

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2015132626, 17.03.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

15.03.2013 US 61/794,414;

17.03.2014 US 14/215,879

(43) Дата публикации заявки: 25.04.2017 Бюл. № 12

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 15.10.2015

(86) Заявка РСТ:

US 2014/030401 (17.03.2014)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2014/145606 (18.09.2014)

Адрес для переписки:

190000, Санкт-Петербург, ВОХ 1125,  
"ПАТЕНТИКА"

(71) Заявитель(и):

**СЛОУН-КЕТТЕРИНГ ИНСТИТУТ ФО  
КЭНСЭ РИСЕРЧ (US),  
КОРНЕЛЛ ЮНИВЕРСИТИ (US)**

(72) Автор(ы):

**БРЭДБЕРИ Мишель (US),  
ВИСНЕР Ульрих (US),  
ПИНЕЙТ МЕДИНА Оула (DE),  
БЕРНС Эндрю (US),  
ЛЬЮИС Джейсон (US),  
ЛАРСОН Стивен (US),  
КВИНН Том (US)**(54) **МУЛЬТИМОДАЛЬНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ**

## (57) Формула изобретения

1. Способ обнаружения опухолевых клеток у человека, включающий следующие этапы: (а) введение человеку множества мультимодальных наночастиц на основе диоксида кремния в дозе, находящейся в диапазоне от приблизительно 0,01 наномоль/кг массы тела до приблизительно 1 наномоль/кг массы тела, где каждая из указанных наночастиц содержит:

ядро на основе диоксида кремния;

флуоресцентное соединение внутри указанного ядра; и

содержащую диоксид кремния оболочку вокруг по меньшей мере части указанного ядра,

при этом указанная наночастица покрыта органическим полимером, причем к указанной покрытой полимером наночастице присоединено от 1 до 25 лигандов для связывания с опухолевым маркером, и при этом диаметр каждой из указанных наночастиц находится в диапазоне от 1 нм до 25 нм;

(b) направление возбуждающего света в тело человека с обеспечением возбуждения флуоресцентного соединения; и

(c) визуализацию наночастиц,

при этом указанные наночастицы выделяются человеком путем почечного клиренса в диапазоне от 90% начальной дозы (НД) до 100% НД в течение 24 часов после введения.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что наночастицы вводят субдермально, в

околоопухолевое пространство, перорально, внутривенно, назально, подкожно, внутримышечно или трансдермально.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что диаметр указанной наночастицы составляет от приблизительно 1 нм до приблизительно 8 нм.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный органический полимер выбран из группы, состоящей из полиэтиленгликоля (ПЭГ), полилактата, полимолочных кислот, сахаров, липидов, полиглутаминовой кислоты (ПГК), полигликолевой кислоты, сополимера молочной и гликолевой кислот (ПМГК), поливинилацетата (ПВА) и их комбинаций.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что количество лигандов, присоединенных к каждой наночастице, находится в диапазоне от 1 до 10.

6. Способ по п. 1, отличающийся тем, что каждый из лигандов выбран из группы, состоящей из пептида, белка, биополимера, синтетического полимера, антигена, антитела, микроорганизма, вируса, рецептора, гаптена, фермента, гормона, химического соединения, патогена, токсина, модификатора поверхности и их комбинаций.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что указанный пептид выбран из группы, состоящей из трипептида аргинилглициласпарагиновой кислоты (RGD), циклического пептида cRGD, октреотата, EPPT1 и пептидных аналогов альфа-меланоцитстимулирующего гормона (альфа-МСГ).

8. Способ по п. 1, отличающийся тем, что к указанной наночастице присоединен контрастный агент или хелат.

9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что указанный контрастный агент представляет собой радионуклид.

10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что указанный радионуклид выбран из группы, состоящей из  $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{124}\text{I}$  и  $^{177}\text{Lu}$ .

11. Способ по п. 8, отличающийся тем, что указанный хелат выполнен с возможностью связывания с радионуклидом.

12. Способ по п. 8, отличающийся тем, что указанный хелат выбран из группы, состоящей из DFO, DOTA, TETA и DTPA.

13. Способ по п. 1, отличающийся тем, что наночастицы поддаются обнаружению с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), оптической визуализации, биолюминесцентной визуализации или их комбинаций.

14. Способ по п. 13, отличающийся тем, что каждую наночастицу можно обнаружить с помощью оптической визуализации, при этом оптическая визуализация представляет собой флуоресцентную визуализацию.

15. Способ по п. 1, отличающийся тем, что по меньшей мере к одной из указанных наночастиц присоединен терапевтический агент.

16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что указанный терапевтический агент выбран из группы, состоящей из антибиотиков, противомикробных средств, антипролиферативных средств, противоопухолевых средств, антиоксидантов, факторов роста эндотелиальных клеток, ингибиторов тромбина, иммуносупрессоров, агентов против агрегации тромбоцитов, ингибиторов синтеза коллагена, терапевтических антител, доноров оксида азота, антисмысловых олигонуклеотидов, ранозаживляющих агентов, терапевтических конструкций для переноса генов, компонентов внеклеточного матрикса, сосудорасширяющих средств, тромболитических средств, антиметаболитов, агонистов факторов роста, антимиотических средств, статинов, стероидов, стероидных и нестероидных противовоспалительных агентов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), акцепторов свободных радикалов,

агонистов PPAR-гамма, малой интерферирующей РНК (миРНК), микроРНК и противораковых химиотерапевтических агентов.

17. Способ по п. 15, отличающийся тем, что указанный терапевтический агент помечен радиоактивной меткой.

18. Способ по п. 17, отличающийся тем, что указанный терапевтический агент связан с радиоактивным фтором  $^{18}\text{F}$ .

19. Способ по п. 15, отличающийся тем, что указанный терапевтический агент представляет собой радионуклид.

20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что указанный радионуклид выбран из группы, состоящей из  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{131}\text{I}$  и  $^{177}\text{Lu}$ .

21. Способ по п. 6, отличающийся тем, что указанный пептид представляет собой N-Ac-Cys-(Ahx)z-D-Lys-ReCCMSH.

22. Способ по п. 1, отличающийся тем, что наночастицы инкапсулированы в липосомы, содержащие сфингомиелин, и

по меньшей мере часть указанных наночастиц высвобождается из липосом, когда липосомы подвергаются воздействию кислой сфингомиелиназы, высвобождаемой опухолевыми клетками.

23. Способ по п. 1, дополнительно включающий по меньшей мере одно из следующего:

(i) обнаружение или мониторинг клеточного нарушения или заболевания с применением по меньшей мере одного или более изображений человека; и

(ii) обнаружение или мониторинг нормальных тканевых структур путем мечения и распознавания нормальных тканевых структур - например, железистой ткани, например, ткани парашитовидной железы; нервной ткани и/или сосудистых структур, которые присутствуют внутри или расположены рядом с хирургическим полем -например, расположены рядом или смешаны с больной или опухолевой тканью.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанное клеточное нарушение или заболевание включает по меньшей мере одно нарушение или заболевание, выбранное из группы, состоящей из: воспаления, рака, сердечно-сосудистого заболевания, респираторного заболевания, дерматологического заболевания, офтальмического заболевания, инфекционного заболевания, иммунологического заболевания, заболевания центральной нервной системы, наследственных заболеваний, метаболических заболеваний, заболеваний, связанных с окружающей средой, заболеваний, связанных с костями, нейродегенеративных заболеваний и связанных с хирургическим вмешательством осложнений.

25. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанное клеточное нарушение или заболевание представляет собой метастатическую меланому в сигнальном лимфатическом узле.

26. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанное клеточное нарушение или заболевание представляет собой нарушение периферических нервов или узловую болезнь - например, при раке предстательной железы или при других видах рака, таких как рак околоушной железы, щитовидной железы и гортани.

27. Способ по п. 14, отличающийся тем, что визуализация наночастиц включает обнаружение флуоресценции от указанных наночастиц с помощью портативного устройства обнаружения.

28. Способ по п. 27, дополнительно включающий отображение пользователю по меньшей мере одного двухканального изображения лимфатического коллектора.

29. Способ по п. 28, отличающийся тем, что указанное двухканальное изображение включает изображение в цветовой модели RGB и изображение в ближней ИК-области

(БИК) спектра.

30. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает абляцию обнаруженных опухолевых клеток с применением радиочастотной абляции (РЧА).

31. Способ по п. 1, отличающийся тем, что направление возбуждающего света и применение гамма-зонда осуществляют одновременно.

32. Способ по п. 1, отличающийся тем, что наночастицы выделяются человеком таким образом, что количество наночастиц в печени человека через 4 часа после введения составляет менее чем 0,010% от введенной путем инъекции дозы на грамм (ИД/г) (например, менее чем 0,006% ИД/г).

33. Способ по п. 1, отличающийся тем, что каждую из наночастиц обнаруживают с применением гамма-зонда.

34. Способ по п. 1, отличающийся тем, что время полувыведения наночастицы из крови после ее введения составляет от 2 часов до 25 часов, например, от 3 часов до 15 часов, например, от 4 часов до 10 часов.

35. Способ по п. 1, отличающийся тем, что время полувыведения наночастицы из опухоли после ее введения составляет от 5 часов до 5 дней, например, от 10 часов до 4 дней, например, от 15 часов до 3,5 дней).

36. Наночастица, определенная в п. 1, отличающаяся тем, что указанный органический полимер включает полиэтиленгликоль, при этом полиэтиленгликоль присоединен к содержащей диоксид кремния поверхности наночастицы посредством аminosилана, соединенного с активированной сложноэфирной группой на органическом полимере, с образованием амидной связи.

37. Наночастица, определенная в п. 6, отличающаяся тем, что указанный пептид представляет собой пептид, содержащий трипептид аргинилглициласпарагиновой кислоты (RGD).

38. Наночастица по п. 37, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна из наночастиц покрыта полиэтиленгликолевыми цепями с малеимидом на конце для присоединения от 1 до 20 RGD-содержащих пептидных лигандов.

39. Наночастица по п. 37, отличающаяся тем, что RGD-содержащий пептид является циклическим.

40. Наночастица по п. 39, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна из указанных наночастиц покрыта полиэтиленгликолевыми цепями с малеимидом на конце для присоединения от 1 до 20 RGD-содержащих пептидных лигандов, и при этом по меньшей мере один циклический RGD-содержащий пептидный лиганд присоединен к полиэтиленгликолевой цепи с малеимидом на конце посредством тиольной группы цистеинового линкера.

41. Наночастица по п. 40, отличающаяся тем, что указанные от 1 до 20 RGD-содержащих пептидных лигандов помечены радионуклидом.

42. Наночастица по п. 41, отличающаяся тем, что указанные от 1 до 20 RGD-содержащих пептидных лигандов помечены радионуклидом через тирозиновый (Y) линкер.

43. Наночастица, определенная в п. 1, отличающаяся тем, что указанное флуоресцентное соединение представляет собой  $Cu5$ .

44. Наночастица, определенная в п. 1, отличающаяся тем, что указанное флуоресцентное соединение представляет собой  $Cu5.5$ .

45. Способ двухканальной оптической визуализации области тела человека, включающий:

(а) введение человеку множества мультимодальных содержащих диоксид кремния наночастиц, при этом каждая из наночастиц содержит:

ядро на основе диоксида кремния;  
флуоресцентное соединение внутри указанного ядра; и  
содержащую диоксид кремния оболочку вокруг по меньшей мере части указанного ядра,

при этом указанная наночастица покрыта органическим полимером, причем к указанной покрытой полимером наночастице присоединены от 1 до 25 лигандов для связывания с опухолевым маркером, и при этом диаметр каждой из указанных наночастиц находится в диапазоне от 1 нм до 25 нм;

(b) направление света в тело человека;

(с) обнаружение света с помощью первого канала и второго канала, при этом указанные первый канал и второй канал двухканальной системы оптической визуализации находятся на различных длинах волн; и

(d) обработку сигналов, соответствующих обнаруженному свету, с получением одного или более изображений указанной области тела человека.

46. Способ по п. 45, отличающийся тем, что на первом канале обнаруживают красный, зеленый и синий (RGB) свет.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что на втором канале обнаруживают флуоресценцию в ближней ИК-области (БИК) спектра.

48. Способ по п. 45, отличающийся тем, что указанные изображения получают в режиме реального времени.

49. Способ по п. 45, отличающийся тем, что к по меньшей мере одной из указанных наночастиц присоединен терапевтический агент.