 13549-13554 (2003)。

在一實施例中，起始能源可為無線電波發射奈米管，諸如K. Jensen、J. Weldon、H. Garcia及A. Zettl在伯克利加州大學物理系(Department of Physics at the University of California at Berkeley)所述之彼等(參見 <http://socrates.berkeley.edu/~argon/nanoradio/radio.html>，其全部內容以引用的方式併入本文中)。可將此等奈米管投與個體，且較佳將與可活化醫藥劑或能量調節劑，或其兩者偶合，或此等奈米管可位於靶細胞附近使得在施加起始能量之後，奈米管將接收起始能量(較佳無線電波)，接著緊密相鄰於可活化醫藥劑或緊密相鄰於能量調節劑發射無線電波或向靶細胞發射無線電波，從而隨後引起預定細胞變化或可活化醫藥劑的活化。在該實施例中，奈米管將基本上用作緊密相鄰於可活化醫藥劑或能量調節劑或靶細胞之無線電波聚焦或擴增裝置。

或者，能量發射源可為以適於由轉移劑或靶細胞吸收之形式發射能量的能量調節劑。舉例而言，起始能源可為音能且一種能量調節劑可能夠接收音能且發射光子能(例如，音致發光分子)，該光子能待由能夠接收光子能之另一能量調節劑接收。其他實例包括接收x射線波長處之能量且發射UV波長，較佳UV-A波長之能量的轉移劑。如上文所述，多種該等能量調節劑可用於形成級聯，從而自起

始能源經一系列能量調節劑轉移能量以活化可活化劑或預定細胞變化。

可藉由結合代謝路徑知識仔細模擬級聯事件，依序或同時引起預定細胞變化或使多種可活化醫藥劑活化以實現細胞功能的多點改變來有利地研發作為藥物傳遞媒介之信號傳導方案。

光可活化劑可由諸如，照射、共振能量轉移、激子遷移、電子注入或化學反應之能源激發為能夠實現所要預定細胞變化之活化態。在較佳實施例中，光可活化劑在活化後與DNA或RNA或細胞中之其他結構結合。藥劑之活化態能夠對細胞造成破壞，誘導細胞凋亡。

一種治療個體體內靶結構介導之病況、病症或疾病之較佳方法包含：

(1) 向個體投與至少一種當活化時能夠實現靶結構之預定變化的可活化醫藥劑；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中所施加起始能量使可活化劑原位活化，

-因此使靶結構發生預定變化，其中該預定變化治療病況、病症或疾病。

治療個體體內靶結構介導之病況、病症或疾病之另一較佳方法包含：

(1) 向個體投與至少一種可活化醫藥劑，該可活化醫藥劑能夠由多光子吸收事件活化且在活化時能夠實現該靶中之預定變化；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中所施加之起始能量使可活化劑由多光子吸收事件原位活化，

-因此使得發生預定變化，其中該預定變化治療病況、病症或疾病。

多光子激發之概念係基於以下觀念：兩個或兩個以上低能光子可在量子事件中激發螢光團，通常導致在高於兩個或兩個以上激發光子之能量下發射螢光光子。此概念最先由 Maria Göppert-Mayer 於 1931 年在其博士論文中描述。然而，兩個或兩個以上光子幾乎同時吸收的可能性極低。因此，通常需要高通量之激發光子，一般為飛秒 (femtosecond) 雷射。此已限制此概念實際應用的範圍。

多光子激發概念之最熟知應用或許為 Winfried Denk 在 Cornell University 的 Watt W. Webb 實驗室首創之雙光子顯微法。他將雙光子吸收觀念與雷射掃描儀之使用結合。

「依序」與「同時」雙光子激發之間存在重大差異。在依序雙光子激發至較高所允許能階時，第一光子與第二光子兩者的個別能量必需適當以將分子直接促進至第二所允許電子能階及第三所允許電子能階。相反，同時雙光子激發僅需要雙光子之第一者與雙光子之第二者的組合能量足以將分子促進至第二所允許電子能階。

在雙光子激發顯微術中，紅外雷射束經接物鏡聚焦。通常使用之 Ti-藍寶石雷射具有允許雙光子吸收所需之高光子密度及通量的約 100 飛秒之脈衝寬度及約 80 MHz 之重複

頻率且在廣泛波長範圍上可調整。雙光子技術由 Cornell University 之 Winfried Denk、James Strickler 及 Watt Webb 申請專利。

兩種已知應用為雙光子激發之螢光 (TPEF) 及非線性傳輸 (NLT)。最常用螢光團具有 400-500 nm 範圍之激發光譜，而用於激發螢光團之雷射處於約 700-1000 nm (紅外) 範圍中。若螢光團同時吸收兩種紅外光子，則其將吸收足夠能量以升至激發態。螢光團接著將發射波長視所用螢光團類型而定之單一光子 (通常在可見光譜中)。因為需要吸收兩個光子來激發螢光團，所以發射可能性與激發光束之強度平方 (intensity squared) 有關。因此，雷射束緊密聚焦時產生比較為擴散狀況下多得之雙光子螢光。有效地，觀測到任何有一點焦體積之量的螢光，導致高度排斥失焦物像。接著藉由高靈敏度偵測器 (諸如，光電倍增管) 收集樣本之螢光。此觀測到之光強度成為最終影像中之一像素；在樣本的整個所要區域掃描焦點形成影像的所有像素。可由若干種技術量測雙光子吸收。

因此，在一態樣中，輻射信號可具有使光活性劑活化所需之確切能量。在此態樣中，輻射能量可直接靶向存在光活性劑之所要座標或區域。此實施例中之起始能源可為 (例如) X 射線、 γ 射線、電子束、微波或無線電波。

在另一態樣中，輻射信號可具有比光活性劑之激發能量低的能量。在此態樣中，輻射信號不具有足以使光活性劑以習知方式活化的能量。光活性劑之活化可經「能量升

級」機制(諸如，上文所述之多光子機制)實現。光活性劑之活化可進一步由中間能量轉換劑介導。舉例而言，輻射能量首先可激發恰好在激發光活性劑之能量下發射光子之螢光團。信號藉助於此中間劑傳遞至靶光活性劑。以此方式，除了能量升級(及如下文所述之降級)之外，亦引入信號繼動機制。起始能源可為x射線、 γ 射線、電子束、微波或無線電波。同樣，在一實施例中，若起始能量為紅外能量，則使可活化劑活化之能量不為UV或可見光能量。因此，治療個體體內靶結構介導之病況、疾病或病症之另一較佳方法包含：

- (1) 向個體投與至少一種能量調節劑及至少一種可活化醫藥劑，該可活化醫藥劑能夠由多光子吸收活化且活化時能夠實現預定細胞變化；及
- (2) 自起始能源向該個體施加起始能量，其中能量調節劑使所施加之起始能量升級為隨後使可活化劑由多光子吸收事件原位活化之能量，因此使得發生預定細胞變化，其中該預定細胞變化治療病況、疾病或病症。

在一實施例中，經2、3、4或5個同時光子吸收獲得能量升級。

治療個體體內靶結構介導之病況、疾病或病症之又一較佳方法包含：

- (1) 向個體投與至少一種能量調節劑及至少一種可活化醫藥劑，該可活化醫藥劑活化時能夠實現預定細胞

變化；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中能量調節劑使所施加之起始能量升級為隨後使可活化劑原位活化之能量，

- 因此使得發生預定細胞變化，其中該預定細胞變化治療病況、疾病或病症。

在又一態樣中，輻射能量可具有比光活性劑之激發能量高的能量。在此態樣中，光活性劑可經「能量降級」機制活化。在一方案中，兩個具有能量 x 之較低能量光子經多光子機制可經藥劑吸收以將藥劑自基態 E_0 激發至較高能態 E_2 。藥劑接著可藉由發射具有能量 y 之光子弛緩降至中間態 E_1 ， y 等於 E_2 與 E_1 之間的能隙，其中 y 小於 x 。其他能量降級機制可由能量轉換劑(諸如量子點、奈米管或其他具有合適光輻射特性之試劑)介導。起始能源可為(例如)UV輻射、可見光、紅外輻射、 x 射線、 γ 射線、電子束、微波或無線電波。因此，治療個體體內靶結構介導之病況、疾病或病症之又一較佳方法包含：

(1) 向個體投與至少一種能量調節劑及至少一種可活化醫藥劑，該可活化醫藥劑能夠由多光子吸收活化且活化時能夠實現預定細胞變化；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中能量調節劑使所施加之起始能量降級為隨後使可活化劑由多光子吸收事件原位活化之能量，

- 因此使得發生預定細胞變化，其中該預定細胞變化

治療病況、疾病或病症。

因此，治療個體體內靶結構介導之病況、疾病或病症之又一較佳方法包含：

(1) 向個體投與至少一種能量調節劑及至少一種可活化醫藥劑，該可活化醫藥劑活化時能夠實現預定細胞變化；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中能量調節劑使所施加之起始能量降級為隨後使可活化劑原位活化之能量，

-因此使得發生預定細胞變化，其中該預定細胞變化治療病況、病症或疾病。

在另一較佳實施例中，本發明提供一種治療由個體體內之靶結構介導之病況、病症或疾病之方法，其包含：

(1) 向個體投與活化時能夠實現該靶結構中之預定變化之可活化醫藥劑；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中所施加之起始能量及活化後可活化之醫藥劑在個體體內產生不足以產生細胞溶解之單態氧，且其中起始能量使可活化醫藥劑原位活化，

-因此使得預定變化經該靶結構發生，其中該預定變化靶向病況、病症或疾病。

在一不同較佳實施例中，本發明提供一種治療由個體體內之靶結構介導之病況、病症或疾病之方法，其包含：

(1) 向個體投與活化時能夠由多光子吸收活化且實現該

靶結構中之預定變化之可活化醫藥劑；及

(2)自起始能源向該個體施加起始能量，

其中所施加之起始能量及活化後可活化之醫藥劑在個體內產生不足以產生細胞溶解之單態氧，且其中起始能量使可活化醫藥劑由多光子吸收事件原位活化，

-因此使得預定變化經該靶結構發生，其中該預定變化靶向病況、病症或疾病。

光動力學療法領域中之工作已顯示引起細胞溶解(且因此細胞死亡)所需之單態氧之量為 0.32×10^{-3} mol/L或更多，或 10^9 個單態氧分子/細胞或更多。在一較佳實施例中，較佳避免產生將會引起細胞溶解之量的單態氧，由於其無區別攻擊性將使靶細胞及健康細胞皆溶解。因此，在一較佳實施例中，所用起始能量或活化後可活化之醫藥劑引起的單態氧產生量較佳低於引起細胞溶解所需之量。

一個優勢為多種波長之所發射輻射可用於選擇性激發一或多種光可活化劑或能激發該一或多種光可活化劑之能量調節劑。能量調節劑較佳在幾乎不或不對健康細胞產生破壞之波長及能量下激發，其中來自一或多種能量調節劑之能量(諸如)藉由福斯特共振能量轉移(Foerster Resonance Energy Transfer)轉移至光可活化劑，該光可活化劑破壞細胞且使所要細胞變化(例如，細胞之細胞凋亡)開始。

另一優勢為藉由限制已知會破壞健康細胞之自由基、單態氧、氫氧化物及其他高度反應性基團的產生可使副作用大大降低。此外，可使用諸如抗氧化劑之其他添加劑來進

一步降低照射的非所要作用。

共振能量轉移(RET)為具有重疊發射及吸收帶之兩個分子之間的能量轉移機制。電磁發射體能夠將到達之波長轉化為較長波長。舉例而言，第一分子所吸收之UV-B能量可藉由偶極-偶極相互作用轉移至與UV-B吸收分子緊密相鄰之UV-A發射分子。或者，可選擇吸收較短波長之材料以向與轉移分子發射帶具有重疊吸收帶之非發射分子提供RET。或者，可使用磷光、化學發光或生物發光向光可活化分子轉移能量。

或者，可向個體投與起始能源。在本發明之情形中，投與起始能源意謂以使本身產生起始能量之藥劑到達個體體內之靶細胞而非手術插入至個體之方式投與該藥劑。投與可採取任何形式，包括(但不限於)經口、靜脈內、腹膜內、吸入等。此外，此實施例中之起始能源可為任何形式，包括(但不限於)錠劑、散劑、液體溶液、液體懸浮液、液體分散液、氣體或蒸汽等。在此實施例中，起始能源包括(但不限於)化學能源、奈米發射體、奈米晶片及其他產生且發射所需頻率之能量的奈米機器。奈米技術之新近發展提供奈米級且產生或發射能量之各種裝置的實例，諸如 EC Research and Development Project之 Dr. Keith Firman的Molecular Switch(或Mol-Switch)研究，或Cornell等人(1997)之研究，其描述基於尺寸僅為1.5 nm之離子通道開關的奈米機器的建構，其使用在人造膜中由兩個短桿菌肽分子(一個在膜下層附著於金電極且一個在上層與生

物受體(諸如抗體或核苷酸)繫栓)形成之離子通道。當受體捕獲標靶分子或細胞時，離子通道斷裂，其電導性降低，且生物化學信號轉化為電信號。此等奈米裝置亦可與本發明耦接以靶向靶細胞，直接在所需部位處傳遞起始能源。

在另一實施例中，本發明包括投與化學能源，諸如化學發光、磷光或生物發光。化學能源可為兩種或兩種以上化合物之間的化學反應，或可藉由在個體外或個體內以適當活化能量使化學發光、磷光或生物發光化合物活化而誘導，其中化學發光、磷光或生物發光在投與後可使可活化醫藥劑活體內活化。在一實施例中，可投與可活化醫藥劑及化學能源。投與可以任何順序依序進行或同時進行。在某些該等化學能源的狀況下，可在個體外活化之後投與化學能源，其中對於某些類型之(例如)磷光材料而言，能量發射持續時間高達數小時。不存在使用任何類型之共振能量轉移來使插入劑活化從而與DNA結合的已知先前成果。

又一實例為可引入某些原子之奈米粒子或奈米團簇使得能夠經相當大距離(諸如大於1奈米，更佳大於5奈米，甚至更佳至少10奈米)進行共振能量轉移。就功能而言，共振能量轉移可具有足夠大之「福斯特(Foerster)」距離(R_0)，使得細胞一部分中之奈米粒子能夠激發安置於細胞遠端部分中之光可活化劑之活化，只要距離不大大超過 R_0 即可。舉例而言，新近已顯示具有5個金原子之尺寸的金奈米球在紫外線區域具有發射帶。

在一實施例中，侵襲性細胞增殖病症具有較高有絲分裂

速率，此導致甚至在全身投與治療期間亦選擇性破壞不成比例份額之惡性細胞。幹細胞及健康細胞即使暴露於光活化劑亦可免於大規模程式化細胞死亡，其限制條件為該等光活化劑在結合、有絲分裂或其他對健康幹細胞之細胞實質部分產生破壞的機制之前自激發態衰減至較低能態。因此，可誘導自體免疫反應。

或者，可使用選擇性防止或降低對幹細胞或健康細胞之破壞的阻斷劑，否則該等細胞將受損。選擇或投與阻斷劑使得阻斷劑不對(例如)惡性細胞產生類似益處。

在一實施例中，特異性靶向幹細胞進行破壞，意圖是以供體細胞系或先前儲存之患者健康細胞置換該等幹細胞。在此狀況下，未使用阻斷劑。改為使用特異性靶向幹細胞之載劑或光敏劑。

光可活化劑中之任一者可暴露於較佳接近於靶部位植入個體體內之激發能源。光活性劑可藉由對受體位點(receptor site)具有強親和力之載劑定向於受體位點。在本發明之情形中，「強親和力」較佳為具有至少在奈莫耳濃度(nM)範圍或更高之平衡解離常數(K_i)的親和力。較佳地，載劑可為多肽且可(例如)與光活性劑形成共價鍵。多肽可為(例如)胰島素、介白素、胸腺生成素或轉鐵蛋白。或者，在未與載劑結合之狀況下，光活性劑可對靶細胞具有強親和力。

受體位點可為以下中之任一者：有核血球之核酸、有核血球之分子受體位點、有核血球上之抗原性部位、抗原決

定基或光活性劑能夠破壞靶向細胞的其他部位。

在一實施例中，將細光纖線插入個體體內且使用雷射光使藥劑光活化。在另一實施例中，藉由向患者投與之一或多種分子提供供應電磁輻射能量或能量轉移之複數個能源。該等分子可發射合適波長帶之激發輻射以直接激發靶結構或激發光可活化劑，或該等分子可藉由共振能量轉移或其他機制向靶結構或光可活化劑直接轉移能量或可藉由級聯作用經其他分子相互作用間接轉移能量。

在另一實施例中，移除患者自身細胞且經遺傳修飾提供光子發射。舉例而言，可移除腫瘤或健康細胞，對其進行遺傳修飾以誘導生物發光且可在待治療之疾病或病況部位重新插入。經修飾生物發光細胞可經進一步修飾以防止細胞進一步分化或只要存在調節劑則僅防止細胞分化。

在另一實施例中，選擇在UV-A帶中發射之生物相容發射源(諸如，螢光金屬奈米粒子或螢光染料分子)。UV-A發射源針對疾病或病況部位。可藉由全身投與UV-A發射源而使其定向於疾病或病況部位。較佳地，如此項技術中已知，可諸如藉由物理插入或藉由使UV-A發射分子與能夠使UV-A發射源集中於特定靶結構中之特異性載劑結合使UV-A發射源集中於靶部位。

在一較佳實施例中，UV-A發射源為包含5個金原子之團簇的金奈米粒子，諸如由聚醯胺基胺樹枝狀聚合物囊封之水溶性量子點。舉例而言，可經由緩慢還原金鹽(例如 HAuCl_4 或 AuBr_3)或其他囊封胺產生金原子團簇。該金奈米

粒子之一優點為福斯特距離(亦即 R_0)增加，該距離可能大於100埃。測定福斯特距離之等式實質上不同於用於分子螢光之等式，用於分子螢光之等式限於在小於100埃之距離下使用。咸信金奈米粒子由奈米粒子表面而受制於偶極等式，該等式與 $1/R^4$ 距離相關而非與 $1/R^6$ 距離相關。舉例而言，此允許細胞質在金屬奈米粒子與光可活化分子(諸如向患者經口投與之補骨脂素且更佳8-甲氧基補骨脂素(8-MOP)，其已知為安全的且有效用於誘導白血球之細胞凋亡)之間發生核能量轉移。

在另一實施例中，選擇UV或光發射螢光素酶作為激發光可活化劑之發射源。螢光素酶可與ATP或另一分子組合，其可隨後用其他分子氧化以激發所需波長之光發射。或者，可使用磷光發射源。磷光發射源之一優勢為磷光發射分子或其他能源在藉由全身投與或直接插入至靶部位之區域而插入至靶部位之前可經電活化或光活化。因為三重態之弛緩可阻止能態躍遷，從而在僅有限數量之量子力學能傳遞過程用於返回較低能態之激發三重態中儲存能量，所以磷光材料可具有長於螢光材料之弛緩時間。能量發射自零點幾秒延緩或延長至數小時。另外，磷光弛緩期間所發射之能量並不在其他方面區別於螢光，且可藉由選擇特定磷光體來選擇波長範圍。

在另一實施例中，設計了組合電磁能採集分子，諸如J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 9760-9768中所揭示之組合光採集器，該文獻之全部內容以引用的方式併入本文中。藉由

將一組螢光分子在分子結構中組合，可使用共振能量轉移級聯來採集寬電磁輻射帶，該寬電磁輻射帶使得可發射窄螢光能量帶。藉由將組合能量採集器與光可活化分子配對，另一能量共振轉移在光可活化分子靠近所激發之組合能量採集分子時激發光可活化分子。採集分子之另一實例揭示於M.O. Guler之「Singlet-Singlet and Triplet-Triplet Energy Transfer in Bichromophoric Cyclic Peptides」碩士論文，Worcester Polytechnic Institute, 2002年5月18日之圖4中，該文獻以引用的方式併入本文中。

在另一實施例中，選擇發射源或級聯中所排列之一系列發射源之斯托克斯位移(Stokes shift)來將較短波長能量(諸如X射線)轉化為較長波長螢光發射(諸如可見光(optical)或UV-A)，該較長波長螢光發射係用於激發靶結構位置處之光可活化分子。較佳地，選擇光可活化分子來引起靶結構中之預定變化，而不對正常、健康細胞引起實質損害。

在另一實施例中，光可活化劑可為在光遮罩(photocage)中含有活性劑之經光遮罩複合物。活性劑與阻礙其與特定靶結合進而遮蔽其活性之其他分子一起形成整體。當光遮罩複合物經光活化時，該整體崩塌(fall off)，而使活性劑暴露。在該光遮罩複合物中，光遮罩分子可具有光活性(亦即當經光活化時，使其自光遮罩複合物解離，進而使內部之活性劑暴露)，或活性劑可為光可活化劑(其在經光活化時使光遮罩崩塌)，或光遮罩與活性劑均經相同或不同波長之光活化。舉例而言，毒性化學治療劑可經光遮

罩，此在傳遞時將降低全身毒性。在藥劑集中於腫瘤中之後，將藥劑以活化能量照射。此引起「遮罩」崩塌，在腫瘤細胞中留下細胞毒性劑。合適光遮罩包括彼等由 Young 及 Deiters 在「Photochemical Control of Biological Processes」, *Org. Biomol. Chem.*, 5, 第 999-1005 頁 (2007) 及「Photochemical Hammerhead Ribozyme Activation」, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(10), 第 2658-2661 頁 (2006) 中揭示之光遮罩，該等文獻之內容以引用的方式併入本文中。

在一較佳實施例中，將光使化合物或藥劑釋放之用途用於闡明神經元功能及成像，例如雙光子麩胺醯胺釋放 (Harvey CD 等人, *Nature*, 450:1195-1202 (2007); Eder M 等人, *Rev. Neurosci.*, 15:167-183 (2004))。其他信號傳導分子可由 UV 光激發釋放，例如 GABA、第二信使 (例如， Ca^{2+} 及 Mg^{2+})、碳醯膽鹼 (carbachol)、辣椒鹼及 ATP (Zhang F 等人, 2006)。可進行離子通道及受體之化學改質以賦予其光反應性。 Ca^{2+} 與控制受精、分化、增殖、細胞凋亡、突觸可塑性、記憶及軸突發育有關。在又一較佳實施例中，可藉由 UV 照射 (單光子吸收) 及 NIR 照射 (雙光子吸收) 釋放遮罩之 Ca^{2+} 、胞外嘌呤能信使 InsP3 (Braet K 等人, *Cell Calcium*, 33:37-48 (2003)) 或離子通道配位體 (Zhang F 等人, 2006) 誘導 Ca^{2+} 波。

遺傳靶向允許形態學及電生理學表徵遺傳學上定義之細胞群體。因此，在另一實施例中，經多種技術向細胞或活

個體中引入光敏蛋白質，該等技術包括電穿孔、DNA顯微注射、病毒傳遞、脂質轉染、建立轉殖基因系及磷酸鈣沈澱。舉例而言，慢病毒技術(lentiviral technology)提供穩定長期表現、易於產生高效價載體及低免疫原性的便利組合及習知組合。光敏蛋白質可為(例如)通道視紫質-2(ChR2)及氯離子泵鹵視紫質(NpHR)。可向慢病毒載體或其他載體中併入光蛋白質編碼基因以及細胞特異性啟動子，提供光敏蛋白質編碼基因向靶細胞中之傳遞。當將持有Ch2R之細胞以光脈衝時，含有光感測器及陽離子通道之ChR2提供適當速度及量值的電激發來活化神經元放電。

在一實施例中，使用能夠發強光之鐳系螯合物。舉例而言，鐳系元素螯合劑可與香豆素或香豆素衍生物或喹諾酮或喹諾酮衍生物敏化劑共價接合。敏化劑可為2-或4-喹諾酮、2-或4-香豆素或此等實例之衍生物或組合。可使用喹諾酮124(7-胺基-4-甲基-2-喹諾酮)、香豆素120(7-胺基-4-甲基-2-香豆素)、香豆素124(7-胺基-4-(三氟甲基)-2-香豆素)、胺基甲基三甲基補骨脂素或其他類似敏化劑。可選擇螯合物以與鐳系元素(諸如，銻或銻)經螯合劑基團(諸如，DTPA)形成高親和力複合物。該等螯合物可與多種熟知探針或載劑中之任一者偶合，且可用於向補骨脂素或補骨脂素衍生物(諸如，8-MOP)或其他能夠結合DNA之光活性分子共振能量轉移。在一替代實例中，使用適當載劑分子、粒子或聚合物將鐳系螯合物定位於疾病部位，且藉由最低入侵性程序引入電磁能源，在暴露於鐳系螯合物及光

活性分子之後照射靶結構。

在另一實施例中，選擇生物相容內源性螢光團發射體激發向光可活化分子的共振能量轉移。可選擇具有生物相容內源性螢光團發射體吸收範圍內之發射最大值的生物相容發射體來激發螢光團發射體之激發態。可向能夠插入核酸(DNA或RNA)中之堆疊核苷酸鹼基之間的任何環結構中添加一或多個鹵素原子從而賦予插入劑以新光活性特性。如此項技術中已知，可藉由鹵化或添加非氫鍵結合離子性取代基選擇性修飾任何插入分子(補骨脂素、香豆素或其他多環結構)，從而在其反應光化學及其對細胞膜或帶電蛋白質上之核酸的競爭性結合親和力中賦予優勢。

光敏劑之主要毒性為皮膚光敏性。若皮膚暴露於直接日光歷時甚至幾分鐘，則發生嚴重曬傷。早期鼠科動物研究暗示免疫反應的劇烈及長期激發；然而，實際臨床測試未能實現光動力學療法之早期希望。光動力學療法之早期光敏劑靶向II型反應，其在氧氣存在下光活化時產生單態氧。單態氧引起細胞壞死且與發炎及免疫反應有關。已研發一些直接破壞細胞結構的額外光敏劑來誘導I型反應。

卟吩姆鈉(Porfimer sodium)(Photofrin; QLT Therapeutics, Vancouver, BC, Canada)為血卟啉衍生物(HpD)的部分純化製劑。美國食品及藥品管理局已批准Photofrin用於治療阻塞性食道癌、微創支氣管非小細胞肺癌及阻塞性支氣管非小細胞肺癌。以630 nm活化Photofrin，其具有約2至5 mm的組織穿透。Photofrin具有相對長的皮膚光敏性持續時間

(約4至6週)。

四(間羥基苯基)二氫卟吩(Foscan; Scotia Pharmaceuticals, Stirling, UK)為合成氯化化合物，其由652 nm之光活化。臨床研究已證明使用Foscan及652 nm之光對組織具有高達10 mm之作用。Foscan為對腫瘤比對正常組織更具選擇性之光敏劑，且需要相當短的光活化時間。0.1 mg/kg之推薦劑量相當低且可使用相當低劑量之光。然而，皮膚光敏性持續時間為合理的(約2週)。然而，Foscan誘導相當高產量之單態氧，此可為此分子之DNA破壞的主要機制。

莫特沙芬鑷(德卟啉鑷(Lutetium texaphryin))由近紅外區中之光(732 nm)活化。相較於用於使其他光敏劑活化之光的量而言，在此波長下之吸收具有潛在更深穿透組織之優勢(圖2A及2B)。德卟啉鑷亦具有據報導相較於正常組織之選擇性的腫瘤最大選擇性中之一者。Young SW等人：Lutetium texaphryin (PCI-0123) a near-infrared, water-soluble photosensitizer. *Photochem Photobiol* 1996, 63:892-897。此外，其臨床用途與較短皮膚光敏性持續時間有關(24至48小時)。已針對新陳代謝性皮膚癌評估德卟啉鑷。目前正在研究對復發性乳癌及局部復發性前列腺癌之治療。對腫瘤的高選擇性保證臨床試驗中之改良結果。

一般而言，該方法可與單獨或組合成用於使可活化分子活化之系統的用於激發較高電子能態之任何能源(諸如電、化學及/或輻射)一起使用。該方法可為光除去法或可類似於光除去法。儘管一般認為光除去法限於光子激發

(諸如，藉由UV光)，但可使用其他形式之輻射作為系統之部分使可活化分子活化。輻射包括作為高能輻射之電離輻射(諸如，X射線或 γ 射線)，其相互作用在物質中產生粒子對。輻射亦包括高線性能量轉移照射、低線性能量轉移照射、 α 射線、 β 射線、中子束、加速電子束及紫外線。輻射亦包括質子、光子及裂變譜中子。較高能量電離輻射可與化學方法組合產生(例如)利於共振能量轉移之態。可如此項技術中已知來組合此等激發能源之其他組合及變化，從而激發可活化分子(諸如，8-MOP)之活化。在一實例中，電離輻射係針對實體腫瘤且直接或間接激發8-MOP的活化，以及直接破壞惡性腫瘤細胞之DNA。在此實例中，8-MOP的電離輻射作用或光除去樣活化可認為是彼此的輔助療法。

在一實施例中，本發明提供一種治療由個體體內之靶結構介導之病況、疾病或病症之方法，其包含：

(1) 向個體投與活化時能夠實現預定變化之可活化醫藥劑；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中起始能源為能夠完全穿透個體之能源，且其中該施加使可活化劑原位活化，

-因此使得預定變化發生，其中靶結構中預定變化之發生使細胞分化及/或生長之速率增加或降低，從而治療病況、疾病或病症。

在另一實施例中，本發明提供一種治療由個體體內之靶

結構介導之病況、疾病或病症之方法，其包含：

(1)向個體投與一或多種能量調節劑及活化時能夠實現靶結構中之預定變化的可活化醫藥劑；及

(2)自起始能源向該個體施加起始能量，

其中該一或多種能量調節劑使所施加之起始能量轉化為UV-A或可見光能量，其隨後使可活化劑原位活化，

-因此使得預定變化發生，其中預定變化之發生使細胞分化及/或生長之速率增加或降低，從而治療病況、疾病或病症。

在不同實施例中，可活化醫藥劑可由單光子吸收事件或多光子吸收事件活化。

光動力學療法領域中之工作已顯示引起細胞溶解(且因此細胞死亡)所需之單態氧之量為 0.32×10^{-3} mol/L或更多，或 10^9 個單態氧分子/細胞或更多。然而，在本發明中，最佳避免產生將會引起細胞溶解之量的單態氧，由於其無區別攻擊性將使靶細胞及健康細胞皆溶解。因此，在本發明中，所用起始能量或活化後可活化之醫藥劑引起的單態氧產生量最佳低於引起細胞溶解所需之量。

在又一實施例中，可活化醫藥劑(較佳光活性劑)係藉由對受體部位具有強親和力之載劑定向於受體位點。載劑可為多肽且可(例如)與光活性劑形成共價鍵。多肽可為(例如)胰島素、介白素、胸腺生成素或轉鐵蛋白。或者，在未與載劑結合之狀況下，光活性醫藥劑可對靶細胞具有強親和力。

舉例而言，可應用用於使有絲分裂減緩或暫停之治療。該治療能夠減緩迅速分化之健康細胞或幹細胞的分化而不使癌細胞之有絲分裂暫停。因此，進一步區別非靶細胞與靶細胞之間的生長速率差異以增加本發明方法之效用。

在另一實施例中，本發明方法可進一步包括添加添加劑來減輕治療副作用。例示性添加劑可包括(但不限於)抗氧化劑、佐劑或其組合。在一例示性實施例中，將補骨脂素用作可活化醫藥劑，將UV-A用作活化能量，且添加抗氧化劑來減少照射的非所要副作用。

在另一態樣中，本發明亦提供產生自體疫苗之方法，包括：(1)提供靶向細胞群體；(2)以補骨脂素或其衍生物離體處理細胞；(3)以起始能源使補骨脂素活化從而在靶細胞群體中之靶結構中誘導預定變化；及(4)使經處理細胞返回至宿主從而誘導針對靶向細胞之自體疫苗作用，其中經處理細胞引起自體疫苗作用。

在不同實施例中，提供一種用於產生個體之自體疫苗之方法，其包含：

- (1) 提供靶細胞群體；
- (2) 在與個體分開且隔離之環境中以能夠藉由多光子吸收事件活化之可活化醫藥劑離體處理靶細胞；
- (3) 使經處理靶細胞暴露於能源；
- (4) 以能源藉由多光子吸收事件活化可活化醫藥劑以誘導靶細胞中至少一種靶結構中的預定變化；及
- (5) 使因此改變之細胞返回至個體以在個體體內誘導針

對靶細胞之自體疫苗作用，

其中變化之細胞用作自體疫苗且能源為x射線、 γ 射線、電子束、微波或無線電波。

在另一實施例中，本發明方法可進一步包括一種用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之方法，其包含：

- (1) 使該靶結構與至少一種在活化時能夠實現靶結構中預定變化之可活化醫藥劑及至少一種電漿子活性劑接觸；及
- (2) 自起始能源向靶結構施加起始能量

其中電漿子活性劑增強或調節所施加之起始能量，使得所增強之起始能量使可活化劑活化，

-因此使得靶結構發生預定變化，其中該預定變化修飾靶結構且調節靶結構之生物活性。

在不同實施例中，預定變化增強該靶結構之表現、促進該靶結構之生長或增加該靶結構之量；使該靶結構之一般生物活性相較於類似未處理靶結構得到增強、抑制或穩定，及/或改變該靶結構之免疫學或化學特性。在不同實施例中，該靶結構為由該預定變化修飾變得更具抗原性或免疫原性或較不具抗原性或免疫原性之化合物。

可將可活化醫藥劑及其衍生物以及能量調節劑併入至適於投與之醫藥組合物中。該等組合物通常包含可活化醫藥劑及醫藥學上可接受之載劑。醫藥組合物亦包含至少一種具有補充治療或診斷作用之添加劑，其中該添加劑為選自

抗氧化劑、佐劑或其組合之添加劑。

如本文所用，「醫藥學上可接受之載劑」意欲包括與醫藥投與相容之任何及所有溶劑、分散介質、塗層、抗菌劑及抗真菌劑、等滲及吸收延遲劑及其類似物。此項技術中熟知用於醫藥活性物質之該等介質及藥劑的用途。除非任何習知介質或藥劑與活性化合物不相容，亦預期其在組合物中之用途。補充活性化合物亦可併入組合物中。可對本發明化合物進行改質以影響化合物之溶解度或清除率。此等分子亦可以D-胺基酸合成來增加耐酶降解性。若需要，則可活化醫藥劑可與增溶劑(諸如，環糊精)共同投與。

調配本發明之醫藥組合物使其與所欲投與途徑相容。投與途徑之實例包括非經腸投與，例如靜脈內、皮內、皮下、經口(例如，吸入)、經皮(局部)、經黏膜、直腸投與及直接注入受到侵襲的區域，諸如直接注入腫瘤中。用於非經腸、皮內或皮下應用之溶液或懸浮液可包括以下組份：無菌稀釋劑，諸如注射用水、生理食鹽水溶液、不揮發性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶劑；抗菌劑，諸如苯甲醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，諸如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，諸如乙二胺四乙酸；緩衝劑，諸如乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽；及張力調節劑，諸如氯化鈉或右旋糖。可用諸如鹽酸或氫氧化鈉之酸或鹼來調整pH值。非經腸製劑可封裝於由玻璃或塑膠製成之安瓿、拋棄式注射器或多劑量小瓶中。

適合可注射使用之醫藥組合物包括無菌水溶液(水溶性

狀況下)或分散液及用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液之無菌散劑。對於靜脈內投與而言，合適載劑包括生理食鹽水、抑菌水或磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)。所有狀況中，組合物必須無菌且流動程度必須易於注射。其在製造及儲存條件下必須穩定，且必須防止微生物(諸如細菌及真菌)之污染作用。載劑可為溶劑或分散介質，含有(例如)水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液體聚乙二醇，及其類似物)及其合適混合物。可例如藉由使用諸如卵磷脂之塗層，藉由保持所要粒徑(在分散液狀況下)，及藉由使用界面活性劑來保持適當流動性。預防微生物之作用可藉由各種抗菌劑及抗真菌劑(例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞及其類似物)實現。在許多狀況下，較佳在組合物中包括等滲劑，例如糖、諸如甘露糖醇、山梨糖醇之多元醇、氯化鈉。可藉由將延遲吸收之藥劑(例如單硬脂酸鋁及明膠)納入組合物中而致使長期吸收可注射組合物。

無菌可注射溶液係如下製備：將所要量之活性化合物視需要與上述成份中之一者或組合一起併入適當溶劑中，繼而過濾滅菌。一般而言，藉由將活性化合物併入無菌媒劑中來製備分散液，該無菌媒劑含有鹼性分散介質及來自上文所列舉之成份的所需其他成份。在使用無菌散劑製備無菌可注射溶液之狀況下，製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥，產生來自其事先無菌過濾之溶液的活性成份加任何其他所要成份之散劑。

經口組合物一般包括惰性稀釋劑或食用載劑。其可封入明膠膠囊中或壓實成錠劑。對於經口治療投與之目的而言，活性化合物可與賦形劑合併且用於形成錠劑、片劑或膠囊。經口組合物亦可使用流體載劑製備以供用作漱口藥，其中流體載劑中之化合物係經口施用且漱口及吐出或吞下。可包括醫藥學上相容之黏合劑及/或佐劑材料作為組合物之部分。錠劑、丸劑、膠囊、片劑及其類似物可含有以下成份或類似特性之化合物中之任一者：黏合劑，諸如微晶纖維素、黃耆膠或明膠；賦形劑，諸如澱粉或乳糖；崩解劑，諸如褐藻酸、澱粉羥基乙酸鈉或玉米澱粉；潤滑劑，諸如硬脂酸鎂 Sterotes；助流劑，諸如膠體二氧化矽；甜味劑，諸如蔗糖或糖精；或調味劑，諸如胡椒薄荷、水楊酸甲酯或橙味調味劑。

對於藉由吸入投與而言，化合物以氣溶膠噴霧形式自含有合適推進劑(例如，氣體，諸如二氧化碳)之加壓容器或施配器或噴霧器傳遞。

全身投與亦可藉由經黏膜或經皮方式進行。對於經黏膜或經皮投與而言，在調配物中使用對將要滲透之障壁而言適當之滲透劑。該等滲透劑通常在此項技術中已知，且對於經黏膜投與而言，包括(例如)清潔劑、膽汁鹽及梭鏈孢酸衍生物。可藉由使用經鼻噴霧或栓劑完成經黏膜投與。對於經皮投與而言，如此項技術中一般已知將活性化合物調配於軟膏、油膏、凝膠或乳膏中。

化合物亦可製備為栓劑(例如，與習知栓劑基劑(諸如可

可脂及其他甘油酯)一起)或保留灌腸劑形式用於直腸傳遞。

在一實施例中，用保護化合物不自身體快速消除之載劑來製備活性化合物，諸如控制釋放調配物，包括植入物及微囊封傳遞系統。可使用生物可降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。製備該等調配物之方法對彼等熟習此項技術者而言將顯而易見。材料亦可以商業途徑獲得。脂質懸浮液(包括靶向對病毒抗原具有單株抗體之受感染細胞的脂質體)亦可用作醫藥學上可接受之載劑。其可根據彼等熟習此項技術者已知之方法(例如美國專利第4,522,811號中所述)來製備。

將口服或非經腸組合物調配為易於投與且劑量均一之劑量單位形式尤其有利。如本文所用之劑量單位形式係指適合作為單一劑量用於待治療個體的物理離散單元；各單元含有經計算以產生所要治療作用之預定量的活性化合物與所要醫藥載劑。本發明之劑量單位形式的規格由以下因素支配且直接視以下因素而定：活性化合物之獨特特徵及欲實現之特定治療作用；及為治療個體而混合該活性化合物之技術中的固有限制。

醫藥組合物可連同投藥之說明書包括於容器、包裝或施配器內。

投與本發明藥劑之方法不限於諸如注射或經口輸注之習知方式，而是包括更先進且複雜之能量轉移形式。舉例而

言，可使用攜帶及表現能量調節劑之經遺傳工程設計之細胞。來自宿主之細胞可經表現生物發光劑之遺傳工程設計之載體轉染。轉染可經原位基因治療技術(諸如，注射病毒載體或基因槍)完成，或可藉由移除宿主細胞之樣本且接著在成功轉染後使其返回宿主離體進行。

該等經轉染細胞可插入至或另外靶向患病細胞所處部位。在此實施例中，起始能源可為生物化學源(諸如，ATP)，在該狀況下認為起始能源直接植入至轉染細胞中。或者，可在患病細胞部位移植能夠用作起始能源之習知微發射體裝置。

亦將瞭解不同藥劑之投與順序不受特定限制。因此，在一些實施例中，可在能量調節劑之前投與可活化醫藥劑，而在其他實施例中，可在可活化醫藥劑之前投與能量調節劑。應瞭解，可視諸如藥劑吸收速率、藥劑之位置及分子通行(molecular trafficking)特性，及其他藥物動力學或藥效學考慮因素之因素而定有利地採用不同順序組合。

另一實施例為本發明用於治療皮膚癌之用途。在此實施例中，向患者給予光可活化劑(較佳，補骨脂素)，且該光可活化劑係經血液供應傳遞至皮膚病變處。具有有限穿透能力之活化源(諸如，UV或IR)直接照在皮膚上-在補骨脂素狀況下，將為UV光或IR源。藉由使用IR源，照射將穿透得較深且以補骨脂素經兩個單光子事件產生UV。

在另一實施例中，本發明之此態樣之方法進一步包括將經處理細胞之組份分離成小份且在宿主體內測試各小份之

自體疫苗作用的步驟。接著可將因此分離且鑑別之組份用作有效自體疫苗來刺激宿主免疫系統，從而抑制靶向細胞的生長。

在另一態樣中，本發明進一步提供用於實踐上文所述方法之系統及套組。

在一實施例中，提供一種用於在個體體內產生自體疫苗之系統，其包含：

至少一種可活化醫藥劑，其能夠由多光子吸收事件活化且能夠經該個體之靶細胞中的至少一種靶結構誘導預定細胞變化；

在該個體體內放置該至少一種可活化醫藥劑之構件；及

起始能源，其提供能夠藉由多光子吸收事件使該靶細胞中的至少一種可活化醫藥劑活化之起始能量，其中活化為直接活化或間接活化。

在不同實施例中，本發明系統可包括：(1)起始能源；及(2)一或多種能量調節劑。該系統可進一步包含(3)一或多種可活化醫藥劑。在另一實施例中，系統可僅包含(1)起始能源。在又一實施例中，系統可包含(1)起始能源；及(3)一或多種可活化醫藥劑。圖3說明根據本發明例示性實施例之系統。參看圖3，根據本發明之一實施例的例示性系統可具有與個體4對準之起始能源1。向個體4投與可活化醫藥劑2及能量調節劑3。起始能源可另外受能夠指引起始能量之傳遞的電腦系統5控制。

在較佳實施例中，起始能源可為配備有圖像引導電腦控制能力之線性加速器以向預選擇座標傳遞精確校準之輻射束。該等線性加速器之一實例為來自 Varian Medical Systems(Varian Medical Systems, Inc., Palo Alto, California) 之 SmartBeam™ IMRT(強度調節放射療法)系統。

在其他實施例中，配備有適當起始能量發射體之內視鏡或腹腔鏡裝置可用作起始能源。在該等系統中，起始能量可導航且定位於預選擇座標處從而向該部位傳遞所要量之起始能量。

在其他實施例中，系統中亦包括劑量計算及機器人操作裝置。

在又一實施例中，亦提供一種用於設計及選擇起始能源、能量轉移劑及可活化醫藥劑之合適組合的電腦實施系統，其包含：

一中央處理單元(CPU)，其具有一儲存媒體，在該儲存媒體上提供：

一可激發化合物之資料庫；

一用於鑑別及設計可激發化合物的第一計算模組，該化合物能夠與靶細胞結構或組份結合；及

一預測可激活化合物之共振吸收能量的第二計算模組，

其中該系統在選擇靶細胞結構或組份後對能夠與靶結構結合之可激發化合物進行計算，隨後進行計算以預測可激發化合物之共振吸收能量。

圖 4 說明根據本發明之此實施例的例示性電腦實施系統。參看圖 4，根據本發明之一實施例的例示性電腦實施系統可具有一與一記憶體單元連接之中央處理單元 (CPU)，其經組態使得 CPU 能夠處理使用者輸入且基於能譜比較選擇用於本發明方法之起始能源、可活化醫藥劑及能量轉移劑之組合。

圖 5 說明用於實施本發明各種實施例之電腦系統 1201。電腦系統 1201 可用作執行任何或所有上述 CPU 之功能的控制器 55。電腦系統 1201 包括一匯流排 1202 或用於傳達資訊之其他通信機構，及一與該匯流排 1202 耦接以處理資訊之處理器 1203。電腦系統 1201 亦包括一主記憶體 1204，諸如隨機存取記憶體 (RAM) 或其他動態儲存裝置 (例如，動態 RAM (DRAM)、靜態 RAM (SRAM) 及同步 DRAM (SDRAM))，該主記憶體與匯流排 1202 耦接以儲存待由處理器 1203 執行之資訊及指令。此外，主記憶體 1204 可用於儲存處理器 1203 執行指令期間的臨時變數或其他中間資訊。電腦系統 1201 另外包括一唯讀記憶體 (ROM) 1205 或其他靜態儲存裝置 (例如，可程式化 ROM (PROM)、可抹除 PROM (EPROM) 及電子可抹除 PROM (EEPROM))，其與匯流排 1202 耦接以儲存處理器 1203 之靜態資訊及指令。

電腦系統 1201 亦包括一與匯流排 1202 耦接以控制一或多個用於儲存資訊及指令之儲存裝置的磁碟控制器 1206，諸如一磁性硬碟 1207 及一可移動媒體驅動器 1208 (例如軟碟驅動器、唯讀光碟驅動器、讀/寫光碟驅動器、光碟記錄

庫(jukebox)、磁帶驅動器及可移動磁光驅動器)。可使用適當裝置介面(例如,小型電腦系統介面(SCSI)、整合裝置電子器件(integrated device electronics, IDE)、增強型IDE(E-IDE)、直接記憶體存取(DMA)或超級DMA)將該等儲存裝置添加至電腦系統1201中。

電腦系統1201亦可包括特殊目的邏輯裝置(例如特殊應用積體電路(ASIC))或可組態邏輯裝置(例如簡單可程式化邏輯裝置(SPLD)、複雜可程式化邏輯裝置(CPLD)及場可程式化閘陣列(FPGA))。

電腦系統1201亦可包括一與匯流排1202耦接以控制一用於向電腦使用者顯示資訊之顯示器1210(諸如陰極射線管(CRT))的顯示控制器1209。電腦系統包括用於與一電腦使用者相互作用且向處理器1203提供資訊之輸入裝置,諸如一鍵盤1211及一指向裝置1212。該指向裝置1212(例如)可為一滑鼠、一軌跡球或一指向棒以向處理器1203傳達方向資訊及命令選擇且用於控制顯示器1210上之游標移動。此外,可提供一印表機以打印由電腦系統1201儲存及/或產生之資料列表。

電腦系統1201響應於執行記憶體(諸如主記憶體1204)中所包含之一或多個指令中之一或多個序列的處理器1203實施本發明之處理步驟(諸如彼等關於圖5所述之步驟)中之一部分或全部。該等指令可自另一電腦可讀媒體(諸如一硬碟1207或一可移動媒體驅動器1208)經讀取進入主記憶體1204中。亦可採用一或多個多處理排列之處理器以執行主

記憶體 1204 中所包含之指令序列。在替代實施例中，可使用硬連線電路來代替軟體指令或與軟體指令組合。因此，實施例並不限於硬體電路及軟體之任何特定組合。

如上所述，電腦系統 1201 包括至少一個用於容納根據本發明之教示程式化之指令且用於包含資料結構、表格、記錄或本文所述之其他資料的電腦可讀媒體或記憶體。電腦可讀媒體之實例為光碟、硬碟、軟碟、磁帶、磁光碟、PROM(EPROM、EEPROM、快閃 EPROM)、DRAM、SRAM、SDRAM，或任何其他磁性媒體，光碟(例如，CD-ROM)，或任何其他光媒體，打孔卡片、紙帶，或具有孔圖案之其他實體媒體，載波(如下所述)，或電腦可讀之任何其他媒體。

本發明包括儲存於電腦可讀媒體中之任一者或儲存於其組合上用於控制電腦系統 1201、用於驅動實施本發明之裝置，及用於使得電腦系統 1201 能夠與人類使用者(例如印刷生產人員)相互作用之軟體。該軟體可包括(但不限於)裝置驅動器、操作系統、研發工具及應用軟體。該等電腦可讀媒體另外包括用於執行在實施本發明時所執行的處理之全部或一部分(若處理為分布式)之本發明之電腦程式產品。

本發明之電腦程式碼裝置可為任何可解譯或可執行程式碼機制，包括(但不限於)指令碼、可解譯程式、動態鏈接庫(DLL)、Java類及完整的可執行程式。此外，本發明之處理的一部分可經分布以實現較佳效能、可靠性及/或成

本。

如本文所用之術語「電腦可讀媒體」係指參與向處理器1203提供指令以供執行的任何媒體。電腦可讀媒體可採用多種形式，包括(但不限於)非揮發性媒體、揮發性媒體及傳輸媒體。非揮發性媒體包括(例如)光碟、磁碟及磁光碟，諸如硬碟1207或可移動媒體驅動器1208。揮發性媒體包括動態記憶體，諸如主記憶體1204。傳輸媒體包括同軸電纜、銅線及光纖，包括構成匯流排1202之線。傳輸媒體亦可能採用音波或光波之形式，諸如彼等在無線電波及紅外資料通信期間產生者。

各種形式之電腦可讀媒體可涉及將一或多個指令之一或多個序列輸出至處理器1203以供執行。舉例而言，該等指令最初可運載於遠端電腦之磁碟上。該遠端電腦可將用於實施本發明之全部或一部分之指令自遠端載入至一動態記憶體中，且使用數據機經由電話線發送該等指令。對於電腦系統1201為本端之數據機可接收該電話線上的資料且使用紅外傳輸器將該等資料轉化為紅外信號。與匯流排1202耦接之紅外偵測器可接收紅外信號中所運載之資料且將該等資料置放於匯流排1202上。匯流排1202將該等資料運至主記憶體1204，處理器1203由此取回且執行該等指令。主記憶體1204所接收之指令可視情況在處理器1203執行之前或之後儲存於儲存裝置1207或1208上。

電腦系統1201亦包括一與匯流排1202耦接之通信介面1213。該通信介面1213提供一與一網路鏈路1214耦接之雙

向資料通信，該網路鏈路 1214 與(例如)區域網路(LAN)1215 或與另一通信網路 1216(諸如網際網路)連接。舉例而言，通信介面 1213 可為一與任何封包交換式 LAN 附接之網路介面卡。作為另一實例，通信介面 1213 可為非對稱數位用戶線(ADSL)卡、整體服務數位網路(ISDN)卡或數據機以向相應類型之通信線路提供資料通信連接。可執行無線鏈路。在任何該實施例中，通信介面 1213 發送且接收運載表示各類資訊之數位資料流的電信號、電磁信號或光信號。

網路鏈路 1214 通常經由一或多個網路提供與其他資料裝置之資料通信。舉例而言，網路鏈路 1214 可經由區域網路 1215(例如 LAN)或經由由服務提供者操作之設備(其經由通信網路 1216 提供通信服務)提供與另一電腦之連接。區域網路 1214 及通信網路 1216 使用(例如)運載數位資料流之電信號、電磁信號或光信號及相關實體層(例如 CAT 5 電纜、同軸電纜、光纖等)。將數位資料運載至電腦系統 1201 且自電腦系統 1201 運載數位資料的經由各種網路之信號及網路鏈路 1214 上及經由通信介面 1213 之信號可以基帶信號或載波基信號實施。基帶信號以描述數位資料位元流之未調製電脈衝形式傳送數位資料，其中術語「位元」應廣泛視為意謂符號，其中各符號傳送至少一或多個資訊位元。數位資料亦可用於(諸如)用經導電媒體傳播或以電磁波形式傳輸穿過傳播媒體之振幅、相位及/或頻率偏移鍵控信號調製載波。因此，數位資料可以未調製基帶資料形式經由

「連線」通信通道發送，且/或藉由調製載波在不同於基帶之預定頻帶內發送。電腦系統1201可經由網路1215及1216、網路鏈路1214及通信介面1213傳輸且接收資料(包括程式碼)。此外，網路鏈路1214可經LAN 1215提供與移動裝置1217(諸如個人數位助理(PDA)膝上型電腦或蜂窩式電話)之連接。

先前在圖1中所示之例示性能譜亦可用於此電腦實施系統中。

適用於本發明之方法及系統的試劑及化學品可包裝於套組中以有利於應用本發明。在一例示性實施例中，涵蓋包括補骨脂素，及用於容易地分離及隔離自體疫苗之分離容器的套組。套組之另一實施例將包含至少一種能夠引起預定細胞變化之可活化醫藥劑，至少一種在供能時能夠使該至少一種可活化劑活化的能量調節劑，及適於以穩定形式儲存藥劑之容器，且較佳另外包含用於向個體投與該至少一種可活化醫藥劑及該至少一種能量調節劑及施加來自起始能源之起始能量以使該可活化醫藥劑活化的說明書。該等說明書可為任何所需形式，包括(但不限於)印刷於套組插頁上，印刷於一或多個容器上，以及電子儲存媒體(諸如電腦可讀儲存媒體)上所提供之電子儲存說明書。亦視情況包括電腦可讀儲存媒體上之軟體包，其使得使用者可整合資訊且計算控制劑量，計算且控制照射源之強度。

在本發明之不同態樣中，提供一種用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之套組，其包含：

至少一種選自由能量調節劑、電漿子活性劑及其組合組成之群的藥劑；

-其中該能量調節劑(若存在)將起始能量上調或下調為能直接或間接引起靶結構中之預定變化之活化能量；

-其中該電漿子活性劑(若存在)增強或改變所施加之起始能量或由能量調節劑產生之活化能量，或其兩者；且一或多個適於以穩定形式儲存該等藥劑之容器。

在不同實施例中，提供一種執行病況、病症或疾病治療之套組，其包含：

至少一種能量調節劑，該能量調節劑能夠吸附、強化起始能量或將其改變為能夠引起靶結構中之預定變化的能量；及

適於以穩定形式儲存藥劑之容器。

在又一實施例中，套組可進一步包含用於向個體投與至少一種能量調節劑之說明書。

電漿子增強之光譜療法

在本發明之PEPST實施例中，本發明顯著區別於通常稱為光-熱療法(PTT)的光照治療術技術。為了說明本發明PEPST、光譜療法(PST)形式與PTT技術之間的差異，在下文中論述PST及PPT中所涉及之光化學法。

當藥物分子吸收激發光時，電子自基態躍遷至激發電子態。電子激發能量隨後經輻射發射(發光)及無輻射衰變通道而弛緩。當分子吸收激發能量時，其自 S_0 升至簇(manifold) S_1, \dots, S_n 中激發單重態 S_n 中之一者的某一振動能

階。在凝聚介質(組織)中， S_n 態之分子在 10^{-13} 至 10^{-11} s內經由振動弛緩(VR)過程迅速失活，確保其在 S_n 之可能的最低振動能階。由於VR過程比電子躍遷快，因此在分子失活至相應激發電子態之較低電子振動能階時任何過量振動能量均迅速損失。此過量VR能量以熱能形式向周圍介質釋放。分子經由內部轉化(IC)過程自 S_n 態迅速失活至較低電子態(諸如， S_{n-1})之等能振動能階。IC過程為具有相同多重度之能態之間的躍遷。分子隨後經由VR過程失活至 S_{n-1} 之最低電子振動能階。藉由連續IC過程隨即繼而VR過程，分子迅速失活至基態 S_1 。此過程使過量VR及IC能量以熱能形式向周圍介質釋放，使光吸收藥物分子周圍之局部環境過熱。所產生之熱導致局部細胞或組織破壞。光吸收物質包括組織中之天然發色團或外源染料化合物，諸如吡啶菁綠、茶酞菁及與過渡金屬配位之卟啉，及金屬奈米粒子及金屬奈米殼。然而，天然發色團遭受極低吸收。基於強吸收截面及高效之光與熱轉化而選擇外源光熱劑。此特徵使誘導患病細胞局部破壞所需之雷射能量之量大大減小，使治療方法侵入性較低。與使用染料分子有關之問題為其在雷射照射下會光褪色。因此，近年來已使用諸如金奈米粒子及奈米殼之奈米粒子。已證明奈米殼在腫瘤光熱療法中有前景之作用 [Hirsch, L.R.、Stafford, R.J.、Bankson, J.A.、Sershen, S.R.、Rivera, B.、Price, R.E.、Hazle, J. D.、Halas, N. J.及 West, J. L., *Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic*

resonance guidance. PNAS, 2003. 100(23) : 第 13549-13554 頁]。亦已評述金屬奈米粒子之電漿子增強光熱特性用於光熱治療之用途 (Xiaohua Huang & Prashant K. Jain & Ivan H. El-Sayed & Mostafa A. El-Sayed, 「*Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles*」, *Lasers in Medical Science*, 2007年8月)。

然而，本發明之PST法係基於輻射過程(螢光、磷光、發光、拉曼(Raman)等)，而PTT法係基於分子中之無輻射過程(IC、VR及熱轉化)。

電漿子及增強之電磁場的基本原理

儘管已利用電漿子金屬奈米粒子的光熱特性，但未報導電漿子活性奈米粒子在光照治療術中之分光吸收及發射。

在本發明PEPST中，電漿子增強之分光特性(光譜吸收、發射、散射)為治療中所涉及的主要因素。

PEPST原理係基於電磁場效應的增強機制。電磁增強存在兩個主要來源：(1)第一，雷射電磁場由於由金屬粒子極化引起之場增加而增強；(2)除了激發雷射場之增強之外，亦存在由於輻射放大之發射(發光、拉曼等)場的分子產生之另一增強，該放大之發射場進一步極化金屬粒子，從而充當天線以進一步放大拉曼/發光信號。

電磁增強分為兩大類：a)僅在輻射場存在下發生之增強，及b)即使在無輻射場的狀況下亦發生之增強。將第一類增強進一步分成數個過程。基材表面之電漿共振(亦稱作表面電漿)為電磁增強提供主要貢獻。有效類型之電漿

子活性基材包含奈米結構化金屬粒子、金屬材料之凸出物或粗糙面。照射此等表面之入射光激發金屬中之傳導電子，且誘導表面電漿之激發，導致拉曼/發光增強表面電漿。在電漿子頻率下，金屬奈米粒子(或奈米結構化粗糙度)變得極化，產生大的場誘導極化且進而在表面上產生大的局部場。此等局部場增加發光/拉曼發射強度，其與分子處所施加之場的平方成正比。因此，在此等表面上分析物分子所經受之有效電磁場比實際所施加之場大得多。此場隨著遠離該表面以 $1/r^3$ 之方式減小。因此，在電磁模型中，發光/拉曼活性分析物分子無需與金屬表面接觸而可位於處於可極化此分子之增強之局部場範圍內的任何位置。拉曼或發光波長 λ 下之偶極振盪又可極化金屬奈米結構，且若 λ 與區域化表面電漿共振，則該等奈米結構可增強所觀察到之發射光(拉曼或發光)。

電磁增強存在兩個主要來源：(1)第一，雷射電磁場由於由金屬粒子極化引起之場增加而增強；(2)除了激發雷射場增強之外，亦存在由於輻射放大之拉曼/發光場的分子產生之另一增強，該放大之發射場進一步極化金屬粒子，從而充當天線以進一步放大拉曼/發光信號。電漿子活性金屬奈米粒子亦展示強烈增強之可見光及近紅外光吸收，比習知雷射光照治療劑強烈數個數量級。使用電漿子奈米粒子作為高度增強之光吸收劑因此提供選擇性及有效光照治療術策略。金屬奈米粒子之光譜特性的可調整性及電漿子奈米結構的生物靶向能力使PEPST法有前途。

本發明PEPST係基於數個重要機制：

- 電漿子金屬奈米粒子對激發光之吸收增強，導致藥物分子光活化增強
- 充當更有效能量調節劑系統之電漿子金屬奈米粒子對激發光之吸收增強，產生更多光以用於增強PA分子的激發
- 吸附於電漿子金屬奈米粒子上或附近之光活性藥物系統對激發光之吸收增強
- 吸附於金屬奈米粒子上或附近之能量調節劑分子之光吸收增強
- 吸附於金屬奈米粒子上或附近之能量調節劑分子之光發射放大
- PA分子對自能量調節劑發射之發射光的吸收增強。

可增強自金屬奈米結構拉曼散射體所吸附或附近之分子所發射之光(拉曼或發光)之效率的數個現象中之一者為表面增強之拉曼散射(SERS)效應。1984年，本發明者中之一者首次報導了SERS作為分析技術之一般適用性，及SERS量測多種化合物(包括數種同環及雜環聚芳族化合物)之可能性[T. Vo-Dinh, M.Y.K. Hironoto, G. M. Begun及R. L. Moody, 「Surface-enhanced Raman spectroscopy for trace organic analysis,」 *Anal. Chem.*, 第56卷, 1667, 1984]。自20世紀80年代中期以來，已從事廣泛研究以理解且模擬SERS中之拉曼增強。舉例而言，圖6顯示Kerker早在1984年模擬介電核(dielectric core)周圍球形銀奈米粒子及金屬

奈米殼之電磁場增強的早期研究[M. M. Kerker, *Acc. Chem. Res.*, 17, 370 (1984)]。此圖顯示對於不同激發波長下分離之球形奈米球及奈米殼之電磁增強的理論計算結果。對於吸附於SERS基材上之化合物而言，通常較弱之拉曼散射過程之強度增強達 10^{13} 或 10^{15} 倍，使得可進行單分子偵測。由於奈米結構化金屬表面附近所產生之電磁場增強，奈米粒子愈來愈多地用作螢光及拉曼奈米探針。

理論模型表明有可能將奈米粒子及奈米殼之尺寸調整至激發波長。實驗證據表明 10^6 至 10^{15} 倍拉曼增強之原因主要由兩個機制產生：a)金屬表面結構附近發生之由電磁共振引起之大的局部場相關之電磁「避雷針」效應，通常稱為「表面電漿」，及b)與分子與金屬表面之間之直接能量轉移相關之化學效應。

根據經典電磁理論，電磁場可在光入射於金屬奈米結構上時局部放大。此等場增強可能相當大(通常增強 10^6 至 10^7 倍，但在「熱點(hot spot)」處高達 10^{15} 倍)。當由電磁場(例如雷射束)照射奈米結構化金屬表面時，導帶內之電子開始在等於入射光之頻率的頻率下振盪。此等振盪電子(稱作「表面電漿」)產生加到入射場之第二電場。若此等振盪電子在空間上受限制，如分離之金屬奈米球或粗糙金屬表面(奈米結構)之狀況下，則存在特徵頻率(電漿子頻率)，在該特徵頻率下存在集體振盪對入射場之共振響應。此條件產生可與金屬表面上或附近之分子相互作用之強烈區域化場增強。在類似於「避雷針」之效應中，第二

場通常大多數集中於粗糙金屬表面上高曲率之位置處。

PEPST探針之設計、製造及操作

圖7顯示可經設計之PEPST探針的許多各種實施例：

- (A) 包含與金屬(金)奈米粒子結合之PA分子；
- (B) 以金屬奈米粒子覆蓋之含PA奈米粒子；
- (C) 以PA奈米帽覆蓋之金屬奈米粒子；
- (D) 以金屬奈米帽覆蓋之含PA奈米粒子；
- (E) 以PA奈米殼覆蓋之金屬奈米粒子；
- (F) 以金屬奈米殼覆蓋之含PA奈米粒子；及
- (G) 以具有保護性塗層之金屬奈米殼覆蓋的含PA奈米粒子。

圖7A中顯示PEPST探針之基本實施例。此探針包含與金屬(例如金)奈米粒子結合之PA分子。圖8說明PEPST探針的電漿子增強效應。金奈米粒子可充當藥物傳遞平台。金奈米粒子已描述為基於粒子之腫瘤靶向藥物傳遞領域中的新穎技術[*Giulio F. Paciotti and Lonnie Myer, David Weinreich, Dan Goia, Nicolae Pavel, Richard E. McLaughlin, Lawrence Tamarkin, Colloidal Gold: A Novel Nanoparticle Vector for Tumor Directed Drug Delivery, Drug Delivery, 11:169-183, 2004*]。能夠逃脫網狀內皮系統(RES)之吞噬細胞清除之粒子傳遞系統可利於使癌症治療劑靶向實體腫瘤。該等傳遞系統在理想條件下可優先累積於腫瘤微環境內。能夠在腫瘤內選擇性隔絕光治療藥物之粒子傳遞系統亦可減少藥物在健康器官中之累積。因此，此等傳遞系統可增加療法的

相對功效或安全性(較少輻射能量及強度)，且因此將增加藥物的治療效率。

使用合適能量之輻射激發PA藥物分子(例如，胺基乙醯丙酸(ALA)、卟啉)且使其具有光活性。舉例而言，對於PDT藥物ALA而言，可使用HeNe雷射光(632.8- nm激發)激發。在此狀況下，金屬奈米粒子經設計以展示約632.8 nm之強電漿子共振帶。表面電漿共振效應使激發光在奈米粒子處放大，導致增強之PA藥物分子光活化及改良之治療效率。電漿子增強之機制亦可用於圖7B、7C、7D、7E、7F及7G中之其他PEPST探針。

圖34顯示電漿子光活性探針的又一實施例。圖35顯示在金屬與UC材料之間具有介電層之電漿子光活性探針的又一實施例。

在一實施例中，提供一種根據本發明治療病況、病症或疾病之方法，其包含：

(1) 向個體投與至少一種在活化時能夠實現靶結構中預定變化之可活化醫藥劑及至少一種電漿子活性劑；及

(2) 自起始能源向該個體施加起始能量，

其中電漿子活性劑增強或改變所施加之起始能量，使得所增強之起始能量使可活化劑原位活化，

因此使得靶結構發生預定變化，其中該預定變化修飾靶結構且治療該病況、病症或疾病。

在不同實施例中，本發明方法包含：

(1) 使該靶結構與至少一種在活化時能夠實現靶結構中

預定變化之可活化醫藥劑及至少一種電漿子活性劑接觸；及

(2) 自起始能源向靶結構施加起始能量

其中電漿子活性劑增強或改變所施加之起始能量，使得所增強之起始能量使可活化劑活化，

-因此使靶結構發生預定變化，其中該預定變化修飾靶結構且調節靶結構之生物活性。

在不同實施例中，亦可添加至少一種能量調節劑及/或產生激發之能量調節劑材料。在一實施例中，能量調節劑或產生激發之能量調節劑材料可吸附、強化或改變起始能量，該起始能量接著由至少一種電漿子劑增強。在不同實施例中，能量調節劑或產生激發之能量調節劑材料可吸附、強化或改變由至少一種電漿子活性劑增強之能量，且發射能夠使可活化醫藥劑 (pharmaceutical activatable agent) 活化之能量。

在另一實施例中，預定變化增強該靶結構之表現、促進該靶結構之生長或增加該靶結構之量。在又一不同實施例中，預定變化使該靶結構之一般生物活性相較於類似未處理靶結構增強、抑制或穩定。在不同實施例中，預定變化使該靶結構之免疫或化學特性改變。在不同實施例中，靶結構為由該預定變化修飾變得更具抗原性或免疫原性或較不具抗原性或免疫原性之化合物。

電漿子活性金屬奈米結構之結構

金屬奈米粒子內電漿子共振由經入射光場驅動之自由電

子之集體振盪產生。奈米粒子之電漿子響應在愈來愈多應用中起作用，該等應用包括表面增強拉曼散射(SERS)、化學感測、藥物傳遞、光熱癌症療法及新穎光子裝置。本發明者中之一者已研究及應用用於SERS偵測之電漿子奈米基材超過二十年 [T. Vo-Dinh, 「Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Using Metallic Nanostructures,」 *Trends in Anal. Chem.*, 17, 557(1998)]。1984年，本發明者中之一者首次報導了SERS技術用於痕量分析多種化學物(包括數種同環及雜環聚芳族化合物)的實踐分析用途 [T. Vo-Dinh, M.Y.K. Hiromoto, G. M. Begun及R. L. Moody, 「Surface-enhanced Raman spectroscopy for trace organic analysis,」 *Anal. Chem.*, 第56卷, 1667, 1984]。自此以後，不斷進行用於化學感測、生物分析及醫學診斷應用之SERS技術的開發。該等基材包括奈米粒子及一側包含塗佈有金屬(諸如銀)之奈米粒子層的半奈米殼(奈米帽或半殼)。多個團隊已顯示球形殼之電漿子共振可藉由控制奈米殼結構之殼厚度及縱橫比來調整 [M. M. Kerker, *Acc. Chem. Res.*, 17, 370 (1984); J. B. Jackson, S. L. Westcott, L. R. Hirsch, J. L. West及N. H. Halas, 「Controlling the surface enhanced Raman effect via the nanoshell geometry,」 *Appl. Phys. Lett.*, 第82卷, 257-259, 2003; S. J. Norton及T. Vo-Dinh, 「Plasmonic Resonances of nanoshells of Spheroidal Shape」, *IEEE Trans. Nanotechnology*, 6, 627-638 (2007)]。此等殼通常在介電核上包含金屬層。在本發明之

一實施例中，由於電漿子共振(縱向與橫向模式)受殼厚度與縱橫比影響，因此此等殼包含球形殼。儘管似乎尚未研究球形殼，但多個研究者已在其分析表面增強拉曼散射時檢查了固體球形粒子之電漿子響應。本發明亦包括扁長及扁圓球形殼，該等殼在其電漿子共振中展示某些值得關注之定性特徵。球形殼顯示兩個調整自由度：殼厚度及殼縱橫比[S. J. Norton及T. Vo-Dinh, 「*Plasmonic Resonances of Nanoshells of Spheroidal Shape*」, *IEEE Trans. Nanotechnology*, 6, 627-638 (2007)]。

圖9顯示可設計且為本發明之較佳實施例之電漿子活性奈米結構之一些各種實施例：

- (A) 金屬奈米粒子；
- (B) 以金屬奈米帽覆蓋之介電奈米粒子核；
- (C) 覆蓋介電球體核之球形金屬奈米殼；
- (D) 覆蓋介電球體核之扁圓金屬奈米殼；
- (E) 以介電奈米殼覆蓋之金屬奈米粒子核；
- (F) 具有保護性塗層之金屬奈米殼；
- (G) 覆蓋介電球體核之多層金屬奈米殼；
- (H) 多奈米粒子結構；
- (I) 金屬奈米立方體及奈米三角/奈米稜柱；及
- (J) 金屬圓柱。

具有遠端活化藥物釋放之PEPST探針

在本發明之另一實施例中，可將PA藥物分子併入至可於金屬(金)奈米粒子上形成奈米帽之材料(例如生物相容聚合

物)中。該材料可為可具有長期連續藥物釋放特性之凝膠或生物相容聚合物。合適凝膠或生物相容聚合物包括(但不限於)基於聚丙交酯(PLA)、聚乙交酯(PGA)、聚己內酯(PCL)及其共聚物之聚(酯)類；以及PHB-PHV類聚(羥基烷酸酯)類；其他聚(酯)類；天然聚合物，尤其例如澱粉、纖維素及聚葡萄糖之經修飾多(醣)類，聚氧化乙烯類，聚(醚)(酯)嵌段共聚物及乙烯乙酸乙烯酯共聚物。該藥物釋放機構亦可由諸如RF、MW、超音、光子之非侵襲性技術觸發(圖10)。

圖11顯示PA藥物分子經由可由光子輻射切斷之連接子與金屬奈米粒子結合之其他可能實施例。該連接子包括(但不限於)生物化學鍵(圖11A)、DNA鍵(圖11B)或抗體-抗原鍵(圖11C)。在另一實施例中，連接子為化學上不穩定之鍵，其將因細胞內之化學環境而斷裂。此等類型之探針適用於PA分子必需進入核(例如，補骨脂素分子必需進入細胞核且插入至DNA上)之治療模態。因為金屬奈米粒子比較小分子更難進入細胞核，所以需要具有可釋放PA分子之PEPST探針。

靶向疾病之PEPST探針

金屬(諸如銀或金)奈米粒子(奈米球、奈米棒等)之聚集通常是個問題，尤其以檸檬酸鹽封端之金奈米球、溴化十六烷基三甲基銨(CTAB)封端之金奈米球及奈米棒及奈米殼，因為當其分散於緩衝溶液中時，由於鹽離子之聚集效應而具有不良穩定性。藉由用聚乙二醇(PEG)對奈米粒子

封端(藉由硫醇官能化之PEG與金屬奈米粒子結合)可改良生物相容性且防止奈米粒子聚集。此外，聚乙二醇化奈米粒子由於增強之滲透性及滯留作用(稱為「EPR」作用)而優先積聚於腫瘤組織中[Maedaa H, Fanga J, Inutsukaa T, Kitamoto Y (2003) *Vascular permeability enhancement in solid tumor: various factors, mechanisms involved and its implications. Int Immunopharmacol* 3:319-328 ; Paciotti GF, Myer L, Weinreich D, Goia D, Pavel N, McLaughlin RE, Tamarkin L (2004) *Colloidal gold: a novel nanoparticles vector for tumor directed drug delivery. Drug Deliv* 11:169-183]。腫瘤組織中之血管比正常組織中之血管易「漏」，且因此粒子或大高分子物質或聚合物質優先外滲至腫瘤組織中。由於淋巴系統減少，所以粒子及大分子傾向於腫瘤中停留較長時間，而其在正常組織中迅速清除。此腫瘤靶向策略通常稱為被動靶向，而抗體靶向策略稱為主動靶向。

為了特異性靶向患病細胞、特異基因或蛋白標記物，可使本發明之藥物系統與生物受體(例如抗體、合成分子印痕系統、DNA、蛋白質、脂質、細胞表面受體、適體(aptamers)等)結合。將PA劑選擇性傳遞至患病細胞及組織之免疫靶向模態提供有效策略以實現特異性，對健康細胞之非特異性損傷最小化，及降低所用輻射強度。可使用通常研發且廣泛使用之程序進行金屬奈米粒子(例如金、銀)之生物功能化。有幾種可用於本發明之靶向策略：(a)奈米

粒子與識別患病細胞特異之生物標記的抗體結合；(b)奈米粒子由聚(乙二醇)(PEG)鈍化，其用於增加奈米粒子的生物相容性及生物穩定性且使其血液滯留時間增加。

具有生物受體之PEPST探針

生物受體為靶向疾病細胞、突變基因或特異性生物標記之特異性的關鍵。其負責使所關注之生物靶與治療藥物系統結合。此等生物受體可採用許多形式且所用之不同生物受體與使用生物感測器進行監測之不同分析物一樣多。然而，生物受體一般可分為5種不同主要類別。此等類別包括：1)抗體/抗原，2)酶，3)核酸/DNA，4)細胞結構/細胞及5)仿生物。圖12說明可經設計之具有生物受體之各種PEPST探針的許多實施例。探針類似於圖2中之彼等探針但亦具有腫瘤靶向之生物受體。

抗體探針。基於抗體之靶向具有高度活性，特異性及有效性。選擇抗體以靶向特異性腫瘤標記(例如，靶向口腔及子宮頸癌細胞上過表現EGFR之抗表皮生長因子受體(EGFR)抗體；靶向乳癌細胞上過表現Her2的抗-Her2抗體)。抗體為對特異性結構顯示極其特異性結合能力之生物分子。此由於多數生物系統的複雜特性而非常重要。抗體為由數百個以高度有序順序排列之個別胺基酸構成之複雜生物分子。對於針對特定分子產生免疫反應而言，一定分子尺寸及複雜性為必要的：分子量大於5000 Da之蛋白質一般具有免疫原性。抗原與其抗原特異性抗體相互作用方式可理解為類似於獨特鑰匙之特異性幾何組態使其只能

打開一把鎖之鎖與鑰匙配合。抗原特異性抗體以相同方式與其獨特抗原以高度特異性方式「配合」。抗體之此獨特特性為其在免疫感測器中有效的關鍵，其中僅所關注之特異性分析物即抗原與抗體結合部位配合。

DNA探針。基因探針之操作係基於雜交過程。雜交涉及使單鏈核酸與互補探針序列接合。核酸探針與DNA生物靶(例如，突變之基因序列等)之雜交提供鑑別與探針序列互補之DNA序列的極高準確度。核酸鏈傾向於與其互補鏈以相應雙鏈結構配對。因此，單鏈DNA分子將在含有大量其他核酸分子之DNA的複雜混合物中找出其互補鏈。因此，核酸探針(亦即，基因探針)偵測法對DNA序列極具特異性。影響兩條互補DNA鏈之雜交或重新組合的因素包括溫度、接觸時間、鹽濃度及鹼基對之間的錯配程度，及靶與探針序列之長度及濃度。

生物學活性DNA探針可直接或間接固定於諸如能量調節劑系統(例如，金奈米粒子、半導體、量子點、玻璃/石英奈米粒子等)之藥物系統表面上以確保最佳接觸及最大結合。當固定於金奈米粒子上時，基因探針經穩定化且因此可重複再使用。可使用若干方法使DNA與不同支撐物結合。通常用於使DNA與玻璃結合之方法涉及使玻璃表面矽烷化，隨後以碳化二亞胺或戊二醛活化。矽烷化方法已用於使用3縮水甘油氧基丙基三甲氧基矽烷(GOP)或胺基丙基三甲氧基矽烷(APTS)與玻璃表面結合，隨後在DNA合成期間經併入分子3'或5'末端之胺基連接子共價連接DNA。

酶探針。通常基於酶之特異結合能力以及催化活性而選擇其作為生物受體。在生物催化識別機制中，由稱為生物催化劑之高分子所催化之反應來放大偵測。除了一小群催化核糖核酸分子之外，所有酶均為蛋白質。一些酶的活性除了其胺基酸殘基之外不需要化學基團。其他需要稱為輔因子之另一化學組份，該組份可為一或多種無機離子(諸如， Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 或 Zn^{2+})或稱為輔酶之更複雜之有機或金屬有機分子。酶所提供之催化活性提供比常見結合技術將獲得之偵測限度更低的偵測限度。酶的催化活性視其天然蛋白構形之完整性而定。若酶變性、解離為其子單元，或分解為其組分胺基酸，則其催化活性受到破壞。亦可使用酶偶合之受體來改善識別機制。

用於PEPST探針之聚乙二醇化載體

此等粒子之合成由Michael Faraday首次報導，其在1857年描述自氯化金及檸檬酸鈉製造奈米尺寸化Au0粒子之化學方法(Faraday 1857)。藉由僅使TNF與粒子結合製造之載體的初始調配物的毒性比天然TNF低且有效降低鼠科動物模型中之腫瘤負荷。後續研究揭示此載體之安全性主要由於其在RES中的迅速攝取及清除。重新調配此載體以納入硫醇衍生之聚乙二醇(PEG-THIOL)分子，該等分子與金奈米粒子表面上之TNF分子結合。新穎載體PT-cAu-TNF避免由RES偵測及清除，且主動且特異地隔絕實體腫瘤內之TNF。改變之生物分布與改良有關。在本發明中，較佳實施例包括使用聚乙二醇化Au奈米粒子-PA藥物系統來避免

被RES偵測及清除。

生物分子與金屬奈米粒子之固定

可使用文獻中公開之多種方法進行生物分子(PA分子、藥物、蛋白質、酶、抗體、DNA等)與固體支撐物之固定。可利用反應性基團(諸如，天然存在或併入生物分子結構中之胺基(-NH₂)或巰基(-SH))經共價鍵進行結合。使胺與羧酸或酯部分反應，以高產量形成穩定醯胺鍵。硫醇可參與馬來醯亞胺偶合，產生穩定二烷基硫化物。

本發明所關注之固體支撐物為金屬(較佳金或銀)奈米粒子。大部分涉及金屬表面(諸如金或銀)之固定流程利用烷基硫醇使表面事先衍生化，形成穩定鍵聯。烷基硫醇以微莫耳濃度在銀表面上容易地形成自組裝型單層(SAM)。烷基硫醇鏈之末端可用於結合生物分子，或可容易地經修飾以結合生物分子。已發現烷基硫醇鏈之長度為保持生物分子遠離表面之重要參數，其中4至20個碳之烷基長度較佳。舉例而言，在DNA雜交狀況下，已顯示此以使大部分表面結合探針可用於雜交之方式置換非特異性吸附之HS-(CH₂)₆-ss-DNA及再定向化學附接之HS-(CH₂)₆-ss-DNA(M. Culha, D. L. Stokes, and T. Vo-Dinh, 「Surface-Enhanced Raman Scattering for Cancer Diagnostics: Detection of the BLC2 Gene,」 Expert Rev. Mol. Diagnostics, 3, 669-675 (2003))。此外，為了避免直接非特異性DNA吸附於表面，已使用烷基硫醇來阻斷對表面之進一步接取，使得僅經連接子共價固定[Steel, A. B.; Herne, T. M.;

Tarlov, M. J. *Anal. Chem.* 1998, 70, 4670-7; Herne, T. M.; Tarlov, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 8916-20]。

存在許多與藉由使用硫醇官能化生物分子製備寡核苷酸與金粒子之穩定結合物有關之方法，先前已顯示該等硫醇官能化生物分子可形成強金-硫醇鍵。具有5'-末端烷硫醇官能基作為錨之寡核苷酸可與金奈米粒子表面結合，且所得標籤對於高溫及低溫條件均堅固且穩定[R. Elghanian, J.J. Storhoff, R.C. Mucic, R.L. Letsinger and C.A. Mirkin, *Selective colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles. Science* 277 (1997), 第1078-1081頁]。已研發出用於使寡核苷酸與金表面結合之環狀二噻烷-表雄固酮二硫化物連接子[R. Elghanian, J.J. Storhoff, R.C. Mucic, R.L. Letsinger and C.A. Mirkin, *Selective colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles. Science* 277 (1997), 第1078-1081頁]。Li等人已報導三硫醇封端之寡核苷酸，其可使直徑 ≥ 100 nm之金金屬奈米粒子穩定，同時保持與非環狀或二硫醇-寡核苷酸修飾之粒子相當的雜交特性[Z. Li, R.C. Jin, C.A. Mirkin及R.L. Letsinger, *Multiple thiol-anchor capped DNA-gold nanoparticle conjugates. Nucleic Acids Res.* 30 (2002), 第1558-1562頁]。

一般而言，藉由烷基硫醇修飾之寡核苷酸使用針對金粒

子研發之已確立實驗方案不能有效鈍化銀奈米粒子。一種產生包含銀核及金薄殼之核-殼粒子的方法已使銀奈米粒子可易於使用用以製備純金粒子-寡核苷酸結合物之已證實方法以烷基硫醇-寡核苷酸官能化。[Y.W. Cao, R. Jin及 C.A. Mirkin, *DNA-modified core-shell Ag/Au nanoparticles. J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001), 第7961-7962頁]。

為了促進生物分子結合之電漿子活性奈米探針(PAN)的使用，重要的是生物分子識別區域可完全接取生物靶。通常，併入聚核苷酸延伸序列充當PAN與寡核苷酸識別區域之間の間隔劑。為了實現基於DNA雜交之檢定的高靈敏性及選擇性，重要的是使PAN標記膠體溶液穩定。最近，Storhoff等人[J.J. Storhoff, R. Elghanian, C.A. Mirkin and R.L. Letsinger, *Sequence-dependent stability of DNA-modified gold nanoparticles. Langmuir* 18 (2002), 第6666-6670頁]已顯示寡核苷酸之鹼基組成對膠體穩定性及寡核苷酸表面覆蓋具有顯著作用。Otsuka等人已使用雜雙官能基硫醇-PEG(聚乙二醇)衍生物作為使金PRP穩定之連接子[H. Otsuka, Y. Akiyama, Y. Nagasaki 及 K. Kataoka, *Quantitative and reversible lectin-induced association of gold nanoparticles modified with α -lactosyl- ω -mercapto-poly(ethylene glycol). J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001), 第8226-8230頁]。

蛋白質一般利用非共價被動吸收與PAN結合。或者，可使用巰基-十一烷酸連接子/間隔劑分子使NeutrAvidin與金

及銀嵌段奈米棒共價附接 [I.D. Walton, S.M. Norton, A. Balasingham, L. He, D.F. Oviso, D. Gupta, P.A. Raju, M.J. Natan and R.G. Freeman, *Particles for multiplexed analysis in solution: detection and identification of striped metallic particles using optical microscopy. Anal. Chem.* 74 (2002), 第2240-2247頁]。硫醇基團與金屬表面結合，且使用EDC及s-NHS試劑活化粒子表面上之羧基官能基，且其接著與NeutrAvidin中之胺基交聯。製造核-殼粒子之能力(其中核為金屬且殼由乳膠、二氧化矽、聚苯乙烯或其他非金屬材料構成)提供固定生物分子及基因工程設計粒子表面的有前景替代方法 [T.K. Mandal, M.S. Fleming及D.R. Walt, *Preparation of polymer coated gold nanoparticles by surface-confined living radical polymerization at ambient temperature. Nano Letters* 2 (2002), 第3-7頁；S.O. Obare, N.R. Jana及C.J. Murphy, *Preparation of polystyrene- and silica-coated gold nanorods and their use as templates for the synthesis of hollow nanotubes. Nano Letters* 1 (2001), 第601-603頁；C. Radloff及N.J. Halas, *Enhanced thermal stability of silica-encapsulated metal nanoshells. Appl. Phys. Lett.* 79 (2001), 第674-676頁；L. Quaroni及G. Chumanov, *Preparation of polymer-coated functionalized silver nanoparticles. J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999), 第10642-10643p頁；F. Caruso, *Nanoengineering of particle surfaces. Adv. Mater.* 13 (2001), 第11-22頁]。

已發現銀表面在暴露於烷基硫醇之稀乙醇溶液時顯示受控自組裝動力學。在表面與煙尾之間形成的傾斜角在0至15°範圍內。與金比較時，銀上亦存在較大硫醇堆積密度 [Burges, J. D.; Hawkrige, F. M. Langmuir 1997, 13, 3781-6]。在金/銀奈米粒子上形成自組裝之單層 (SAM) 之後，烷基硫醇可與生物分子共價偶合。使生物分子共價固定之多數合成技術利用多肽 (酶、抗體、抗原等) 或胺基標記之 DNA 鏈的游離胺基，使其與羧酸部分反應形成醯胺鍵。通常，首先與羧酸部分形成更具活性之中間物 (不穩定酯) 且隨後階段與游離胺反應，增加偶合產量。成功偶合程序包括 (但不限於)：

使用 N-羥基琥珀醯亞胺 (NHS) 及其衍生物之結合程序

偶合法涉及在溫和條件下使羧酸與不穩定基團 (N-羥基琥珀醯亞胺 (NHS) 衍生物) 酯化，且進一步與多肽 (酶、抗體、抗原等) 或胺-標記之 DNA 中之游離胺基反應，產生穩定醯胺 [Boncheva, M.; Scheibler, L.; Lincoln, P.; Vogel, H.; Akerman, B. Langmuir 1999, 15, 4317-20]。NHS 幾乎獨佔地與第一胺基反應。可在僅 30 分鐘內實現共價固定。因為 H₂O 與 -NH₂ 在涉及此等極不穩定酯的反應中競爭，所以重要的是考慮此類型之偶合中所用之可利用酯的水解動力學。NHS 之衍生物 (四氟硼酸 O-(N-琥珀醯亞胺基)-N,N,N',N'-四甲基鎂) 藉由利用在羧酸活化期間轉化為尿素之離去基增加偶合產量，因此有利增加反應之負焓。

使用馬來醯亞胺之結合程序

可使用馬來醯亞胺經可利用-SH部分固定生物分子。已證實使用馬來醯亞胺之偶合流程適用於抗體、Fab片段、肽及SH修飾之DNA鏈的部位-特異性固定。用於蛋白質的馬來醯亞胺偶合之樣本製備涉及使用溫和還原劑(諸如二硫蘇糖醇、2-巰基乙醇或參(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽)使兩個半胱氨酸殘基之間的二硫鍵簡單還原。然而，二硫化物還原一般將導致蛋白質喪失其天然構型，且可削弱酶活性或抗體識別。以2-亞胺硫堿鹽酸鹽(Traut試劑)改質第一胺基從而引入巰基為缺乏其之生物分子的替代。藉由與不飽和碳-碳鍵的加成反應將游離巰基固定於馬來醯亞胺表面 [Jordan, C.E., 等人, 1997]。

使用碳化二亞胺之結合程序。

以巰基烷基二醇改質之表面可以1,1'-羧基二咪唑(CDI)活化形成羧基咪唑中間物。具有可利用胺基之生物分子置換咪唑與繫栓至表面之烷基硫醇形成胺基甲酸酯鍵聯 [Potyrailo, R.A., 等人, 1998]。

使生物分子與金屬(例如，銀、金)奈米粒子結合之其他實驗程序。

在一較佳實施例中，藉由使AgNO₃溶液與冰冷之NaBH₄迅速混合製備金屬膠體水溶膠之奈米粒子。為了研發SMP探針，使DNA區段與銀或金之奈米粒子結合。生物分子(例如，DNA、抗體、酶等)經共價鍵固定於固體支撐物一般利用天然存在或可併入至生物分子結構中之反應性基團(諸如，胺基(-NH₂)或巰基(-SH))。使胺與羧酸或酯部分反

應，以高產量形成穩定醯胺鍵。硫醇可參與馬來醯亞胺偶合，產生穩定二烷基硫化合物。

在一較佳實施例中，使用銀奈米粒子。在一較佳實施例中，使用涉及利用烷基硫醇使Ag表面事先衍生化形成穩定鍵聯的Ag表面之固定流程。烷基硫醇以微莫耳濃度在銀表面上容易地形成自組裝型單層(SAM)。烷基硫醇鏈之末端可直接用於結合生物分子，或可容易地經修飾以結合生物分子。發現烷基硫醇鏈之長度為保持生物分子遠離表面的重要參數。此外，為了避免直接非特異性DNA吸附於表面，使用烷基硫醇阻斷對表面之進一步接取，使得僅經連接子共價固定。

已發現銀/金表面在暴露於烷基硫醇之稀乙醇溶液時顯示受控自組裝動力學。在表面與煙尾之間形成的傾斜角在0至15°範圍內。當與金比較時，銀上亦存在較大硫醇堆積密度。

在銀奈米粒子上形成SAM之後，烷基硫醇可與生物分子共價偶合。使生物分子共價固定之多數合成技術利用多肽(酶、抗體、抗原等)或胺基標記之DNA鏈的游離胺基，使其與羧酸部分反應形成醯胺鍵。在一實施例中，首先與羧酸部分形成更具活性之中間物(不穩定酯)且隨後階段與游離胺反應，增加偶合產量。成功偶合程序包括：

用於使DNA與銀奈米粒子結合之偶合法涉及在溫和條件下使羧酸與不穩定基團(N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)衍生物)酯化，且與多肽(酶、抗體、抗原等)或胺標記之DNA中的

游離胺基進一步反應，產生穩定醯胺[4]。NHS幾乎獨佔地與第一胺基反應。可在僅30分鐘內實現共價固定。因為H₂O與-NH₂在涉及此等極不穩定酯的反應中競爭，所以重要的是考慮此類型之偶合中所用之可利用酯的水解動力學。圖101中所用之NHS衍生物(四氟硼酸O-(N-琥珀醯亞胺基)-N,N,N',N'-四甲基鎳)藉由利用在羧酸活化期間轉化為尿素之離去基增加偶合產量，因此有利增加反應之負焓。

用於PEPST之光的光譜範圍

若使用合適奈米結構、奈米級尺寸、金屬類型，則整個電磁區可發生電漿子增強效應。因此，PEPST概念適用於整個電磁波譜，亦即自 γ 射線及X射線至紫外光、可見光、紅外光、微波及射頻能量之能量。然而，出於實踐原因，對於銀及金奈米粒子使用可見光及NIR光，因為銀及金之電漿子共振分別發生在可見光及NIR區。尤其對於金奈米粒子而言，NIR區極適於非侵入性療法。

組織治療窗中之光子激發

存在若干使用光非侵入性激發光活化化合物之方法。吾人可使用波長在所謂「治療窗」(700-1300 nm)內的光。光穿透組織之能力視吸收而定。在稱為治療窗(或診斷窗)之光譜範圍內，多數組織為使光顯著穿透之足夠弱吸收劑。此窗自600至1300 nm延伸，自可見光譜的橙色/紅色區域延伸至NIR區。在短波長端，窗口受氧化及脫氧形式之血色素的吸收之約束。在約600 nm之區域中，氧化血色素之吸收因波長縮短而增加約兩個數量級。在較短波長下，更

多吸收生物分子變得重要，該等生物分子包括DNA及胺基酸(色胺酸及酪胺酸)。在窗口之紅外(IR)端，穿透受水之吸收特性限制。在治療窗內，散射比吸收佔優勢，且因此傳播光變得擴散，但未必進入擴散極限。圖13顯示組織之治療窗的曲線圖。以下章節論述單一光子及多光子技術用於治療之用途。

光激發方法：單光子及多光子激發

可使用兩種方法，單一光子或多光子激發。若使用雙光子技術，則可用可穿透組織內部深處之700-1000 nm之光激發PA分子以激發在350-500 nm光譜區內吸收之分子。該方法可激發在290-350 nm光譜區內吸收且在可見光內發射之補骨脂素化合物。對於單一光子法而言，光活化劑(PA)藥物分子可直接吸收在600-1300 nm下之激發光。在此狀況下，吾人可設計補骨脂素有關係統(例如，具有額外芳族環或其他結合之補骨脂素以改變在不同波長下吸收之能力)或使用其他PA系統：光動力學治療藥物、ALA等。

使用X射線激發之光除去法的PEPST模態

需要X射線激發

已證明光除去法為多種疾病的有效治療法。然而，強烈需要研發非侵入性模態，其中激發光可直接照射光活性化合物而無需自患者移除及再輸注血液。一種該療法之改良且實用模態之方法描述於2007年11月6日申請之美國專利第11/935,655號中，其全部內容以引用的方式併入本文中。

儘管X射線可以非侵入性方式激發深組織中之化合物，但有機藥物化合物不易吸收X射線。本發明藉由提供可吸收X射線能量且將該能量變為可用於使藥物分子活化之其他能量的分子系統而解決彼問題。更特定言之，本發明中可吸收且改變X射線能量之分子系統為包含奈米粒子之PEPST探針。

在此實施例中，本發明使用X射線進行激發。優點在於以非侵襲性方式激發分子之能力，因為X射線可穿透組織深處。然而，限制為X射線不與多數分子相互作用。在本發明之一實施例中，使藥物分子(或PA)與稱為「能量調節劑」之分子實體結合，該分子實體可與X射線相互作用且隨後發射可為PA藥物分子吸附之光。(圖14)

X射線激發之PEPST探針

在先前章節中，已論述金奈米粒子作為電漿子活性系統之優點。此外，金奈米粒子亦為良好能量調節劑系統，因為其具有生物相容性且已展示其為X射線造影劑之可能候選者[Hainfeld等人，*The British Journal of radiology*, 79, 248, 2006]。20多年前就已提出利用高Z材料達成癌症放射療法中劑量增強之概念。出於兩個主要原因，使用金奈米粒子作為劑量增強劑似乎比使用微球體及其他材料之早期嘗試有前景。首先，金具有比碘(I, Z=53)或釷(Gd, Z=64)高之Z數，同時在高達至少3重量%時，顯示對齧齒動物或人類腫瘤細胞具有極小毒性。金奈米粒子對小鼠無毒且大部分經腎清除出體外。金奈米小粒子之此新穎用途

允許在腫瘤中實現顯著高-Z輻射增強所必需之高金屬含量 [James F Hainfeld, Daniel N Slatkin及Henry M Smilowitz, *The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice, Phys. Med. Biol.* 49 (2004)]。

向腫瘤傳遞致死劑量之輻射同時使附近正常組織的輻射暴露最小化仍為放射療法中之最大挑戰。可藉由向腫瘤中載入高原子序數(Z)諸如金(Au, Z=79)之材料增加基於光子之放射療法期間傳遞至腫瘤之劑量，在腫瘤內產生大於周圍組織之光電吸收。因此，金明顯產生高於碘或釷之腫瘤劑量。其次，就向腫瘤傳遞高Z材料、克服使用金微球體之早期嘗試期間發現的一些困難而言，奈米粒子提供優於微球體之機制 [Sang Hyun Cho, *Estimation of tumor dose enhancement due to gold nanoparticles during typical radiation treatments: a preliminary Monte Carlo study, Phys. Med. Biol.* 50 (2005)]。

與PA配位體錯合之金(或金屬)：本發明較佳可使用與PA錯合之金(或金屬)。該金屬可用作能量調節劑系統。舉例而言，金與補骨脂素有關之配位體形成之錯合物可用作雜合能量調節劑-PA系統。金分子用作能量調節劑系統且配位體分子用作PA藥物系統。先前研究表明金(I)與二膦及聯吡啶配位體形成之錯合物展示X射線激發之發光 [參考 3: Kim 等人, *Inorg. Chem.*, 46, 949, 2007]。

圖15顯示可較佳用於能量調節劑-PA系統之X射線激發的PEPST探針的許多各種實施例。此等探針包含：

- (A) 與能量調節劑結合且與電漿子金屬奈米粒子結合之PA分子；
- (B) 具有以PA分子覆蓋之能量調節劑奈米帽的電漿子金屬奈米粒子；
- (C) 具有電漿子金屬奈米粒子之PA覆蓋的奈米粒子；
- (D) 以PA分子及電漿子金屬奈米帽覆蓋之含能量調節劑奈米粒子；
- (E) 具有以PA分子覆蓋之能量調節劑奈米殼的電漿子金屬奈米粒子核；及
- (F) 與能量調節劑(與電漿子金屬奈米粒子附接)奈米粒子藉由可分離生物化學鍵結合之PA分子。

基於能量調節劑-PA之PEPST系統的實例

出於簡化之目的，以下論述集中於以金作為金屬材料且以CdS作為能量調節劑材料(其亦可用作DNA穩定之CdS，參見Ma等人，*Langmuir*, 23(26), 12783-12787 (2007))且以補骨脂素作為PA分子。然而，應瞭解，金屬材料、能量調節劑及PA分子之許多其他實施例亦可能在本發明之範圍內，且以下論述僅出於例示性目的。可用於電漿子共振殼或其他電漿子共振結構之合適金屬可包括(但不限於)金、銀、鉑、鈮、鎳、鈦、銻、銅及鈷。

在圖15A之實施例中，PEPST系統包含金奈米粒子、與PA藥物分子(例如，補骨脂素)連接之能量調節劑奈米粒子(例如，CdS)。X射線照射至CdS，CdS吸收X射線[Hua等人，*Rev. Sci. Instrum.*, 73, 1379, 2002]且發射CdS XEOL光

(350-400 nm)，該光係經金奈米粒子電漿子增強。此增強之 XEOL 光用於光活化補骨脂素 (PA 分子)。在此狀況下，金奈米粒子之奈米結構經設計以增強 350-400 nm 之 XEOL 光。

在圖 15B 之實施例中，PEPST 系統包含具有以 PA 分子 (例如，補骨脂素) 覆蓋之能量調節劑奈米帽 (CdS) 的電漿子活性金屬 (金) 奈米粒子。X 射線照射至 CdS，CdS 吸收 X 射線且發射 XEOL 光，該光係經金奈米粒子電漿子增強。此增強之 XEOL 光用於光活化補骨脂素 (PA 分子)。

在圖 15C 之實施例中，PEPST 系統包含具有較小電漿子金屬 (金) 奈米粒子之覆蓋有 PA (例如補骨脂素) 之 CdS 奈米粒子。X 射線照射至 CdS，CdS 吸收 X 射線且發射 XEOL 光，該光係經金奈米粒子電漿子增強。此增強之 XEOL 光用於光活化補骨脂素 (PA 分子)。

在圖 15D 之實施例中，能量調節劑核包含以金奈米帽覆蓋之 CdS 或 CsCl 奈米粒子。X 射線照射至 CdS 或 CsCl，CdS 或 CsCl 吸收 X 射線 [Jaegle 等人，*J. Appl. Phys.*, 81, 2406, 1997] 且發射 XEOL 光，該光係經金奈米帽結構電漿子增強。此增強之 XEOL 光用於光活化補骨脂素 (PA 分子)。

類似地，圖 15E 中之實施例包含以 CdS 或 CsCl 殼覆蓋之球形金核。X 射線照射至 CdS 或 CsCl 材料，CdS 或 CsCl 材料吸收 X 射線 [Jaegle 等人，*J. Appl. Phys.*, 81, 2406, 1997] 且發射 XEOL 光，該光係經金奈米球電漿子增強。此增強之 XEOL 光用於光活化補骨脂素 (PA 分子)。

在圖 15F 之實施例中，PEPST 系統包含金奈米粒子及藉由可由輻射分離之鍵連接至 PA 藥物分子(例如，補骨脂素)的能量調節劑奈米粒子(例如，CdS)。X 射線照射至 CdS，CdS 吸收 X 射線且發射 CdS XEOL 光(350-400 nm)，該光係經金奈米粒子電漿子增強。此增強之 XEOL 光用於光活化補骨脂素(PA 分子)。在此狀況下，金奈米粒子之奈米結構經設計以增強 350-400 nm 之 XEOL 光。

在替代實施例中，金屬奈米粒子或單奈米殼替換為多層奈米殼 [*Kun Chen, Yang Liu, Guillermo Ameer, Vadim Backman, Optimal design of structured nanospheres for ultrasharp light-scattering resonances as molecular imaging multilabels, Journal of Biomedical Optics, 10(2), 024005 (2005 年 3 月/4 月)*]。

在其他替代實施例中，金屬奈米粒子以介電材料(例如二氧化矽)層(1-30 nm)覆蓋。該介電層(或奈米殼)經設計以防止因金屬與能量調節劑(亦稱為 EEC)分子直接接觸所致的能量調節劑分子所發射之發光之猝滅。在其他替代實施例中，能量調節劑分子或材料經由間隔劑(連接子)與金屬奈米粒子結合(或接近於金屬奈米粒子)。該間隔劑經設計以防止能量調節劑分子或材料所發射之發光之猝滅。

其他可用材料

能量調節劑材料可包括可吸收 X 射線且發射光以激發 PA 分子的任何材料。能量調節劑材料包括(但不限於)：

金屬(金、銀等)；

量子點；

半導體材料；

閃爍及磷光體材料；

展示X射線激發發光(XEOL)之材料；

有機固體、金屬錯合物、無機固體、晶體、稀土材料(鐳系元素)、聚合物、閃爍體、磷光體材料等；及

展示激子特性之材料。

量子點，半導體奈米結構。與量子點、半導體材料等相關之各種材料可用作能量調節劑系統。舉例而言，已顯示CdS相關奈米結構展示UV-可見光區內之X射線激發發光 [Hua 等人，*Rev. Sci. Instrum.*, 73, 1379, 2002]。

閃爍體材料作為能量調節劑系統。各種閃爍體材料可用作能量調節劑，由於其吸收X射線且發射可用於激發PA系統之發光發射。舉例而言，鉬酸鹽之單晶可由X射線激發且發射約400 nm之發光 [Mirkhin 等人，*Nuclear Instrum. Meth. In Physics Res. A*, 486, 295 (2002)]。

固體材料作為能量調節劑系統：各種固體材料因其X射線激發發光特性而可用作能量調節劑。舉例而言，CdS(或CsCl)當由軟X射線激發時展示發光性 [Jaegle 等人，*J. Appl. Phys.*, 81, 2406, 1997]。

XEOL材料：鐳系元素或稀土材料 [L. Soderholm, G. K. Liu, Mark R. Antonioc, F. W. Lytle, *X-ray excited optical luminescence .XEOL. detection of x-ray absorption fine structure .XAFZ*, *J. Chem. Phys*, 109, 6745, 1998]，

Masashi Ishiia, Yoshihito Tanaka 及 Tetsuya Ishikawa, Shuji Komuro 及 Takitaro Morikawa, Yoshinobu Aoyagi, Site-selective x-ray absorption fine structure analysis of an optically active center in Er-doped semiconductor thin film using x-ray-excited optical luminescence, Appl. Phys. Lett, 78, 183, 2001]。

圖 16 及 17 顯示可用作能量調節劑系統、展示 XEOL 之金屬錯合物之一些實例。該等結構可藉由用金屬奈米粒子替換金屬原子來加以修飾以製造電漿子增強 PEPST 探針。在本發明中，可基於激發輻射 (NIR 或 X 射線激發)、光活化輻射 (UVB) 及 / 或能量調節劑系統之發射過程 (可見 NIR) 來選擇包括奈米結構之尺寸、形狀及金屬類型之實驗參數。

美國專利第 7,008,559 號 (其全部內容以引用的方式併入本文中) 描述 ZnS 之向上轉換效能，其中在 767 nm 下激發產生可見光範圍中之發射。美國專利第 7,008,559 號中所述之材料 (包括 ZnS 以及摻 Er^{3+} 之 BaTiO_3 奈米粒子及摻 Yb^{3+} 之 CsMnCl_3) 適於本發明之各種實施例中。

適用作能量調節劑之其他材料包括 (但不限於) CdTe、CdSe、ZnO、CdS、 Y_2O_3 、MgS、CaS、SrS 及 BaS。該等材料可為任何半導體且更特定言之 (但非限制性) 硫化物、碲化物、硒化物及氧化物半導體及其奈米粒子，諸如 $\text{Zn}_{1-x}\text{Mn}_x\text{S}_y$ 、 $\text{Zn}_{1-x}\text{Mn}_x\text{Se}_y$ 、 $\text{Zn}_{1-x}\text{Mn}_x\text{Te}_y$ 、 $\text{Cd}_{1-x}\text{Mn}_x\text{S}_y$ 、 $\text{Cd}_{1-x}\text{Mn}_x\text{Se}_y$ 、 $\text{Cd}_{1-x}\text{Mn}_x\text{Te}_y$ 、 $\text{Pb}_{1-x}\text{Mn}_x\text{S}_y$ 、 $\text{Pb}_{1-x}\text{Mn}_x\text{Se}_y$ 、 $\text{Pb}_{1-x}\text{Mn}_x\text{Te}_y$ 、 $\text{Mg}_{1-x}\text{Mn}_x\text{S}_y$ 、 $\text{Ca}_{1-x}\text{Mn}_x\text{S}_y$ 、 $\text{Ba}_{1-x}\text{Mn}_x\text{S}_y$ 及 Sr_{1-x}

等。(其中， $0 < x \leq 1$ ，及 $0 < y \leq 1$)。亦預期上文所述半導體之錯合化合物適用於本發明--例如 $(M_{1-z}N_z)_{1-x}Mn_xA_{1-y}B_y$ ($M=Zn、Cd、Pb、Ca、Ba、Sr、Mg$ ； $N=Zn、Cd、Pb、Ca、Ba、Sr、Mg$ ； $A=S、Se、Te、O$ ； $B=S、Se、Te、O$ ； $0 < x \leq 1、0 < y \leq 1、0 < z \leq 1$)。該等錯合化合物之兩個實例為 $Zn_{0.4}Cd_{0.4}Mn_{0.2}S$ 及 $Zn_{0.9}Mn_{0.1}S_{0.8}Se_{0.2}$ 。其他能量調節材料包括絕緣及不導電材料，諸如 BaF_2 、 $BaFBr$ 及 $BaTiO_3$ 等例示性化合物。適於本發明之過渡及稀土離子共摻雜半導體包括硫化物、碲化物、硒化物及氧化物半導體及其奈米粒子，諸如 ZnS ； Mn ； Er ； $ZnSe$ ； Mn, Er ； MgS ； Mn, Er ； CaS ； Mn, Er ； ZnS ； Mn, Yb ； $ZnSe$ ； Mn, Yb ； MgS ； Mn, Yb ； CaS ； Mn, Yb 等及其錯合化合物： $(M_{1-z}N_z)_{1-x}(Mn_qR_{1-q})_xA_{1-y}B_y$ ($M=Zn、Cd、Pb、Ca、Ba、Sr、Mg$ ； $N=Zn、Cd、Pb、Ca、Ba、Sr、Mg$ ； $A=S、Se、Te、O$ ； $B=S、...0 < z < 1、0 < q < 1$)。

此項技術中已知一些奈米粒子(諸如， $ZnS:Tb^{3+}$ 、 Er^{3+} ； $ZnS:Tb^{3+}$ ； $Y_2O_3:Tb^{3+}$ ； $Y_2O_3:Tb^{3+}$ 、 Er^{3+} ； $ZnS:Mn^{2+}$ ； $ZnS:Mn、Er^{3+}$)用於向下轉換發光及向上轉換發光兩者，且因此可用於本發明之各種實施例中。

使用X射線激發之PEPST探針的電漿子增強效應的原理

基本PEPST探針實施例之一實施例包含與能量調節劑結合且與電漿子金屬(金)奈米粒子結合之PA分子。首先，金屬奈米粒子可用作藥物傳遞平台(參見先前所述)。其次，金屬奈米粒子可起2個作用：

(1) 增強X射線電磁場

(2) 增強能量調節劑系統之發射信號。

用於激發能量調節劑系統之X射線輻射因電漿子共振由金屬奈米粒子放大。因此，能量調節劑系統展現用於光活化PA藥物分子(例如，補骨脂素)且使其具有光活性之更多發射光。在此狀況下，金屬奈米粒子經設計以展現X射線波長下或X射線波長附近之強電漿子共振。表面電漿共振效應使激發光在奈米粒子處放大，導致增強之PA藥物分子光活化及改良之治療效率。電漿子增強機制亦可用於上述其他PEPST探針。

圖18說明PEPST探針之電漿子增強效應。用於醫學診斷造影之X射線具有約10 keV至150 keV之光子能，該光子能等效於1.2埃至0.0083埃之波長範圍。 $[\lambda(\text{埃})=12.4/E(\text{keV})]$ 。軟X射線可達到10 nm。電漿子活性奈米粒子之尺寸通常具有約為所用輻射之波長或小於所用輻射之波長的尺寸。請注意，金之近似原子半徑為約0.15奈米。在此限制下，金之最小「奈米粒子」尺寸為0.14 nm(僅1個金原子)。尺寸為數百奈米之奈米粒子將具有約 10^6 - 10^7 個金原子。因此，本發明中所論述之金奈米粒子之範圍可介於 1 - 10^7 個金原子。

金奈米粒子亦可增強用於激發PA分子之能量調節劑發射信號。對於補骨脂素而言，光譜範圍為UVB區內(320-400 nm)。已製造出銀或金奈米粒子、奈米殼及奈米帽以在該區域內展現強電漿子共振。圖19顯示補骨脂素化合物(8-甲

氧基補骨脂素)之激發及發射螢光光譜。

PEPST能量調節劑-具有可分離PA之PA探針。

一些光活性藥物需要PA分子進入核中。圖20顯示PA藥物分子經由可由光子輻射切斷(圖20B)之連接子(圖20A)與金屬奈米粒子結合之PEPST探針的實施例。該探針適用於PA分子必需進入核(例如，補骨脂素分子必需進入細胞核且插入至DNA上)之治療模態(圖20C)。因為金屬奈米粒子比較小分子更難進入細胞核，所以較佳使用具有可釋放PA分子之PEPST探針。

使PA藥物分子與金屬奈米粒子連接之合適連接子包括(但不限於)可藉由遠端能量激發(來自身體外部，例如MW、IR、光音能量、超音能量等)打斷之不穩定化學鍵、可藉由細胞內之化學環境打斷之不穩定化學鍵、抗體-抗原、核酸連接子、生物素-抗生蛋白鏈菌素等。

雙電漿子效應之奈米粒子鏈

如先前所論述，需要開發可具有雙(或多)電漿子共振模式之奈米粒子系統。圖21說明具有不同尺寸且彼此偶合之金屬粒子之鏈的本發明PEPST探針之一實施例，該探針可展現基於雙電漿子之增強。舉例而言，可將較大奈米粒子(圖21，左圖)之參數(尺寸、金屬類型、結構等)調整為NIR、VIS或UV光，而可將較小粒子(圖21，右圖)調整為X射線。此等粒子之間亦存在耦合效應。

此等奈米粒子鏈適用於提供所用入射輻射(例如，CdS之x射線活化)之電漿子增強以及隨後將活化PA之發射輻射之

電漿子增強。已將類似奈米粒子系統用作奈米透鏡 [*Self-Similar Chain of Metal Nanospheres as an Efficient Nanolens*, Kuiru Li, Mark I. Stockman, 及 David J. Bergman, *Physical Review Letter*, 第91卷, 第22期, 227402-1, 2003]。

藥物傳遞平台

能量調節劑-PA系統之脂質體傳遞

基於粒子之藥物傳遞領域目前關注兩種化學性質不同之膠體粒子、脂質體及生物可降解聚合物。兩傳遞系統皆囊封活性藥物。在微脂囊狀況下，藥物在粒子溶解時自其釋放；或在針對生物可降解聚合物所述之狀況下，崩解。本發明之一實施例脂質傳遞能量調節劑-PA系統(例如，金奈米殼)用於治療。下文描述例示性實施例，但不欲限於特定脂質、奈米粒子或所引用之其他組份，而僅為例示之目的：

脂質體製備。脂質體製備法由Hölig等人Hölig, P., Bach, M., Völkel, T., Nahde, T., Hoffmann, S., Müller, R., 及 Kontermann 之 R.E., *Novel RGD lipopeptides for the targeting of liposomes to integrin-expressing endothelial and melanoma cells*. *Protein Engineering Design and Selection*, 2004. 17(5): 第433-441頁]改編而來。簡言之，將脂質 PEG-DPPE、PC及 Rh-DPPE混合於圓底燒瓶中之氯仿中且蒸發(Hieroglyph Rotary Evaporator, Rose Scientific Ltd., Edmonton, Alberta, Canada)除去氯仿。使用PBS溶液將乾膜脫水為水相。藉由旋轉蒸發自PC、膽固醇及PEG-

DPPE之混合物製備乾脂質膜且接著使用PBS水化成水相。藉由Overtaxing and Bath Solicited(Instrument, Company)將混合物劇烈混合且使用Liposofast設備將懸浮液經聚碳酸酯過濾膜(Avestin Inc., Ottawa, ON, Canada)(孔徑0.8 μm)擠出。如下進行脂質體之製備：將0.1 mmol PC分散於8 ml 氯仿中且補充存於20 ml氯仿中之0.5 mol PEG-DPPE。接著將0.3 mmol若丹明標記之磷脂醯乙醇胺(Rh-DPPE)併入脂質體中。接著藉由在35°C下旋轉蒸發2小時移除有機溶劑，留下乾脂質膜。藉由將金奈米殼添加至PBS水合作用緩衝液中且隨後添加至乾脂質膜中從而將其囊封於脂質體中。將此混合物在溫控超音波儀中在35°C下乳化30分鐘，隨後渦旋5分鐘。在2400 r.p.m(1200 g)下溫和離心分離5分鐘使囊封之金奈米殼與未囊封之金奈米殼分離。使用Liposofast設備將所得多層微脂粒懸浮液經聚碳酸酯過濾膜(Avestin Inc., Ottawa, ON, Canada)(孔徑0.8 μm)擠出。獲得水性混合物且將其儲存於4°C下。

金奈米粒子之製造：可在本發明中使用弗蘭斯法(Frens method)[Frens, G., *Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold solutions*. Nature (London) Phys Sci., 1973. 241: 第20-22頁]來合成直徑在8-10 nm範圍內之金奈米粒子的溶液。簡言之，將 5.0×10^{-6} mol HAuCl_4 溶解於19 ml去離子水中，產生淺黃色溶液。將此溶液在劇烈攪拌下於旋轉蒸發器中加熱45分鐘。添加1 ml 0.5%檸檬酸鈉溶液，且將溶液再攪拌30分鐘。溶液顏

色自初始淺黃色逐漸變至透明、灰色、紫色且最終為類似於美樂紅葡萄酒(merlot)之誘人的酒紅色。所用檸檬酸鈉發揮兩個作用，第一個作用作為還原劑，且第二個作用產生吸附於金奈米粒子上之檸檬酸根陰離子，從而引入排斥該等粒子之表面電荷且防止奈米團簇形成。

脂質體囊封之金奈米殼的製備及內在化：將脂質體-囊封之金奈米殼與生長於分割蓋玻片上之MCF-7細胞一起培養用於胞內傳遞。此係藉由每1 ml細胞培養基添加10 μ l脂質體囊封之金奈米殼進行。將此在潮濕培養器(86% RH)中在37°C及5% CO₂下培養30分鐘。此細胞係用於定位研究；將若丹明-DPPE標記之脂質體追蹤至MCF-7細胞的細胞質中。培養後，將生長於蓋玻片上之細胞在冷PBS中洗滌3次且使用PBS中之3.7%甲醛固定。使用Nikon Diaphot 300倒立顯微鏡(Nikon, Inc., Melville, NY)分析由若丹明-DPPE標記之脂質體進行的若丹明染色。

藥物系統之活體內非侵入性裂解

在藥物系統傳遞至細胞中之後，有時需要在核中具有PA系統(例如，補骨脂素)以與DNA相互作用。若PA仍與能量調節劑連接，則其兩者皆必需轉運至核中。在金奈米粒子作為能量調節劑系統之狀況下，存在若干活體外培養細胞之方法。對於活體內應用而言，可使用化學鍵聯使PA與金奈米粒子連接，該化學鍵聯可使用諸如紅外、微波或超音波之非侵入性方法釋放(或切除)。鍵聯之實例係經由化學鍵或經由諸如抗體之生物受體。在此狀況下，PA為與能量

調節劑系統結合之抗原分子，該能量調節劑系統具有靶向PA之抗體。

當能量調節劑-Ab-PA進入細胞時，PA分子可自能量調節劑Ab系統釋放。為了自抗體釋放PA分子，可使用化學試劑使抗體與抗原之間的結合裂解，因此使生物感測器再生[Vo-Dinh等人，1988]。此化學程序簡單但由於化學品可能使細胞變性而在細胞中不實用。在先前研究中，已證明溫和但有效之MHz範圍之超音波具有自抗體-能量調節劑系統釋放抗原分子的能力[Moreno-Bondi, M., Mobley, J., 及 Vo-Dinh, T., 「Regenerable Antibody-based Biosensor for Breast Cancer,」 *J. Biomedical Optics*, 5, 350-354 (2000)]。因此，替代實施例使用溫和超音輻射(非侵入性)自能量調節劑系統之抗體移除PA(抗原)。

在較佳實施例中，藉由化學不穩定鍵使PA分子與能量調節劑結合[Jon A. Wolff及David B. Rozema, *Breaking the Bonds: Non-viral Vectors Become Chemically Dynamic, Molecular Therapy* (2007) 16(1), 8-15]。改良此方法之功效的有前景方法為形成具有化學動力之合成媒劑(SV)，從而使傳遞能夠藉由在化學鍵暴露於各種生理學環境或外部刺激之後的裂解進行。此方法之實例為使用改良核酸自核內體之釋放(轉運期間的關鍵步驟)的遮罩核內體劑(masked endosomolytic agent, MEA)。當MEA進入核內體之酸性環境時，pH值不穩定鍵會斷裂，釋放藥劑之核內體分解能力。

鐵蛋白及缺鐵鐵蛋白作為靶向藥物傳遞之用途

傳遞能量調節劑-PA藥物之另一實施例涉及使用鐵蛋白及缺鐵鐵蛋白化合物。由於配位體-受體-介導之傳遞系統的非免疫原性及對配位體-特異性生物部位之部位特異性靶向潛力，因此對配位體-受體-介導之傳遞系統關注增加。鉑抗癌藥物已囊封於缺鐵鐵蛋白中 [Zhen Yang, Xiaoyong Wang, Huajia Diao, Junfeng Zhang, Hongyan Li, Hongzhe Sun 及 Zijian Guo, Encapsulation of platinum anticancer drugs by apoferritin, *Chem. Commun.* 33, 2007, 3453-3455]。鐵蛋白(多種生物體中之主要鐵儲存分子)亦可用作靶向藥物傳遞之媒劑。其含有空心蛋白質外殼-缺鐵鐵蛋白，該外殼可含有高達其自身重量之含水氧化磷酸鐵(ferric oxide-phosphate)作為微晶膠束。鐵蛋白之24個子單元自動組裝形成內徑及外徑分別為8及12 nm之空心蛋白質籠。子單元交會處形成之8個約0.4 nm之親水通道穿透蛋白質殼且產生蛋白質空腔。缺鐵鐵蛋白籠中可容納諸如釷(Gd^{3+})造影劑、去鐵胺B、金屬離子及鐵鹽之奈米粒子的多種物質。已向缺鐵鐵蛋白中併入諸如鐵、鎳、鉻及其他材料之各種金屬 [Iron incorporation into apoferritin. The role of apoferritin as a ferroxidase, *The Journal of Biological Chemistry* [0021-9258] Bakker 1986年第261卷第28期第13182-5頁; Mitsuhiro Okuda¹, Kenji Iwahori², Ichiro Yamashita², Hideyuki Yoshimura^{1*}, Fabrication of nickel and chromium nanoparticles using the protein cage of

apoferritin, *Biotechnology Bioengineering*, 第 84 卷, 第 2 期, 第 187-194 頁]。藉由設計採用四胺鋅離子及硒脲之緩慢化學反應系統在籠形蛋白質缺鐵鐵蛋白之空腔中合成硒化鋅奈米粒子(ZnSe NP)。以空間選擇性方式自水溶液化學合成 ZnSe NP, 且在幾乎所有缺鐵鐵蛋白空腔中以小塊沈澱形成 ZnSe 核 [Kenji Iwahori, Keiko Yoshizawa, Masahiro Muraoka 及 Ichiro Yamashita, *Fabrication of ZnSe Nanoparticles in the Apoferritin Cavity by Designing a Slow Chemical Reaction System*, *Inorg. Chem.*, 44 (18), 6393-6400, 2005]。

報導使用 NaBH_4 或 3-(N-嗎啉基)丙烷磺酸(MOPS)作為還原劑合成由馬脾臟缺鐵鐵蛋白(HSAF)穩定之金奈米粒子的簡單方法 [Lei Zhang, Joe Swift, Christopher A. Butts, Vijay Yerubandi 及 Ivan J. Dmochowski, *Structure and activity of apoferritin-stabilized gold nanoparticles*, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 第 101 卷, 1719-1729, 2007]。在籠形蛋白質(缺鐵鐵蛋白)之空腔中製備亞硫酸金(Au_2S)奈米粒子。缺鐵鐵蛋白具有直徑 7 nm 之空腔且所製造之 Au_2S 奈米粒子的直徑與空腔具有大致相同尺寸且尺寸分布較小。 [Keiko Yoshizawa, Kenji Iwahori, Kenji Sugimoto 及 Ichiro Yamashita, *Fabrication of Gold Sulfide Nanoparticles Using the Protein Cage of Apoferritin*, *Chemistry Letters*, 第 35 卷(2006), 第 10 期第 1192 頁]。因此, 在較佳實施例中, 將 PA 或能量調節劑-PA 化合物囊封於缺鐵鐵蛋白殼內

部。

鐵蛋白及缺鐵鐵蛋白作為增強之靶向劑之用途

據報導鐵蛋白可由一些腫瘤組織內在化，且該內在化與膜特異性受體有關[S. Fargion, P. Arosio, A. L. Fracanzoni, V. Cislighi, S. Levi, A. Cozzi, A Piperno及A. G. Firelli, *Blood*, 1988, 71, 753-757; P. C. Adams, L. W. Powell及J. W. Halliday, *Hepatology*, 1988, 8, 719-721]。先前研究顯示已識別出贅生性細胞中的鐵蛋白結合部位及鐵蛋白內飲作用[M. S. Bretscher及J. N. Thomson, *EMBO J.*, 1983, 2, 599-603]。鐵蛋白受體具有用於將抗癌藥物傳遞至大腦中之潛力[S. W. Hulet, S. Powers及J. R. Connor, *J. Neurol. Sci.*, 1999, 165, 48-55]。在一實施例中，本發明使用鐵蛋白或缺鐵鐵蛋白來囊封PA及能量調節劑-PA系統且亦選擇性靶向腫瘤細胞用於增強之藥物傳遞及隨後的光照治療術。在此狀況下，無需其他生物反應器。

圖22圖示說明囊封之光活性劑(圖22A)用於傳遞至組織中且隨後在囊封系統進入細胞之後釋放光活性藥物的用途。應注意，囊封之系統可具有用於選擇性腫瘤靶向之生物受體(圖22B)。一旦在細胞內部，可使用非侵入性激發(例如，超音、RF、微波、IR等)打破膠囊外殼(例如，脂質體、缺鐵鐵蛋白等)(圖22C)以釋放可進入核且與DNA結合之光活性分子(圖22D)。

使用PEPST模態之非侵入性光照治療術

圖23說明PEPST模態之基本操作原理。藉由經口攝取、

皮膚敷用或藉由靜脈內注射向患者給予PEPST光活性藥物分子。PEPST藥物經體內之血流向靶向之腫瘤傳送(經被動或主動靶向策略)。若疾病實質上為全身性疾病，則使用合適波長之光子輻射照射患者皮膚，對光進行選擇以穿透組織內部深處(例如，NIR或X射線)。對於實體腫瘤而言，使輻射光源對準腫瘤。隨後，可將能量傳遞至腫瘤部位中來起始治療程序。可如先前章節所述使用一或多種光源。一個治療實施例包含使用NIR雷射經聚焦光學器件發送NIR輻射。亦可使用其他輻射類型(包括(但不限於)X射線、微波、無線電波等)之聚焦束且將視所用治療模態而定。

激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)

激子誘導之光照治療術的基本原理

固體材料中之激子

激子通常定義為固體材料內之「準粒子(quasiparticle)」。在諸如半導體、分子晶體及結合有機材料之固體材料中，合適波長下之光激發(諸如X射線、UV及可見光輻射等)可將電子自價帶激發至導帶。此新形成之傳導電子經由庫倫相互作用(Coulomb interaction)吸引至其留在價帶中之帶正電電洞。因此，電子與電洞一起形成稱為激子之結合態(bound state)。應注意，此中性結合複合物為可發揮玻色子(一種具有遵循玻色-愛因斯坦(Bose-Einstein)統計之整數自旋(integer spin)之粒子)作用之「準粒子」；當玻色子氣體之溫度降至特定值以下時，大量玻色子‘凝聚’成單一量

子態，該單一量子態為玻色-愛因斯坦凝聚物 (Bose-Einstein condensate, BEC)。固體材料之X射線激發涉及激子產生。在製造閃爍體及磷光體時，通常採用寬頻帶隙材料將x射線轉化為紫外/可見光光子 [Martin Nikl, *Scintillation detectors for x-rays, Meas. Sci. Technol.* 17 (2006)R37-R54]。激子理論在材料研究及半導體及其他材料之製造及應用中為熟知的。然而，據本發明者所知，未報導基於光照治療術的激子可調整性之激子用途及能量調劑材料之設計。

初始轉化期間，高能X射線光子與閃爍器材料之晶格之多步相互作用係經由光電效應及康普頓散射 (Compton scattering) 效應發生；對於100 keV光子能以下之X射線激發，光電效應為主要過程。許多激子(亦即，電子-電洞對)產生且熱分布於導帶(電子)及價帶(電洞)中。此第一過程在小於1 ps內發生。在後續轉運過程中，激子遷移穿過可發生重複缺陷處捕獲之材料，從而導致因非輻射性重組所致之能量損失等。最後階段，即發光，在於在發光中心處連續捕獲電子-電洞對及其輻射性重組。電子-電洞對可捕獲於缺陷處且重組，從而產生發光。發光摻雜劑亦可用作激子陷阱。

激子陷阱

激子陷阱可利用晶體主體基質中之雜質產生。在具有偶極客體分子之不純晶體中，當電子位於雜質分子附近時可出現電子陷阱態。在摻雜有吡啶之蔥中已觀察到該等陷阱

[Kadshchuk, A. K., Ostapenko, N. I., Skryshevskii, Yu. A., Sugakov, V. I. 及 Susokolova, T. O., *Mol. Cryst. and Liq. Cryst.*, 201, 167 (1991)]。此等陷阱之形成係歸因於雜質之偶極矩與電荷載流子之相互作用。當摻雜劑(或雜質)之濃度增加時，光譜展示因載流子捕獲於雜質分子之團簇上所致之其他光譜結構。有時不需要雜質及摻雜劑：電子或激子亦因與受擾晶體分子之重新定向之偶極矩的靜電相互作用而捕獲於該等晶體中之結構缺陷上[S. V. Izvekov, V. I. Sugakov, *Exciton and Electron Traps on Structural Defects in Molecular Crystals with Dipolar Molecules*, *Physica Scripta*. 第T66卷，255-257, 1996]。可在分子晶體中設計充當激子陷阱之結構缺陷。GaAs/AlGaAs奈米結構之開發及奈米製造技術之使用可設計出材料中具有新穎量子力學特性之設計激子陷阱。

EIP探針之設計、製造及操作

圖25顯示可設計之EIP探針之各種實施例：

- (A) 包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離之連接劑)之PA分子的探針。在此較佳實施例中，能量調節劑材料具有充當激子陷阱之結構缺陷。
- (B) 包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離之連接劑)之PA分子的探針。在此較佳實施例中，能量調節劑材料具有充當激子陷阱之雜質或摻雜劑分

子。

具有可調發射之EIP探針：

探針B中之實施例提供調整自X射線激發源至激發PA分子之所關注波長之能量轉化的能力。在1976年，D'Silva等人證明摻雜於冷凍正烷烴固體中之多核芳族烴(PAH)分子可由X射線激發且產生其發光譜之可見光波長特徵下之發光。[A. P. D'Silva, G. J. Oestreich, 及 V. A. Fassel, *X-ray excited optical luminescence of polynuclear aromatic hydrocarbons, Anal. Chem.*; 1976; 48(6)第915-917頁]。可調EIP探針可經設計以含有諸如展現適合於活化補骨脂素之300-400 nm範圍內之發光發射的高發光性PAH的該等發光摻雜劑。具有可調發射之EIP之較佳實施例包含摻雜有展現300-400 nm範圍內之發光(螢光)之萘、菲、芘或其他化合物的固體基質(半導體、玻璃、石英、共軛聚合物等)[T. Vo-Dinh, *Multicomponent analysis by synchronous luminescence spectrometry, Anal. Chem.*; 1978; 50(3)第396-401頁]。參見圖26。EEC基質可為半導體材料，較佳在所關注光波長(激發及發射)下透明。

諸如稀土材料之其他摻雜劑物質亦可用作摻雜劑。圖27顯示摻雜於BaFBr基質中之鎔在370-420 nm下發射之X射線激發光學發光(XEOL)。美國專利申請公開案第2007/0063154號(以引用的方式併入本文中)描述此等及其他適於XEOL之奈米複合材料(及其製備方法)。

圖28顯示可設計之EIP探針之各種實施例：

(A)包含結合於在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子周圍或包埋於包圍該能量調節劑粒子之殼中的PA分子的探針。在此較佳實施例中，能量調節劑材料具有充當激子陷阱之結構缺陷。

(B)包含結合於在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子周圍或包埋於包圍該能量調節劑粒子之殼中的PA分子的探針。在此較佳實施例中，能量調節劑材料具有充當激子陷阱之雜質或摻雜劑分子。

激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)的原理

最近關注涉及電子態(激子)、光子與增強之電磁場(電漿)之間的量子光學耦合的先進光物理學概念。該涉及激子與電漿之間之耦合的概念可用於增強稱為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)的光照治療術模態。

光物理學中之基本核心概念在於自強耦合態之混合物形成新穎準粒子。該等混合態可具有初始粒子不具有之異常特性。激子與電漿子之間的耦合可微弱或強烈。當光-物質相互作用無法視為擾動(perturbation)時，系統屬於強耦合方案。Bellessa等人顯示表面電漿(SP)模式與有機激子之間的強耦合；所用有機半導體為沈積於銀膜上之聚合物基質中的濃花青染料[參看：J. Bellessa, * C. Bonnand及J. C. Plenet, J. Mugnier, *Strong Coupling between Surface Plasmons and Excitons in an Organic Semiconductor*, *Phys. Rev. Lett.*, 93(3), 036404-1, 2004]。Govorov等人描述由半導體及金屬奈米粒子組成之雜合複合物中之激子的光物理

特性。個別奈米粒子之間的相互作用可產生發射增強或發射抑制。增強之發射源自經電漿子共振放大之電場，而發射抑制為能量自半導體至金屬奈米粒子傳遞之結果。

[Alexander O. Govorov,^{*},[†]Garnett W. Bryant,[‡]Wei Zhang,[†]Timur Skeini,[†]Jaebom Lee,[§] Nicholas A. Kotov,[§] Joseph M. Slocik, |及Rajesh R. Naik|, *Exciton-Plasmon Interaction and Hybrid Excitons in Semiconductor-Metal Nanoparticle Assemblies*, *Nano Lett.*, 第6卷, 第5期, 984, 2006]。

Bondarev等人亦描述小直徑(<1 nm)半導電單壁碳奈米管(CN)中激子態與表面電磁模式之間的相互作用理論。[I.V. Bondarev, K. Tatur及L.M. Woods, *Strong exciton-plasmon coupling in semiconducting carbon nanotubes*]。

Fedutik等人關於一種複合金屬-絕緣體-半導體奈米線系統之合成及光學特性進行報導，該系統係由為控制厚度之SiO₂殼包圍，繼而高度發光性CdSe奈米晶體之殼包圍之濕式化學生長銀線核組成[Yuri Fedutik,[†] Vasily Temnov,[†] Ulrike Woggon,[†]Elena Ustinovich,[‡]及Mikhail Artemyev^{*†}, *Exciton-Plasmon Interaction in a Composite Metal-Insulator-Semiconductor Nanowire System*, *J. Am. Chem. Soc.*, 129 (48), 14939-14945, 2007]。對於約15 nm之SiO₂間隔劑厚度，觀察到由CdSe奈米晶體之激子發射高效激發表面電漿。對於小 d (遠小於10 nm)而言，與阻尼鏡像偶極之偶極-偶極相互作用之預期優勢一致，發射受到強烈抑制(PL猝滅)[G.W. Ford及W. H. Weber, *Electromagnetic*

interactions of molecules with metal surfaces, Phys. Rep. 113, 195-287 (1984)]。對於高達約10 μm 之奈米線長度而言，複合金屬-絕緣體-半導體奈米線((Ag)SiO₂)CdSe)充當奈米線尖頭處具有高效光子輸出耦合之光頻下1D表面電漿的波導，其有希望用於高效激子-電漿-光子轉化及可見光譜範圍內亞微米級之表面電漿引導。

以J-聚集體覆蓋之Ag奈米粒子之膠體溶液的實驗證明使用強散射橫截面及與表面電漿相關之增強場自J-聚集體激子產生具有極低激發功率之激發發射的可能性。[Gregory A. Wurtz,* Paul R. Evans, William Hendren, Ronald Atkinson, Wayne Dickson, Robert J. Pollard, 及 Anatoly V. Zayats, *Molecular Plasmonics with Tunable Exciton-Plasmon Coupling Strength in J-Aggregate Hybridized Au Nanorod Assemblies, Nano Lett.*, 第7卷, 第5期, 1297, 2007]。因此，其與表面電漿激發之耦合提供產生低功率光學裝置之尤其有吸引力之方法。此方法可產生用於光照治療術之有效X射線耦合。此外，J-聚集體與電漿子結構之耦合在產生混合電漿子-激子態中提供真正的根本益處。

EPEP探針之設計、製造及操作

圖29顯示展示激子-電漿耦合的本發明EPEP探針之各種實施例：

(A) 包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離

之連接劑)之PA分子或PA分子組的探針。該能量調節劑粒子與以二氧化矽(或其他介電材料)奈米殼覆蓋之金屬奈米粒子結合(或接近於金屬奈米粒子)。二氧化矽層(或奈米殼)(參見圖24A及圖24B; 能量調節材料與金屬奈米結構之間的白色奈米殼層)經設計以防止由X射線激發之能量調節劑粒子所發射之發光之猝滅。金屬奈米粒子(Au、Ag等)經設計以誘導增強X射線激發之電漿子，該X射線激發隨後使得能量調節劑光發射增加，最終增強光活化(亦即，光照治療術)之效率。奈米粒子之結構亦可經設計以使電漿子效應亦增強能量調節劑發射光。此等過程係歸因於能量調節劑材料中之激子與金屬奈米粒子中之電漿子之間的強耦合；及

(B) 包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離之連接劑)之PA分子或PA分子組的探針。能量調節劑粒子經由間隔劑(連接子)與金屬奈米粒子結合(或接近於金屬奈米粒子)。該間隔劑經設計以防止由X射線激發之能量調節劑粒子所發射之發光之猝滅。

圖30顯示本發明之EPEP探針的其他實施例：

(A) 包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離之連接劑)之PA分子或PA分子組的探針。該能量調節劑粒子經二氧化矽(或其他介電材料)奈米殼覆蓋，該奈米殼由金屬

(Au、Ag)之獨立奈米結構(奈米島、奈米棒、奈米立方體等)層覆蓋。二氧化矽層(或其他介電材料)經設計以防止由X射線激發之EEC(亦稱為能量調節劑)粒子所發射之發光之猝滅。金屬奈米結構(Au、Ag等)經設計以誘導增強X射線激發之電漿子，該X射線激發隨後使得EEC光發射增加，最終增強光活化(亦即，光照治療術)之效率。奈米粒子之結構亦可經設計以使電漿子效應亦增強能量調節劑發射光。此等過程係歸因於(能量調節劑材料中之激子與金屬奈米結構中之電漿子之間的)強耦合。

(B)包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離之連接劑)之粒子中之PA分子組的探針。該含PA粒子經金屬奈米結構(Au、Ag)層覆蓋。金屬奈米結構(Au、Ag等)經設計以誘導增強能量調節劑光發射之電漿子，最終增強光活化(亦即，光照治療術)之效率。

(C)包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離之連接劑)之PA分子或PA分子組的探針。該能量調節劑粒子經二氧化矽(或其他介電材料)奈米殼覆蓋，該奈米殼由金屬奈米結構(Au、Ag)層覆蓋。二氧化矽層(或其他介電材料)經設計以防止由X射線激發之能量調節劑粒子所發射之發光之猝滅。金屬奈米結構(Au、Ag等)經設計以誘導增強X射線激發之電漿子，該X射線激發隨後使得能量調節劑光發射增加，最終增強光活化(亦即，光照治療術)之效率。

此外，該含PA粒子經金屬奈米結構(Au、Ag)層覆蓋。金屬奈米結構(Au、Ag等)經設計以誘導增強EEC光發射之電漿子，最終增強光活化(亦即，光照治療術)之效率。

雜合EPEP奈米超結構

EPEP探針亦可包含由生物及非生物奈米級組份製成之雜合自組裝型超結構，該等超結構可提供具有適用於光療中之獨特電子光譜、表面特性及光譜特性之通用分子構築體。

可將生物聚合物及奈米粒子整合於超結構中，因為可利用無機奈米材料之物理特性及聚合物之化學可撓性/特異性，所以其提供獨特的功能。值得注意的是組合奈米材料中常見之兩種類型之激發(諸如激子及電漿子產生耦合激發)之複雜系統。包含包括金屬、半導體奈米粒子(NP)、奈米棒(NR)或奈米線(NW)之構建塊之分子構築體可產生對光療領域具有根本重要性之各種各樣光特性與增強相互作用的EPEP探針。生物感測中已報導一些NW奈米結構及NP之組件的一些實例。經由生物結合反應製備由CdTe奈米線(NW)及金屬奈米粒子(NP)製成之奈米級超結構。利用諸如D-生物素及抗生蛋白鏈菌素對之原型生物分子在溶液中連接NP與NW。已發現Au NP形成包圍CdTe NW之緻密殼。該超結構證明與半導體與貴金屬奈米膠體之長距離相互作用相關的不尋常之光學效應。NW-NP複合物顯示與未結合之NW相比，發光強度增強5倍且發射峰藍移。

[Jaebeom Lee,† Alexander O. Govorov,‡ John Dulka,‡ 及

Nicholas A. Kotov,†, Bioconjugates of CdTe Nanowires and Au Nanoparticles: Plasmon-Exciton Interactions, Luminescence Enhancement, and Collective Effects, Nano Lett.*, 第4卷, 第12期, 2323, 2004]。

據本發明者已知，此等先進概念未應用於光照治療術且包含來自NP、NR及NW之超結構的EPEP探針仍為光照治療術的新穎未開發領域。

圖31顯示包含NP、NW及NR之超結構的本發明之EPEP探針的各種實施例：

(A)包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離之連接劑)之PA分子或PA分子組的探針。該能量調節劑粒子與經二氧化矽(或其他介電材料)奈米殼圓柱之金屬奈米線(或奈米棒)結合(或接近於金屬奈米線(或奈米棒))。該二氧化矽奈米殼圓柱經設計以防止由X射線激發之能量調節劑粒子所發射之發光之猝滅。金屬奈米粒子(Au、Ag等)經設計以誘導增強X射線激發之電漿子，該X射線激發隨後使得能量調節劑光發射增加，最終增強光活化(亦即，光照治療術)之效率。奈米粒子之結構亦可經設計以使電漿子效應及/或激子-電漿耦合(EPC)效應亦增強能量調節劑發射光。此等過程係歸因於能量調節劑材料中之激子與金屬奈米粒子中之電漿子之間的強耦合；及

(B)包含與在合適波長之輻射激發(例如，X射線)下可產生激子之能量調節劑粒子結合(經由可固定或可分離之連

接劑)之PA分子或PA分子組的探針。能量調節劑粒子經由間隔劑(連接子)與金屬奈米粒子結合(或接近於金屬奈米粒子)。該間隔劑經設計以防止由X射線激發之能量調節劑粒子所發射之發光之猝滅。與上述(A)中之作用相同。

圖32顯示包含NP、NW及NR之超結構及生物受體(抗體、DNA、表面細胞受體等)的本發明EPEP探針之另一組實施例。上文先前已關於PEPST探針論述使用生物受體靶向腫瘤細胞。應注意，在該實施例中，PA分子係沿NW軸附著以由來自NW之發射光激發。

圖33展示包含與多個NW連接之NP之超結構的本發明EPEP探針之另一實施例。

對於一些實施例而言，藉由添加經設計以與能量調節劑系統中之激子特異性相互作用之金屬奈米結構，存在顯著改良：

(1)引入自激子轉化為光子之另一輻射路徑；

(2)金屬奈米結構可經設計以放大(由於電漿子效應)激發輻射(例如，X射線)及/或發射輻射(例如，UV或可見光)以激發光活性(PA)分子，從而增強PA效力。

可用於本發明之EPEP探針實施例之各種金屬奈米結構與圖9中關於PEPST探針所說明之金屬奈米結構相同。

具有微共振器之EPEP探針

在一較佳實施例中，能量調節劑系統可經設計從而亦用作具有微米或亞微米尺寸之微共振器。Lipson等人描述共振微腔，且更詳言之，描述產生強光-物質相互作用之共

振微腔 [M. Lipson; L.C. Kimerling; Lionel C, *Resonant microcavities, US PATENT 6627923, 2000*]。共振微腔通常形成於諸如矽之基材中且具有大約為幾微米或零點幾微米的尺寸。共振微腔含有光學活性物質(亦即, 發光材料)及將光限制在光學活性物質中之反射器。限制之光與光學活性物質相互作用以產生光-物質相互作用。微腔中之光-物質相互作用可以強或弱來表徵。弱相互作用不改變物質中之能階, 而強相互作用改變物質中之能階。在強光-物質相互作用布置中, 可使限制之光與該等能階躍遷共振以改變微腔之特性。

實驗方法

奈米粒子(Ag、Au)之製備

存在許多製備用於EPEP或PEPST探針之金屬奈米粒子之方法。製備金及銀膠體之程序包括電爆法、電沈積、氣相凝結、電化學方法及溶液相化學方法。雖然製備直徑為2-40 nm之均一尺寸球形膠體金群體的方法為吾人所熟知 [N.R. Jana, L. Gearheart及C.J. Murphy, *Seeding growth for size control of 5-40 nm diameter gold nanoparticles. Langmuir 17 (2001), 第6782-6786頁*], 但該尺寸之粒子為購得。製備銀粒子(具有均一光散射特性)或金粒子(尺寸及形狀單分散性之控制得以改良)群體之有效化學還原法係基於使用小直徑均一尺寸金粒子作為進一步生長銀或金層之成核中心。

廣泛使用之方法包括檸檬酸鹽還原金鹽以產生具有相對

較窄之尺寸分布的尺寸為12-20 nm的金粒子。Brust等人研發產生較小金粒子之常用方法 [Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R. *Chem. Commun.* **1994**, 801]。此方法係基於在烷硫醇封端劑存在下硼氫化物還原金鹽以產生1-3 nm粒子。可藉由改變硫醇濃度將奈米粒子尺寸控制在2 nm與5 nm之間 [Hostetler, M.J.; Wingate, J. E.; Zhong, C. J.; Harris, J. E.; Vachet, R. W.; Clark, M. R.; Londono, J. D.; Green, S. J.; Stokes, J. J.; Wignall, G. D.; Glish, G. L.; Porter, M. D.; Evans, N. D.; Murray, R. W. *Langmuir* **1998**, *14*, 17]。亦已產生膦穩定之金團簇且隨後藉由配位體交換將其轉化為硫醇封端之團簇以改良其穩定性 [Schmid, G.; Pfeil, R.; Boese, R.; Bandrmann, F.; Meyer, S.; Calis, G. H. M.; van der Velden, J. W. A. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 3634; Warner, M. G.; Reed, S. M.; Hutchison, J. E. *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 3316]，且已使用Brust方法之類似方案製備出膦穩定之單分散金粒子 [Weare, W. W.; Reed, S. M.; Warner, M. G.; Hutchison, J. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12890]。亦參見最近評論：Ziyi Zhong, Benoit¹ Male, Keith B.¹ Luong, John H.T., *More Recent Progress in the Preparation of Au Nanostructures, Properties, and Applications, Analytical Letters*; 2003，第36卷第15期，第3097-3118頁]。

塗佈有染料奈米殼之金屬奈米粒子之製造

可使用 Masuhara 等人 [AKITO MASUHARA, SATOSHI

OHHASHI, HITOSHI KASAI; SHUJI OKADA, FABRICATION AND OPTICAL PROPERTIES OF NANOCOMPLEXES COMPOSED OF METAL NANOPARTICLES AND ORGANIC DYES, Journal of Nonlinear Optical Physics & Materials 第 13 卷, 第 3 及 4 期 (2004) 587-592] 所述之方法製造塗佈有染料分子奈米殼之金屬奈米粒子。藉由共再沈澱法製備包含 Ag 或 Au 作為核及 3-羧基甲基-5-[2-(3-十八基-2-亞苯并噻唑啉基)亞乙基]羅丹寧 (MCSe) 或酞菁銅 (II) (CuPc) 作為殼之奈米複合物。在 Ag-MCSe 奈米複合物之狀況下, 將 MCSe 之 0.5 mM 丙酮溶液注入使用 NaBH_4 還原 AgNO_3 製備之 10 ml Ag 奈米粒子水分散液中; 亦以類似方式製造 Au-MCSe 奈米複合物。藉由使用檸檬酸鈉還原 HAuCl_4 製備 Au 奈米粒子之水分散液。隨後, 添加 2 M NH_4OH (50 μl) 且在 50°C 下熱處理混合物。此胺處理通常刺激 MCSe 之 J-聚集體形成。亦以相同方式製造 Ag-CuPc 及 Au-CuPc 奈米複合物: 將 CuPc 之 1 mM 1-甲基-2-吡咯啉酮 (NMP) 溶液 (200 μl) 注入 Ag 或 Au 奈米粒子之水分散液 (10 ml) 中。

本發明之處理亦可用於針對惡性細胞 (包括彼等實體腫瘤中之惡性細胞) 誘導自體疫苗作用。就全身治療可破壞任何迅速分化之細胞或幹細胞而言, 則較佳使激發能量直接定向於腫瘤, 藉由避免光可活化劑之光活化或共振能量轉移來防止對多數正常、健康細胞或幹細胞之破壞。

或者, 可施加使有絲分裂減緩或暫停的治療。該治療能夠減緩迅速分化之健康細胞或幹細胞在治療期間的分化而

不使癌細胞之有絲分裂暫停。或者，優先向惡性細胞投與阻斷劑，隨後投與減緩有絲分裂之治療。

在一實施例中，侵襲性細胞增殖病症具有較高有絲分裂速率，此導致甚至在全身投與治療期間亦選擇性破壞不成比例份額之惡性細胞。幹細胞及健康細胞即使暴露於光活化劑亦可免於大規模程式化細胞死亡，其限制條件為該等光活化劑在對健康幹細胞之細胞實質部分形成破壞的結合、有絲分裂或其他機制之前自激發態退化至較低能態。因此，可誘導自體免疫反應。

或者，可使用選擇性防止或降低對幹細胞或健康細胞之破壞的阻斷劑，否則該等細胞將受損。選擇或投與阻斷劑使得阻斷劑不對(例如)惡性細胞產生類似益處。

在一實施例中，特異性靶向幹細胞進行破壞，意圖是以供體細胞系或先前儲存之患者健康細胞置換該等幹細胞。在此狀況下，未使用阻斷劑。改為使用特異性靶向幹細胞之載劑或光敏劑。

光動力學療法領域中之工作已顯示引起細胞溶解(且因此細胞死亡)所需之單態氧之量為 0.32×10^{-3} mol/L或更多，或 10^9 個單態氧分子/細胞或更多。然而，在本發明之一實施例中，最佳避免產生將會引起細胞溶解之量的單態氧，由於其無區別攻擊性將使靶細胞及健康細胞皆溶解。因此，在本發明中，所用起始能量或活化後可活化之醫藥劑引起的單態氧產生量最佳低於引起細胞溶解所需之量。

在另一實施例中，本發明方法可進一步包括添加添加劑

來減輕治療副作用。例示性添加劑可包括(但不限於)抗氧化劑、佐劑或其組合。在一例示性實施例中，將補骨脂素用作可活化醫藥劑，將UV-A用作活化能量，且添加抗氧化劑來減少照射的非所要副作用。

本發明方法之優勢在於藉由特異性靶向受細胞增殖病症影響之細胞(諸如，迅速分化細胞)，且觸發細胞變化(諸如，細胞凋亡)，在此等細胞中可原位激發宿主之免疫系統以產生針對患病細胞之免疫反應。在激發宿主自身免疫系統產生該反應後，宿主自身免疫系統可識別且破壞未經可活化醫藥劑處理之其他患病細胞。可在(例如)使用補骨脂素及UV-A之治療中獲得該等自體疫苗作用。

本發明方法可單獨使用或與治療細胞增殖病症之其他療法組合使用。另外，若需要，則本發明方法可與諸如Giacchetti等人，*Journal of Clinical Oncology*，第24卷，第22期(8月1日)，2006：第3562-3569頁中所詳述之時間醫學中之新近進展結合使用。在時間醫學中，已發現罹患特定類型病症(諸如，癌症)之細胞在一天的某些時間比其他時間反應較佳。因此，時間醫學可與本發明方法結合使用從而放大本發明的治療作用。

在另一態樣中，本發明進一步提供用於實踐上文所述方法之系統及套組。

在一實施例中，本發明系統可包括：(1)起始能源；(2)一或多種能量調節劑；及(3)一或多種可活化醫藥劑。

在另一實施例中，本發明之系統可包括起始能源及一或

多種可活化醫藥劑。

在較佳實施例中，起始能源可為配備有圖像引導電腦控制能力之線性加速器以向預選擇座標傳遞精確校準之輻射束。該等線性加速器之一實例為 Varian 醫學系統 (Varian Medical Systems, Inc., Palo Alto, California) 之 SmartBeam™ IMRT (強度調節放射療法) 系統。

在其他實施例中，配備有適當起始能量發射體之內視鏡或腹腔鏡裝置可用作起始能源。在該等系統中，起始能量可導航且定位於預選擇座標處從而向該部位傳遞所要量之起始能量。

在其他實施例中，系統中亦包括劑量計算及機器人操作裝置。

適用於本發明之方法及系統的試劑及化學品可包裝於套組中以有利於應用本發明。在一例示性實施例中，涵蓋包括補骨脂素，及用於容易地分離及隔離自體疫苗之分離容器的套組。套組之另一實施例將包含至少一種能夠引起預定細胞變化之可活化醫藥劑，至少一種在供能時能夠使該至少一種可活化劑活化的能量調節劑，至少一種電漿子劑及適於以穩定形式儲存藥劑之容器，且較佳另外包含用於向個體投與該至少一種可活化醫藥劑、該至少一種電漿子劑及該至少一種能量調節劑及施加來自起始能源之起始能量以使該可活化醫藥劑活化的說明書。該等說明書可為任何所需形式，包括(但不限於)印刷於套組插頁上，印刷於一或多個容器上，以及電子儲存媒體(諸如電腦可讀儲存

媒體)上所提供之電子儲存說明書。亦視情況包括電腦可讀儲存媒體上之軟體包，其使得使用者可整合資訊且計算控制劑量，計算且控制照射源之強度。

根據本發明之一般描述，可藉由參看某些特定實例獲得進一步理解，該等實例本文僅為說明之目的提供且除非另外說明否則不欲為限制之目的。

實例

銀奈米粒子之製備

根據標準李-梅塞法(Lee-Meisel method)製備銀(或金)膠體：在劇烈攪拌下煮沸200 mL 10^{-3} M AgNO_3 水溶液，隨後添加5 mL 35 mM檸檬酸鈉溶液且使所得混合物保持沸騰1小時。據報導此程序產生每毫升約 10^{11} 個均一尺寸膠體粒子，該等粒子之直徑為約35-50 nm且最大吸收值在390 nm處。將膠體溶液儲存在4°C下且避開室內燈。使用蒸餾水對膠體溶液進行進一步稀釋。

金屬奈米帽之製造/製備

一種方法包括使用旋塗於固體支撐物上之奈米球以產生且控制所需粗糙度。隨後用提供表面電漿機制所需之傳導電子之銀層覆蓋奈米結構支撐物。在基於固體基材之技術中，使用諸如鐵氟龍(Teflon)或乳膠奈米球之簡單奈米材料之方法似乎製備起來最簡單。可購得多種尺寸之鐵氟龍及乳膠奈米球。此等材料之形狀非常規則且可選擇其尺寸以達最佳增強。此等材料包含塗佈有半奈米殼(稱為奈米帽)之銀產生系統之分離介電奈米球(直徑為30 nm)。

圖 24 顯示由 100 nm 厚之銀奈米帽(半個奈米殼)塗層覆蓋之 300 nm 直徑聚合物奈米球的掃描電子顯微照片(SEM)。奈米粒子可經超音波處理以自下層基材釋放。可容易地研究球尺寸及金屬層厚度對 SERS 效應的作用。在多數電漿子中發現銀塗覆之奈米球具有研究活性。亦可使用金代替銀來塗覆在包含 PA 藥物分子之奈米粒子上。

金奈米殼之製造

已使用 Hirsch 等人 [Hirsch LR, Stafford RJ, Bankson JA, Sershen SR, Price RE, Hazle JD, Halas NJ, West JL (2003) Nanoshell-mediated near infrared thermal therapy of tumors under MR Guidance. Proc Natl Acad Sci 100:13549-13554] 所述之方法使用涉及成核作用且隨後於二氧化矽介電核周圍連續生長金奈米粒子之機制製備金奈米殼。使用如上所述利用弗蘭斯方法製備之晶種金奈米粒子生長金殼。將用於奈米殼之核的二氧化矽奈米粒子(100 nm)單分散於 1% APTES 於 EtOH 中之溶液中。使利用弗蘭斯方法合成之金「晶種」膠體經由胺基分子鍵聯在二氧化矽奈米粒子之表面上生長。「晶種」覆蓋胺化二氧化矽奈米粒子表面，首先呈不連續金金屬層，逐漸生長形成連續金殼。使用光傳輸光譜法 (UV-Vis Spectrophotometer, Beckman Coulter, Fullerton, CA) 及原子力顯微法 (Atomic Force Microscope, Veeco Instruments, Woodbury, NY) 表徵用作「晶種」之金奈米粒子，而使用光傳輸光譜法及掃描電子顯微法 (Scanning Electron Microscope, Hitachi S-4700, Hitachi

High Technologies America, Inc. Pleasanton, NY)表徵金奈米殼。

以 PDT 藥物 ALA 量測細胞凋亡之探針

已使用可用於評估 PEPST 探針之效力的奈米感測器研發出一種方法。儘管可使用習知方法(無需奈米感測器)，但吾人亦描述先前研發之奈米感測器法 [P.M. Kasili, J. M. Song 及 T. Vo-Dinh, 「Optical Sensor for the Detection of Caspase-9 Activity in a Single Cell」, *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 2799-2806(2004)]。該方法包含量測由光活性藥物所誘導之細胞凋亡活化的卡斯蛋白酶(caspase)。在此實驗中，量測兩組細胞，即組 I 及組 II。組 I 以藥物 ALA 處理且組 II 以與先前章節所述之 PEPST 探針結合之藥物 ALA 處理。藉由比較結果(所偵測到之卡斯蛋白酶之量)，可評估 PEPST-ALA 藥物相較於僅 ALA 的效率。

在細胞凋亡之經典模型中，卡斯蛋白酶根據其功能及其活化順序分為起始卡斯蛋白酶及效應卡斯蛋白酶。起始卡斯蛋白酶包括卡斯蛋白酶-8、-9，而效應卡斯蛋白酶包括卡斯蛋白酶-3、-6及-7。卡斯蛋白酶之活化為細胞凋亡之最早生物標記之一，使得卡斯蛋白酶為量測細胞凋亡之早期且理想目標。細胞凋亡或程式化細胞死亡為特徵在於特定形態學及生物化學特徵之細胞死亡模式。此等實驗中所獲得之結果可用於評估誘導細胞凋亡之光照治療藥物(例如，PDT 藥物)的效力。因為卡斯蛋白酶在誘導細胞凋亡中起重要作用，所以使用基於四肽之光學奈米感測器來測定

其在良好表徵之人類乳癌細胞系(MCF-7)中對光動力學治療(PDT)劑(δ -胺基乙醯丙酸(ALA))起反應的作用。使MCF-7細胞暴露於光敏劑ALA以藉由監測卡斯蛋白酶-9及卡斯蛋白酶-7活性來研究ALA-PDT誘導之細胞凋亡。在單一活MCF-7細胞中，分別藉由共價固定於光學奈米感測器之奈米針尖之已知卡斯蛋白酶-9及卡斯蛋白酶-7基質，即白胺酸-天冬胺酸-組胺酸-麩胺酸 7-胺基-4-甲基香豆素(LEHD-AMC)及天冬胺酸-麩胺酸-纈胺酸-天冬胺酸 7-胺基-4-甲基香豆素(DEVD-AMC)，來評定卡斯蛋白酶-9及卡斯蛋白酶-7蛋白酶活性。在誘導細胞凋亡後，活化之目標卡斯蛋白酶識別四肽序列且使其特定裂解。藉由卡斯蛋白酶識別基質後，緊接著進行裂解反應，產生螢光AMC，該螢光AMC可經氦-鎘(HeCd)雷射激發產生可量測之螢光信號。藉由比較自具有經活化卡斯蛋白酶之細胞內的AMC產生之螢光信號及自彼等具有失活卡斯蛋白酶之細胞內的AMC產生之螢光信號，吾人能夠成功偵測單一活MCF-7細胞內的卡斯蛋白酶活性。

化學品及試劑

δ -胺基乙醯丙酸(ALA)、磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)、鹽酸(HCl)、硝酸(HNO₃)、縮水甘油氧基丙基三甲氧基矽烷(GOPS)、1,1'-羰基二咪唑(CDI)及無水乙腈係購自Sigma-Aldrich, St. Louis, MO。卡斯蛋白酶-9基質(即LEHD-7-胺基-4-甲基香豆素(AMC))、卡斯蛋白酶-7基質(即DEVD-7-胺基-4-甲基香豆素(AMC))、2x反應緩衝液、

二硫蘇糖醇 (DTT) 及二甲亞砜 (DMSO) 係購自 BD Biosciences, Palo Alto. CA。

細胞系

人類乳癌細胞系 MCF-7 係購自 American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA, Cat-no. HTB22)。使 MCF-7 細胞在補充有 1 mM L-麩胺醯胺 (Gibco, Grand Island, NY) 及 10% 胎牛血清 (Gibco, Grand Island, NY) 之達氏修正依氏培養基 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM, Mediatech, Inc., Herndon, VA) 中生長。在標準 T25 組織培養燒瓶 (Corning, Corning, NY) 中之生長培養基 (上文所述) 中建立細胞培養物。將燒瓶在 37°C, 5% CO₂ 及 86% 濕度下在潮濕培養箱中培養。藉由顯微觀測每日監測細胞生長直至實現 60-70% 融合狀態。對生長條件進行選擇使得細胞在以 ALA 光敏劑處理期間將處於對數期生長中, 但未接近於藉由終止化學暴露將形成融合單層之融合程度。在實驗室製備中, 自 T25 燒瓶採集細胞且將 0.1 ml (10⁵ 個細胞/ml) 等分試樣接種於 60 mm 組織培養皿 (Corning Costar Corp., Corning, NY) 中以供隔夜附接。將 MCF-7 細胞作為四個獨立組研究, 第一組 (組 I, 實驗組) 暴露於 0.5 mM ALA 歷時 3 小時, 隨後進行光活化 ([+]ALA[+]PDT)。此涉及將細胞在 37°C 下在 5% CO₂ 中以 0.5 mM ALA 培養 3 小時。培養後, 使 MCF-7 細胞在 5.0 mJ/cm² 流量之光活化 ALA 下暴露於來自置於細胞上方約 5.0 cm 之 HeNe 雷射 (λ 632.8 nm, <15 mW, Melles Griot, Carlsbad, CA) 之紅光中歷時 5 分鐘, 且隨後

誘導細胞凋亡。第二及第三組(分別為組II及組III)用作「經處理對照」且分別在不使用光活化([+]ALA[-]PDT)及無0.5 mM ALA之光活化([-]ALA[+]PDT)的狀況下暴露於0.5 mM ALA歷時3小時。第四組(組IV)為「未經處理之對照」,其未接收ALA亦未接收光活化([-]ALA[-]PDT)。

實驗方案

基於酶基質之光學奈米感測器的製備

簡言之,此製程涉及以600 μm 尺寸之核(Fiberguide Industries, Stirling, New Jersey)切割且拋光塑膠包層二氧化矽(PCS)纖維。將纖維拉成50 nm之最終尖端直徑且接著使用熱蒸發沈積系統(Cooke Vacuum Products, South Norwalk, CT)以約100 nm之銀金屬(99.999%純)塗覆實現150 nm之最終直徑。將熔融二氧化矽奈米針尖以酸清潔(HNO_3)隨後以蒸餾水沖洗若干次。最後,使光學奈米纖維在室溫下在無塵環境中空氣乾燥。接著將奈米針尖矽烷化且以有機偶合劑,即蒸餾水中之10%縮水甘油氧基丙基三甲氧基矽烷(GOPS)處理。矽烷化劑與奈米針尖之二氧化矽表面共價結合,將羥基改質為與有機交聯劑1'1, 羰基二咪唑(CDI)相容之末端。使用CDI活性引入咪唑端基尤其有吸引力,因為待要固定之蛋白質可未經化學改質而使用。與使用吸附來附接蛋白質之程序相反,使用此程序結合之蛋白質在洗滌或隨後免疫檢定程序之操作中保持牢固固定。將用於量測卡斯蛋白酶-9活性之經矽烷化且活化之奈米針尖浸沒於含有DMSO、2X反應緩衝液、PBS及LEHD-AMC

之溶液中，且將其於37°C下培養3小時，同時將彼等用於量測卡斯蛋白酶-7活性之奈米針尖浸沒於含有DMSO、2X反應緩衝液、PBS及DEVD-AMC的溶液中，且將其於37°C下培養3小時。

量測系統及程序

本著作中所用之實驗裝置的圖示係描述於先前著作中 [P.M. Kasili, J. M. Song及T. Vo-Dinh, 「Optical Sensor for the Detection of Caspase-9 Activity in a Single Cell」, *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 2799-2806 (2004)]。組件包括用於激發之HeCd雷射(Omnichrome, <5 mW雷射功率)、用於向光學奈米感測器傳遞激發光之光纖、Nikon Diaphot 300倒立螢光顯微鏡(Nikon, Inc., Melville, NY)、光子計數光電倍增管(PMT)及用於資料獲取及處理之PC。使此用於探測單細胞之實驗裝置適於此標準顯微操作及微注射設備的目的。Nikon Diaphot 300倒立顯微鏡配備有Diaphot 300/Diaphot 200恆溫箱以在此等實驗期間保持顯微鏡載物台上的細胞培養物在37°C下。顯微操作設備由用於粗調之MN-2(Narishige Co. Ltd., Tokyo, Japan)Narishige三維操作器及用於細調之Narishige MMW-23三維液壓微操作器組成。將光學奈米感測器安裝於微量吸管固持器(World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL)上。HeCd雷射之325 nm雷射線聚焦於以超小型A(SMA)連接器封端之600- μ m傳遞纖維上。使基於酶基質之光學奈米感測器經SMA連接器與傳遞纖維耦合且以微操作器緊固於Nikon倒立顯

微鏡上。為了記錄奈米針尖處AMC分子產生之螢光，將Hamamatsu PMT偵測器總成(HC125-2)安裝於Diaphot 300顯微鏡的前端部分。使用單一活細胞進行量測得到之AMC發射之螢光由顯微鏡物鏡收集且穿過330-380 nm濾波片且接著聚焦於PMT上以供偵測。使用與個人電腦(PC)界面連接之通用計數器記錄PMT之結果以供資料處理及加工。

卡斯蛋白酶活性之活體外測定

使用以下處理組(組 I-[+]ALA[+]PDT、組 II-[+]ALA[-]PDT、組 III-[-]ALA[+]PDT及組 IV-[-]ALA[-]PDT)培養後，將MCF-7細胞以PBS溶液，pH 7.4洗滌，且接著再懸浮於溶解緩衝液(100 mM HEPES，pH 7.4、10%蔗糖、0.1% 3-[(3-膽鹼胺基丙基)-二甲基銨基]-1-丙烷磺酸酯(CHAPS)、1 mM EDTA、10 mM二硫蘇糖醇(DTT)、1 mM苯基甲基磺醯基氟(PMSF)、10 mg/ml抑胃肽、10 mg/ml亮抑蛋白酶肽)中且留在冰上歷時45分鐘。接著使細胞重複通過具有25號針的注射器直至多數細胞膜經破壞，且將其於1500 RPM下離心分離10分鐘。使用螢光基質肽量測卡斯蛋白酶活性；LEHD-AMC用於卡斯蛋白酶-9且DEVD-AMC用於卡斯蛋白酶-7。在將光學奈米感測器在含有來自多個處理組之細胞溶胞物之皮克試管(picofuge tube)中培養且使用HeCd雷射(激發325 nm)激發AMC之後量測AMC的釋放。將卡斯蛋白酶活性分別表示為隨LEHD-AMC及DEVD-AMC的當量奈莫耳數變化之AMC螢光強度。

將卡斯蛋白酶-9及卡斯蛋白酶-7活性之活體外量測結果

作圖。將 AMC 的各螢光量測之曲線各自隨 AMC 濃度變化作圖。藉由在自以下處理組(本文先前描述之組 I、II、III 及 IV)獲得之細胞溶胞物(約 10^5 個細胞)中將光學奈米感測器與基質 LEHD-7-胺基-4-甲基香豆素(AMC)一起培養測定卡斯蛋白酶-9 活性。在使用 HeCd 雷射(325 nm)激發且使用 380 nm 長波段通光濾波片(longpass filter)收集螢光信號之後量測 AMC 釋放。AMC 的峰值發射波長為約 440 nm。同樣，藉由在自以下處理組 I、II、III 及 IV 獲得之細胞溶胞物(約 10^5 個細胞)中培養來測定卡斯蛋白酶-7 活性。在使用 HeCd 雷射(325 nm)激發且使用 380 nm 長波段通光濾波片收集螢光信號之後量測 AMC 釋放。

在此實例中，量測兩組細胞，即組 I 及組 II：(1)組 I 以藥物 ALA 處理且(2)組 II 以與先前章節所述之 PEPST 探針結合之藥物 ALA 處理。藉由比較結果(所偵測到之卡斯蛋白酶之量)，可評估 PEPST-ALA 藥物相較於僅 ALA 的效率。

根據上述教示，本發明的其他修改及變化為可能的。因此應理解在隨附申請專利範圍之範疇內，本發明可另外如本文特定描述來實踐。

【圖式簡單說明】

圖 1 提供例示性電磁波譜(以公尺(m)計)(1 nm 等於 10^{-9} m)。

圖 2A 及圖 2B 為各種波長之能量在活組織之穿透深度的圖示。

圖 3 說明本發明例示性實施例之系統。

三、英文發明摘要：

Products, compositions, systems, and methods for modifying a target structure which mediates or is associated with a biological activity, including treatment of conditions, disorders, or diseases mediated by or associated with a target structure, such as a virus, cell, subcellular structure or extracellular structure. The methods may be performed in situ in a non-invasive manner by application of an initiation energy to a subject thus producing an effect on or change to the target structure directly or via a modulation agent. The methods may further be performed by application of an initiation energy to a subject in situ to activate a pharmaceutical agent directly or via an energy modulation agent, optionally in the presence of one or more plasmonics active agents, thus producing an effect on or change to the target structure. Kits containing products or compositions formulated or configured and systems for use in practicing these methods.

八、圖式：

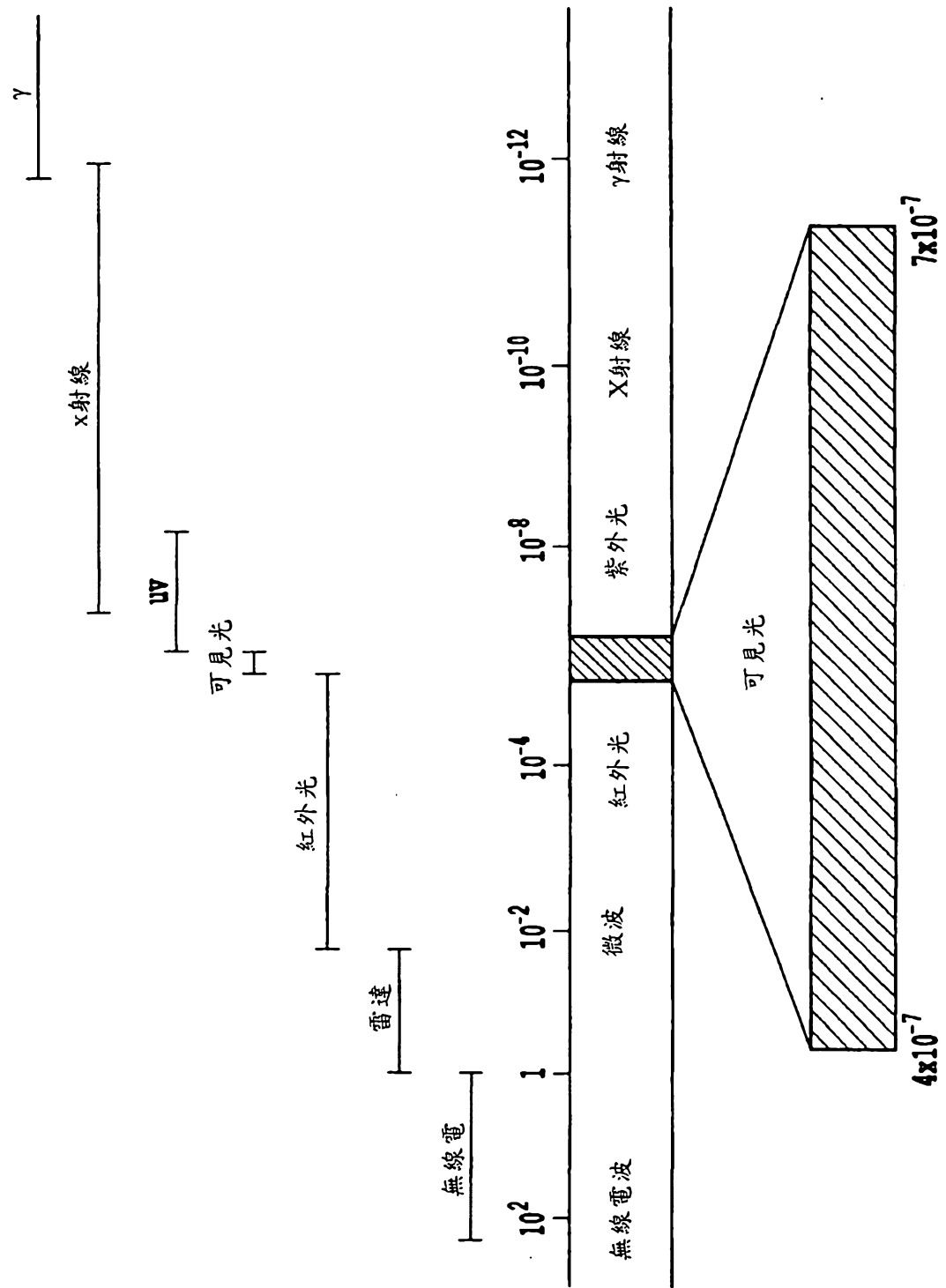


圖1

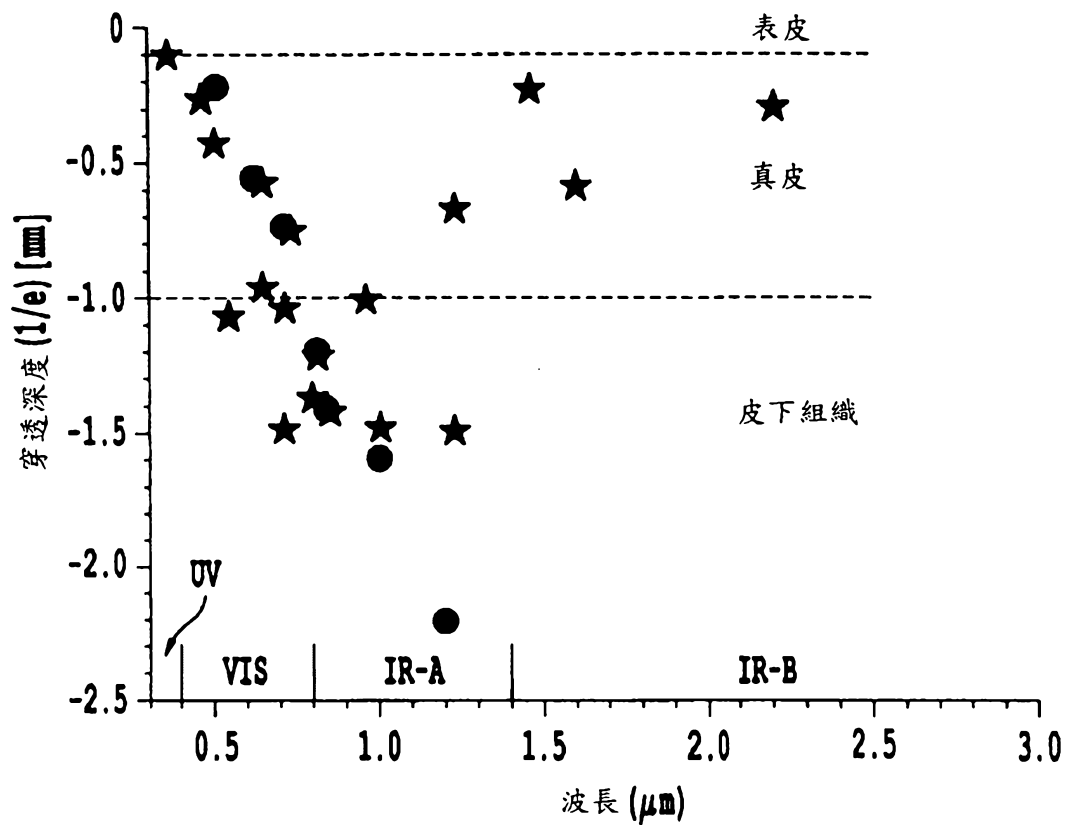


圖 2A

光穿透深度 (mm)

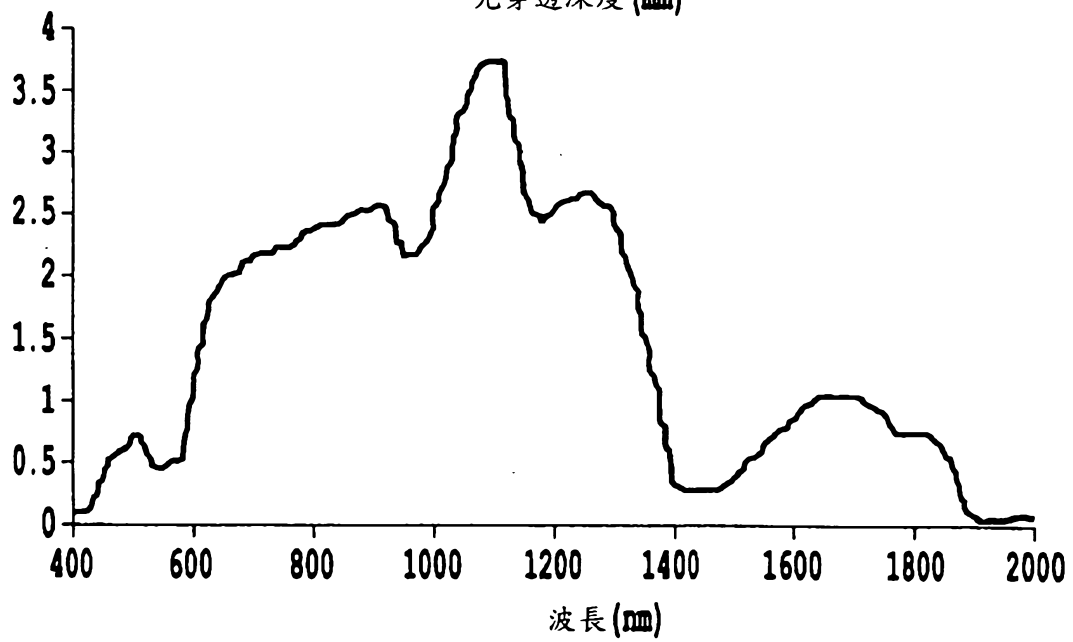


圖 2B

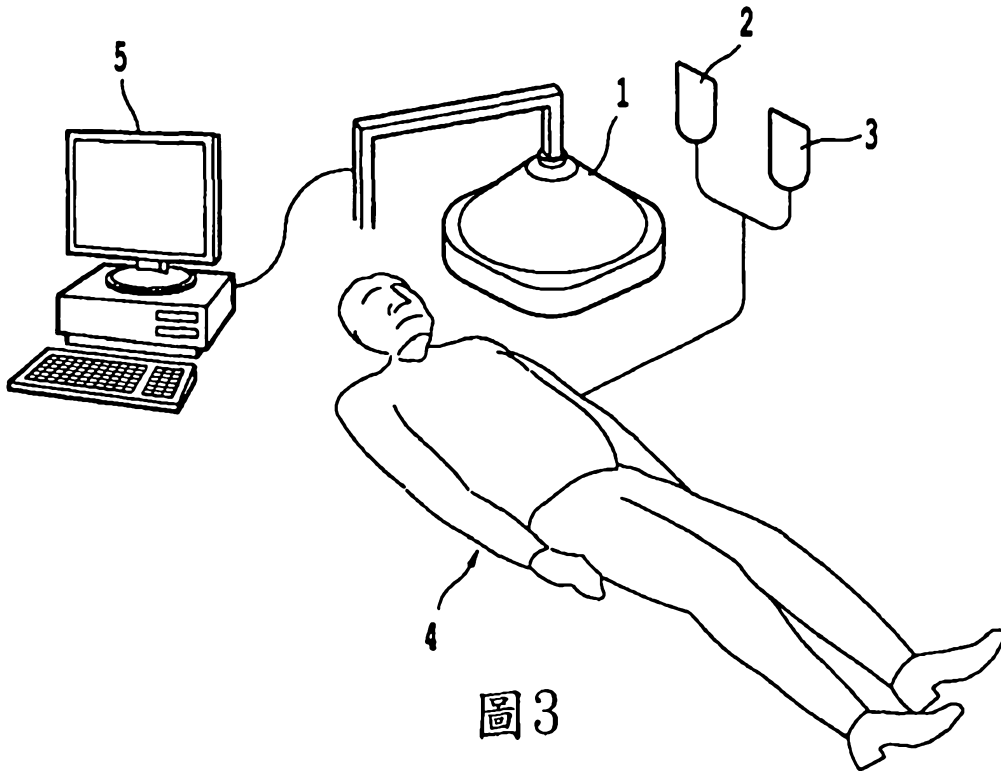


圖3

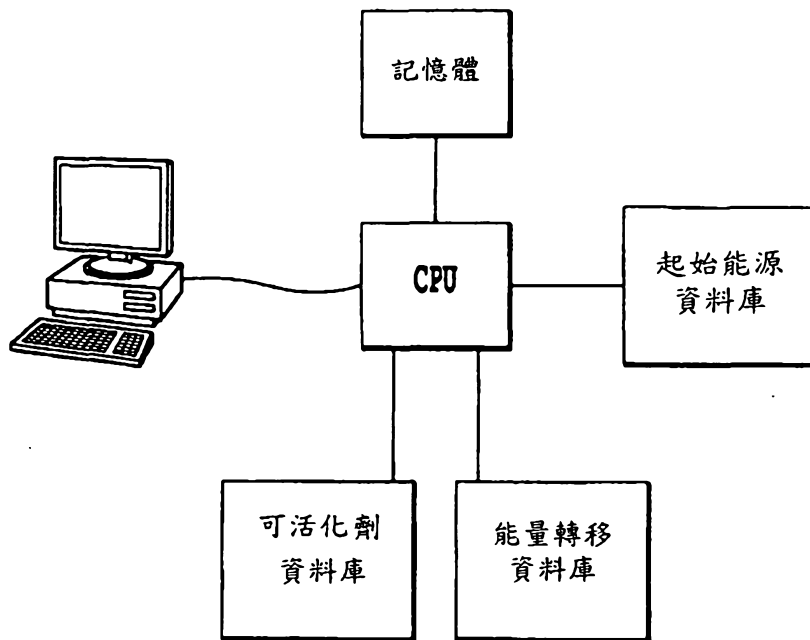


圖4

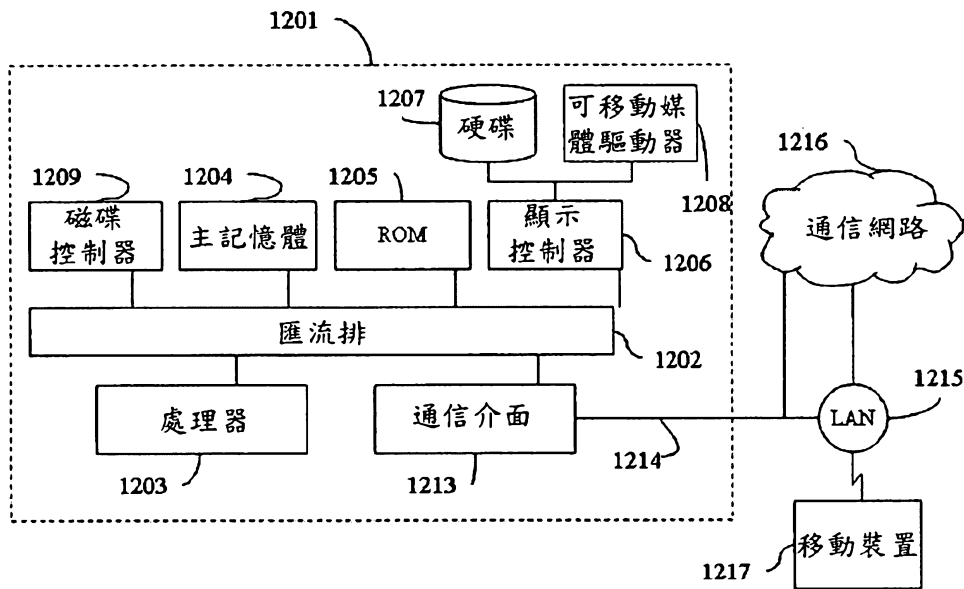
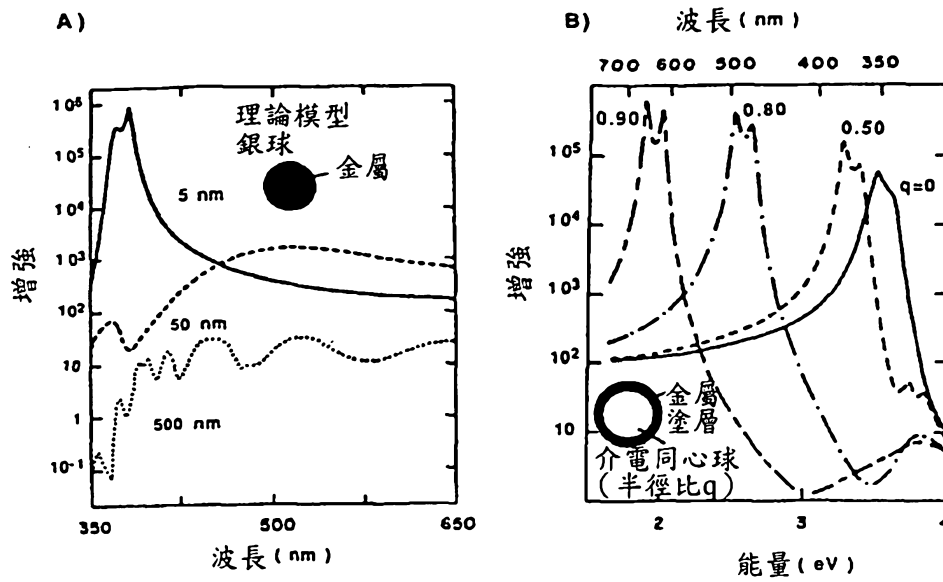


圖5



電漿子奈米結構及其在不同激發波長下的理論電磁增強：A) 不同半徑之銀奈米球；
B) 具有不同介電核/金屬殼半徑比之奈米殼 [M. M. Kerker, *Acc. Chem. Res.*, 17, 370 (1984)]

圖6

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (15) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

圖4說明根據本發明實施例之例示性電腦實施系統。

圖5說明用於實施本發明各種實施例之例示性電腦系統(1201)。

圖6為電漿子奈米結構及其在不同激發波長下理論電磁增強之圖示。

圖7提供適用於本發明之電漿子光活性探針之代表性實施例：(A)與金屬奈米粒子結合之PA分子；(B)以金屬奈米粒子覆蓋之含PA之奈米粒子；(C)以PA奈米帽覆蓋之金屬奈米粒子；(D)以金屬奈米帽覆蓋之含PA奈米粒子；(E)以PA奈米殼覆蓋之金屬奈米粒子；(F)以金屬奈米殼覆蓋之含PA奈米粒子；(G)以具有保護性塗層之金屬奈米殼覆蓋之含PA奈米粒子。

圖8為本發明所用之光譜療法之電漿子增強作用之圖解說明：(A)奈米粒子改良PA分子向靶患病細胞中之傳遞；(B)表面電漿擴增對變得更具光活性之PA分子的激發。

圖9提供電漿子活性奈米結構之代表性實施例：(A)金屬奈米粒子；(B)以金屬奈米帽覆蓋之介電奈米粒子核；(C)覆蓋介電球體核之球形金屬奈米殼；(D)覆蓋介電球體核之扁圓金屬奈米殼；(E)以介電奈米殼覆蓋之金屬奈米粒子核；(F)具有保護性塗層之金屬奈米殼；(G)覆蓋介電球體核之多層金屬奈米殼；(H)多奈米粒子結構；(I)金屬奈米立方體及奈米三角；金屬圓柱。

圖10為一個具有遠端藥物釋放之PEPST探針之實施例的圖示。

圖 11 為具有各種用於遠端藥物釋放之連接子的 PEPST 探針之若干實施例的圖示：(A) 藉由生物化學鍵與金屬奈米粒子結合之 PA 分子；(A)-1 在細胞內，光子輻射釋放可進入核之 PA；(B) 藉由 DNA 鍵與金屬奈米粒子結合之 PA 分子；(B)-1 在細胞內，光子輻射釋放可進入核之 PA；(C) 藉由抗體-抗原鍵與金屬奈米粒子結合之 PA 分子；(C)-1 在細胞內，光子輻射釋放可進入核之 PA。

圖 12 為具有生物受體之電漿子光活性探針之若干實施例的圖示：(A) 與金屬奈米粒子結合之 PA 分子；(B) 以金屬奈米粒子覆蓋之含 PA 奈米粒子；(C) 以 PA 奈米帽覆蓋之金屬奈米粒子；(D) 以金屬奈米帽覆蓋之含 PA 奈米粒子；(E) 以 PA 奈米殼覆蓋之金屬奈米粒子；(F) 以金屬奈米殼覆蓋之含 PA 奈米粒子；(G) 以具有保護性塗層之金屬奈米殼覆蓋之含 PA 奈米粒子。

圖 13 為組織之「治療窗」及生物學組份之吸收光譜之圖示。

圖 14 為本發明之能量調節劑(或激發能轉化劑/EEC)-光活性劑(PA)系統之一實施例的圖示，其中，使用 X 射線激發「激發能轉化劑」(EEC)分子系統；EEC 吸收 X 射線能量且發射「光活化劑」(PA)分子吸附之光；PA 分子成為用於疾病治療之經活化藥物。

圖 15 為電漿子光活性能量調節劑-PA 探針之若干實施例之圖示：(A) 與 EEC 及電漿子金屬奈米粒子結合之 PA 分子；(B) 具有以 PA 分子覆蓋之 EEC 奈米帽的電漿子金屬奈

米粒子；(C)具有電漿子金屬奈米粒子之經PA覆蓋之奈米粒子；(D)以PA分子及電漿子金屬奈米帽覆蓋之含EEC奈米粒子；(E)具有以PA分子覆蓋之EEC奈米殼之電漿子金屬奈米粒子核；(F)藉由可分離生物化學鍵與EEC(與電漿子金屬奈米粒子附接)奈米粒子結合之PA分子。

圖16顯示展現XEOL之金錯合物之各種較佳實施例的結構。

圖17顯示展現XEOL之化合物之另一實施例(亦即參-8-羥基喹啉-鋁錯合物)的結構。

圖18為本發明之光活性能量調節劑-PA探針之電漿子增強機制的圖示。

圖19為顯示補骨脂素之激發及發射螢光光譜的曲線圖。

圖20為具有可分離鍵之PEPST能量調節劑-PA系統之實施例的圖示：(A)EEC奈米粒子改良PA分子(例如，補骨脂素)向靶患病細胞中之傳遞；(B)在細胞內，光子輻射釋放可進入核之PA；(C)合適波長之輻射(NIR至X射線)誘導電漿子場活化插入至DNA中之PA。

圖21為用於雙電漿子激發之PEPST探針之一實施例的圖示。

圖22為使用囊封光活性劑之實施例的圖示：(A)囊封之光活性劑之用途；(B)具有生物受體之囊封之活性藥物分子；(C)光活性藥物分子之釋放；(D)光活性藥物分子之光子活化。

圖23為使用本發明之非侵入性PEPST模態原理的簡化圖

示。

圖 24 為顯示包含經銀塗覆之聚苯乙烯奈米球之奈米帽(半個奈米殼)的顯微照片。

圖 25 顯示基本 EIP 探針的各種示意性實施例。

圖 26 為 PAH 化合物之螢光光譜的圖示。

圖 27 為顯示摻雜於 BaFBr 基質中之 Eu 之 XEOL 的曲線圖。

圖 28 提供 EIP 探針之方案設計之其他實施例。

圖 29 為基本 EPEP 探針之各種實施例的圖示。

圖 30 為基本 EPEP 探針之各種實施例的圖示。

圖 31 為具有 NP、NW 及 NR 之 EPEP 探針之各種實施例的圖示。

圖 32 為具有 NP、NW、NR 及生物受體之 EPEP 探針之各種實施例的圖示。

圖 33 為具有 NP 及多個 NW 之 EPEP 探針之一實施例的圖示。

圖 34 顯示光活性分子與電漿子探針結合之光活性探針：
(A) 與金屬奈米粒子結合之 PA 分子；(B) 以金屬奈米粒子覆蓋之 X 射線轉化劑奈米粒子；(C) 以 X 射線轉化劑奈米帽覆蓋之金屬奈米粒子；(D) 以金屬奈米帽覆蓋之 X 射線轉化劑奈米粒子；(E) 以 X 射線轉化劑奈米殼覆蓋之金屬奈米粒子；(F) 以金屬奈米殼覆蓋之 X 射線轉化劑奈米粒子；(G) 以具有保護性塗層之金屬奈米殼覆蓋之 X 射線轉化劑奈米粒子。

圖 35 顯示在金屬與 UC 材料之間具有介電層之電漿子光活性探針：(A)與金屬奈米粒子結合之 PA 分子；(B)以介電層及金屬奈米粒子覆蓋之 X 射線轉化劑奈米粒子；(C)以介電層及 X 射線轉化劑奈米帽覆蓋之金屬奈米粒子；(D)以介電層及金屬奈米帽覆蓋之 X 射線轉化劑奈米粒子；(E)以介電層及 X 射線轉化劑奈米殼覆蓋之金屬奈米粒子；(F)以介電層及金屬奈米殼覆蓋之 X 射線轉化劑奈米粒子。

【主要元件符號說明】

1	起始能源
2	可活化醫藥劑
3	能量調節劑
4	個體
5	電腦系統
1201	例示性電腦系統
1202	匯流排
1203	處理器
1204	主記憶體
1205	唯讀記憶體
1206	磁碟控制器
1207	磁性硬碟
1208	可移動媒體驅動器
1209	顯示控制器
1213	通信介面
1214	網路鏈路

1215	區域網路
1216	通信網路
1217	移動裝置

發明專利說明書

104年5月22日修(更)正替換頁

中文說明書替換頁(104年5月)

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：098111303

※ 申請日：98年4月3日

※IPC 分類：A61N 5/06 (>00b,01)

A61N 5/10 (>00b,01)

一、發明名稱：(中文/英文)

用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之醫藥
組合物及套組

PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND KIT FOR MODIFYING A
TARGET STRUCTURE WHICH MEDIATES OR IS ASSOCIATED
WITH A BIOLOGICAL ACTIVITY

二、中文發明摘要：

本發明係關於用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構，包括治療由靶結構介導或與靶結構有關之病況、病症或疾病的產品、組合物、系統及方法，靶結構諸如病毒、細胞、亞細胞結構或胞外結構。該等方法可以原位非侵入方式藉由向個體施加起始能量，因此直接或經調節劑對靶結構產生作用或改變而進行。該等方法另可藉由視情況在一或多種電漿子活性劑(plasmonics active agents)存在下，向個體原位施加起始能量以直接或經能量調節劑活化醫藥劑，因此對靶結構產生作用或改變而進行。用於實踐此等方法之含有經調配或經組裝(configured)之產品或組合物的套組及系統。

七、申請專利範圍：

104年5月22日修(更)正替換頁
本

1. 一種醫藥組合物，其係用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構，該醫藥組合物包含：
補骨脂素(psoralens)，其為可活化醫藥劑；
至少一種選自由能量調節劑、電漿子活性劑(plasmonics-active agents)及其組合組成之群的藥劑；及
醫藥學上可接受之載劑。
2. 如請求項1之醫藥組合物，其進一步包含化學能源。
3. 如請求項2之醫藥組合物，其中該化學能源為選自由磷光化合物、化學發光化合物、生物發光化合物及發光酶組成之群的成員。
4. 如請求項1之醫藥組合物，其中該至少一種藥劑包含至少一種能量調節劑，其中該至少一種能量調節劑為一或多個選自生物相容螢光金屬奈米粒子、螢光金屬氧化物奈米粒子、螢光金屬塗覆之金屬氧化物奈米粒子、螢光染料分子、金奈米粒子、銀奈米粒子、金塗覆之銀奈米粒子、聚醯胺基胺樹枝狀聚合物囊封之水溶性量子點、螢光素酶、生物相容磷光分子、組合之電磁能採集分子、及顯示強烈發光之鑷系螯合物的成員。
5. 如請求項1之醫藥組合物，其中該可活化醫藥劑與載劑偶合，該載劑能夠與靶結構上或附近之受體位點(receptor site)結合。
6. 如請求項5之醫藥組合物，其中該載劑為選自胰島素、介白素、胸腺生成素或轉鐵蛋白。

7. 如請求項5之醫藥組合物，其中該可活化醫藥劑藉由共價鍵與載劑偶合。
8. 如請求項5之醫藥組合物，其中該可活化醫藥劑藉由非共價鍵與載劑偶合。
9. 如請求項5之醫藥組合物，其中該受體位點為選自有核細胞之核酸、有核細胞上之抗原位點或抗原決定基。
10. 如請求項1之醫藥組合物，其中該至少一種藥劑為至少一種能量調節劑。
11. 如請求項10之醫藥組合物，其中該至少一種能量調節劑為單一能量調節劑。
12. 如請求項10之醫藥組合物，其中該至少一種能量調節劑為多種能量調節劑，且其中起始能量經該多種能量調節劑之間的級聯(cascade)能量轉移轉化為活化能，實現靶結構之修飾。
13. 如請求項1之醫藥組合物，其中該可活化醫藥劑包含於光遮罩(photocage)內，其中該光遮罩在暴露於起始能源時與該活性劑解離，使該活性劑可利用。
14. 如請求項1之醫藥組合物，其中該可活化醫藥劑包含於光遮罩內，其中該光遮罩在暴露於該至少一種能量調節劑再發射之能量作為該至少一種可活化醫藥劑之活化能時，該光遮罩與該活性劑解離，使該活性劑可利用。
15. 如請求項10之醫藥組合物，其中該至少一種能量調節劑為單一能量調節劑，且與至少一種可活化醫藥劑偶合。
16. 如請求項10之醫藥組合物，其中該至少一種能量調節劑

為多種能量調節劑，其能夠經該多種能量調節劑之間的級聯能量轉移將起始能量轉化為活化能，使至少一種可活化醫藥劑活化。

17. 如請求項1之醫藥組合物，其中該至少一種藥劑為至少一種電漿子活性劑。
18. 如請求項1之醫藥組合物，其中該至少一種藥劑為至少一種能量調節劑與至少一種電漿子活性劑的組合。
19. 如請求項17之醫藥組合物，其中該至少一種電漿子活性劑為多電漿子共振模式(multi plasmonics resonance mode)之PEPST探針。
20. 如請求項17之醫藥組合物，其中該電漿子活性劑為包含電漿子活性金屬奈米結構之PEPST探針。
21. 如請求項20之醫藥組合物，其中該金屬奈米結構為奈米球、奈米棒、奈米立方體、奈米角錐、奈米殼、多層奈米殼及其組合。
22. 如請求項17之醫藥組合物，其中該電漿子活性劑為具有用於不同電漿子活化方案之多重結構的PEPST探針。
23. 如請求項22之醫藥組合物，其中該電漿子活化方案為近紅外光(NIR)及/或X射線。
24. 如請求項17之醫藥組合物，其中該電漿子活性劑為具有激子特性之激子誘導之光照治療術(phototherapy)(EIP)探針。
25. 如請求項18之醫藥組合物，其中該至少一種電漿子活性劑為多電漿子共振模式之PEPST探針。

26. 如請求項18之醫藥組合物，其中該電漿子活性劑為包含電漿子活性金屬奈米結構之PEPST探針。
27. 如請求項26之醫藥組合物，其中該金屬奈米結構為奈米球、奈米棒、奈米立方體、奈米角錐、奈米殼、多層奈米殼及其組合。
28. 如請求項18之醫藥組合物，其中該電漿子活性劑為具有用於不同電漿子活化方案之多重結構的PEPST探針。
29. 如請求項28之醫藥組合物，其中該電漿子活化方案為NIR及/或X射線。
30. 如請求項18之醫藥組合物，其中該電漿子活性劑為具有激子特性之激子誘導之光照治療術(EIP)探針。
31. 如請求項1之醫藥組合物，其進一步包含至少一種具有互補治療或診斷作用之添加劑，其中該添加劑為至少一個選自由抗氧化劑、佐劑、化學能源及其組合組成之群的成員。
32. 一種用於修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之套組，其包含：
 - 補骨脂素，其為可活化醫藥劑；
 - 至少一種選自由能量調節劑、電漿子活性劑及其組合組成之群的藥劑；
 - 其中該能量調節劑(若存在)將起始能量升級或降級為能夠直接或間接引起該靶結構中之預定變化之活化能；
 - 其中該電漿子活性劑(若存在)增強或修飾所施加之

起始能量或能量調節劑所產生之活化能，或兩者；及一或多個適於儲存該等藥劑呈穩定形式之容器。

33. 如請求項32之套組，其進一步包含向個體投與該至少一種藥劑之說明書。
34. 如請求項32之套組，其中該至少一種藥劑包含至少一種能量調節劑，其中該至少一種能量調節劑為一或多個選自生物相容螢光金屬奈米粒子、螢光金屬氧化物奈米粒子、螢光金屬塗覆之金屬氧化物奈米粒子、螢光染料分子、金奈米粒子、銀奈米粒子、金塗覆之銀奈米粒子、聚醯胺基胺樹枝狀聚合物囊封之水溶性量子點、螢光素酶、生物相容磷光分子、組合之電磁能採集分子、及顯示強烈發光之鑰系螯合物的成員。
35. 如請求項32之套組，其進一步包含向個體投與該可活化醫藥劑及至少一種選自由能量調節劑、電漿子活性劑及其組合組成之群的藥劑及藉由施加起始能量使該可活化醫藥劑活化之說明書。
36. 如請求項32之套組，其中該可活化醫藥劑與載劑偶合，該載劑能夠與靶結構上或附近之受體位點結合。
37. 如請求項36之套組，其中該載劑為選自胰島素、介白素、胸腺生成素或轉鐵蛋白。
38. 如請求項36之套組，其中該可活化醫藥劑藉由共價鍵與載劑偶合。
39. 如請求項36之套組，其中該可活化醫藥劑藉由非共價鍵與載劑偶合。

40. 如請求項36之套組，其中該受體位點為選自有核細胞之核酸、有核細胞上之抗原位點或抗原決定基。
41. 如請求項32之套組，其中該至少一種藥劑為至少一種能量調節劑。
42. 如請求項41之套組，其中該至少一種能量調節劑為單一能量調節劑。
43. 如請求項41之套組，其中該至少一種能量調節劑為多種能量調節劑，且其中該起始能量經該多種能量調節劑之間的級聯能量轉移轉化為活化能。
44. 如請求項32之套組，其中該可活化醫藥劑包含於光遮罩內，其中該光遮罩在暴露於起始能源時與該活性劑解離，使該活性劑可利用。
45. 如請求項32之套組，其中該可活化醫藥劑包含於光遮罩內，其中該光遮罩在暴露於該至少一種能量調節劑再發射之能量作為該可活化醫藥劑之活化能時，該光遮罩與該活性劑解離，使該活性劑可利用。
46. 如請求項41之套組，其中該至少一種該能量調節劑為單一能量調節劑，且與該可活化醫藥劑偶合。
47. 如請求項41之套組，其包含多種能量調節劑，能經該多種能量調節劑之間的級聯能量轉移將起始能量轉化為活化能，使該可活化醫藥劑活化。
48. 如請求項32之套組，其中該至少一種藥劑為至少一種電漿子活性劑。
49. 如請求項32之套組，其中該至少一種藥劑為至少一種能

量調節劑與至少一種電漿子活性劑的組合。

50. 如請求項48之套組，其中該至少一種電漿子活性劑為多電漿子共振模式之PEPST探針。
51. 如請求項48之套組，其中該電漿子活性劑為包含電漿子活性金屬奈米結構之PEPST探針。
52. 如請求項51之套組，其中該金屬奈米結構為奈米球、奈米棒、奈米立方體、奈米角錐、奈米殼、多層奈米殼及其組合。
53. 如請求項48之套組，其中該電漿子活性劑為具有用於不同電漿子活化方案之多重結構的PEPST探針。
54. 如請求項53之套組，其中該電漿子活化方案為NIR及/或X射線。
55. 如請求項48之套組，其中該電漿子活性劑為具有激子特性之激子誘導之光照治療術(EIP)探針。
56. 如請求項49之套組，其中該至少一種電漿子活性劑為多電漿子共振模式之PEPST探針。
57. 如請求項49之套組，其中該電漿子活性劑為包含電漿子活性金屬奈米結構之PEPST探針。
58. 如請求項57之套組，其中該金屬奈米結構為奈米球、奈米棒、奈米立方體、奈米角錐、奈米殼、多層奈米殼及其組合。
59. 如請求項49之套組，其中該電漿子活性劑為具有用於不同電漿子活化方案之多重結構的PEPST探針。
60. 如請求項59之套組，其中該電漿子活化方案為NIR及/或

X射線。

61. 如請求項49之套組，其中該電漿子活性劑為具有激子特性之激子誘導之光照治療術(EIP)探針。
62. 一種醫藥組合物，其包含一種活化時能夠實現靶結構之預定變化的可活化醫藥劑(PA)，及視情況至少一個選自由能量調節劑、電漿子活性劑及其組合組成之群的成員，該組合物係用於製造用於治療以修飾介導生物活性或與生物活性有關之靶結構之藥物，其中該治療包含：
 - (1) 使該靶結構與該醫藥組合物接觸；及
 - (2) 由起始能源向該靶結構施加起始能量，
 - 其中該可活化醫藥劑係補骨脂素；
 - 其中該能量調節劑(若存在)將該起始能量升級或降級為能夠使該可活化醫藥劑活化之活化能；
 - 其中該電漿子活性劑(若存在)增強或修飾所施加之起始能量或該能量調節劑所產生之活化能，或兩者；且
 - 因此使該靶結構發生預定變化，其中該預定變化修飾該靶結構且調節該靶結構之生物活性。
63. 如請求項62之組合物，其中該組合物包含(a)可活化醫藥劑及(b)至少一種能量調節劑。
64. 如請求項63之組合物，其中組份(a)及(b)彼此偶合。
65. 如請求項62之組合物，其中該組合物包含(a)可活化醫藥劑及(c)至少一種電漿子活性劑。
66. 如請求項65之組合物，其中組份(a)及(c)彼此偶合。
67. 如請求項62之組合物，其中該組合物包含(a)一種可活化

- 醫藥劑，(b)至少一種能量調節劑，及(c)至少一種電漿子活性劑，其中該至少一種電漿子活性劑包含至少一種金屬奈米粒子。
68. 如請求項67之組合物，其中組份(a)-(c)中之至少兩者彼此偶合。
69. 如請求項67之組合物，其中組份(a)-(c)中所有組份彼此偶合。
70. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為多電漿子共振模式之PEPST探針。
71. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為包含電漿子活性金屬奈米結構之PEPST探針。
72. 如請求項71之組合物，其中該金屬奈米結構為奈米球、奈米棒、奈米立方體、奈米角錐、奈米殼、多層奈米殼及其組合。
73. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為具有用於不同電漿子活化方案之多重結構的PEPST探針。
74. 如請求項73之組合物，其中該電漿子活化方案為NIR及/或X射線。
75. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為包含具有PA之金屬奈米系統的PEPST探針。
76. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，且進一步包含半導體系統與PA之組合。
77. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為包含具有PA之X射線激發光學發光(XEOL)系統的PEPST探針。

78. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為包含具有能量調節劑及PA之金屬奈米系統之PEPST探針。
79. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，且進一步包含半導體系統與能量調節劑及PA之組合。
80. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為包含具有能量調節劑及PA之XEOL系統之PEPST探針。
81. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為在X射線下具有活性之PEPST探針。
82. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為在X射線下具有活性之PEPST探針。
83. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為包含在X射線下具有活性之電漿子活性金屬奈米結構之PEPST探針，X射線激發電漿子活性金屬奈米結構之金屬奈米粒子或亞奈米粒子中之表面電漿(plasmons)。
84. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含一或多種生物受體之PEPST探針。
85. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含一或多種生物受體之PEPST探針。
86. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，且進一步包含具有能量調節劑-PA系統之靶向傳遞系統。
87. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，其中該等PA分子藉由光子輻射或超音(ultrasound)釋

放。

88. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含一或多種脂質體之PEPST探針。
89. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含一或多種脂質體之PEPST探針。
90. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，且進一步包含具有PA或能量調節劑及PA之鐵蛋白及/或缺鐵鐵蛋白。
91. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，且進一步包含具有能量調節劑及PA之鐵蛋白及/或缺鐵鐵蛋白。
92. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，其中該PA藉由光子輻射或超音釋放及活化。
93. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，其中該PA藉由光子輻射或超音釋放，且該PA或該能量調節中之一者或兩者藉由光子輻射或超音活化。
94. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，其中該可活化醫藥劑藉由多光子激發活化。
95. 如請求項62之組合物，其中該可活化醫藥劑藉由多光子激發活化。
96. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為PEPST探針，且該PEPST探針之組份係使用共軛、結合金屬至有機及無機化合物及/或生物分子結合。
97. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為具有激子

特性之激子誘導之光照治療術(EIP)探針。

98. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，且其包含電漿子活性金屬奈米結構、產生激子之能量調節劑材料、PA組份，其中該等結構與該等材料產生激子-電漿耦合(EPC)。
99. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，且進一步包含半導體系統與PA之組合。
100. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，且進一步包含半導體系統與能量調節劑及PA之組合。
101. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，且進一步包含具有PA之XEOL系統。
102. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，且進一步包含具有能量調節劑及PA之XEOL系統。
103. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為在X射線下具有活性之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
104. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為在X射線下具有活性之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
105. 如請求項65之組合物，其中該電漿子劑為進一步包含一或多種生物受體之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。

106. 如請求項67之組合物，其中該電漿子劑為進一步包含一或多種生物受體之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
107. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含傳遞系統與能量調節劑及PA之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
108. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，其中該等PA分子藉由光子輻射或超音釋放及活化。
109. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，且該方法使用藥物傳遞及光子輻射或超音而自抗體系統釋放PA分子。
110. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含一或多種脂質體之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
111. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含一或多種脂質體之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
112. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含具有PA之鐵蛋白及/或缺鐵鐵蛋白之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
113. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含具有能量調節劑及/或PA之鐵蛋白及/或缺鐵鐵蛋白之激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。

114. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，其中該PA藉由光子輻射或超音釋放及活化。
115. 如請求項67之組合物，其中該電漿子活性劑為激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針，其中該PA藉由光子輻射或超音釋放，且該能量調節劑及/或該PA藉由光子輻射或超音活化。
116. 如請求項65之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含用於釋放及光子激發該PA之化學不穩定連接子的激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
117. 如請求項62之組合物，其中該電漿子活性劑為進一步包含用於釋放及光子激發該能量調節劑及/或該PA之化學不穩定連接子的激子-電漿增強之光照治療術(EPEP)探針。
118. 如請求項62之組合物，其中該起始能量為電磁能、音能或熱能之一。
119. 如請求項67之組合物，其中該起始能量為x射線、 γ 射線、電子束、UV輻射、可見光、紅外輻射、微波或無線電波。
120. 如請求項62之組合物，其中該起始能量具有完全穿透個體之能力。
121. 如請求項62之組合物，其中該起始能源係選自由磷光化合物、化學發光化合物、生物發光化合物及發光酶組成之群。

122. 如請求項 62 之組合物，其中該可活化醫藥劑與載劑偶合，該載劑能夠與靶結構上或附近之受體位點結合。
123. 如請求項 122 之組合物，其中該載劑為選自胰島素、介白素、胸腺生成素或轉鐵蛋白。
124. 如請求項 122 之組合物，其中該可活化醫藥劑藉由共價鍵與載劑偶合。
125. 如請求項 122 之組合物，其中該可活化醫藥劑藉由非共價鍵與載劑偶合。
126. 如請求項 122 之組合物，其中該受體位點為選自有核細胞之核酸、有核細胞上之抗原位點或抗原決定基。
127. 如請求項 63 之組合物，其中該至少一種能量調節劑為單一能量調節劑。
128. 如請求項 65 之組合物，其中該至少一種能量調節劑為單一能量調節劑。
129. 如請求項 63 之組合物，其中該至少一種能量調節劑為多種能量調節劑，且其中該起始能量經該多種能量調節劑之間的級聯能量轉移轉化為使至少一種可活化醫藥劑活化之能量。
130. 如請求項 62 之組合物，其中該可活化醫藥劑包含於光遮罩內，其中該光遮罩在暴露於起始能源時與該活性劑解離，使該活性劑可利用。
131. 如請求項 63 之組合物，其中該可活化醫藥劑包含於光遮罩內，其中該光遮罩在暴露於該至少一種能量調節劑再發射之能量作為該可活化醫藥劑之活化能時，該光遮罩

與該活性劑解離，使該活性劑可利用。

132. 如請求項 63 之組合物，其中該至少一種能量調節劑為一或多個選自生物相容螢光金屬奈米粒子、螢光金屬氧化物奈米粒子、螢光金屬塗覆之金屬氧化物奈米粒子、螢光染料分子、金奈米粒子、銀奈米粒子、金塗覆之銀奈米粒子、聚醯胺基胺樹枝狀聚合物囊封之水溶性量子點、螢光素酶、生物相容磷光分子、組合之電磁能採集分子、及顯示強烈發光之鑷系螯合物的成員。
133. 如請求項 62 之組合物，其進一步包含阻斷劑，其中該阻斷劑能夠在可活化醫藥劑活化之前阻斷其攝取。
134. 如請求項 133 之組合物，其中該靶結構為靶細胞，且其中該阻斷劑減緩非靶細胞中之有絲分裂，而使靶細胞保持異常有絲分裂速率。
135. 如請求項 62 之組合物，其中該可活化醫藥劑在活化時在個體內產生單態氧之量不足以產生細胞溶解。
136. 如請求項 135 之組合物，其中單態氧產量小於 10^9 個單態氧分子/細胞。
137. 如請求項 136 之組合物，其中單態氧產量小於 0.32×10^{-3} mol/L。
138. 如請求項 62 之組合物，其中該可活化醫藥劑包含光敏蛋白質，該蛋白質在暴露於起始能源時調節大腦中的信號傳導事件。
139. 如請求項 63 之組合物，其中該能量調節劑將所施加之起始能量轉化為 UV-A 或可見光能量，接著使可活化醫藥劑

原位活化。

140. 如請求項 139 之組合物，其中該起始能源為能量高於所得 UV-A 或可見光能量之能源。
141. 如請求項 139 之組合物，其中該起始能源為能量低於所得 UV-A 或可見光能量之能源。
142. 如請求項 67 之組合物，其中該至少一種能量調節劑及/或產生激子之能量調節劑修飾該電漿子活性劑所增強之能量，使得該經修飾之能量活化該可活化醫藥劑。
143. 如請求項 67 之組合物，其中該至少一種能量調節劑及/或產生激子之能量調節劑將起始能量修飾為該至少一種電漿子活性劑所增強之能量，使得該經增強之修飾能量活化該可活化醫藥劑。
144. 如請求項 68 之組合物，其中該至少一種能量調節劑及/或產生激子之能量調節劑修飾電漿子活性劑所增強之能量，使得該經修飾之能量活化該可活化醫藥劑。
145. 如請求項 68 之組合物，其中該至少一種能量調節劑及/或產生激子之能量調節劑將起始能量修飾為該至少一種電漿子活性劑所增強之能量，使得該經增強之修飾能量活化該可活化醫藥劑。
146. 如請求項 62 之組合物，其進一步包含化學能源。

