



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.11.26

(21) Номер заявки
201690042

(22) Дата подачи заявки
2014.06.19

(51) Int. Cl. *A61K 49/04* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ РАКА С ПОМОЩЬЮ БИОЛОГИЧЕСКИ СОВМЕСТИМОГО
ГЕЛЯ, СОДЕРЖАЩЕГО НАНОЧАСТИЦЫ И/ИЛИ АГРЕГАТЫ НАНОЧАСТИЦ

(31) 13305830.5; 61/837,406

(32) 2013.06.20

(33) EP; US

(43) 2016.06.30

(86) PCT/EP2014/062976

(87) WO 2014/202738 2014.12.24

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НАНОБИОТИКС (FR)

(72) Изобретатель:
Пуль Лоранс, Леви Лоран, Бержо
Селин, Жермэн Маттье, Поттье Аньес
(FR)

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

(56) ZHI-XIAO GUO ET AL.: "Generation of alginate gel particles with AuNPs layers by polydimethylsiloxan template", BIOMICROFLUIDICS, vol. 5, no. 2, 1 January 2011 (2011-01-01), page 026502, XP055083546, ISSN: 1932-1058, DOI: 10.1063/1.3602119 Abstract, page 026502-2

SACHIEKEGAMI ET AL.: "THE JOURNAL OF NUTRITION", CARBOHYDRATE AND FIBER EFFECT

OF VISCOUS INDIGESTIBLE POLYSACCHARIDES ON PANCREATIC-BILIARY SECRETION AND DIGESTIVE ORGANS IN RATS, vol. 120, 1 January 1990 (1990-01-01), pages 353-360, XP055083570, page 355, table 1.

MANSOR BIN AHMAD ET AL.: "Synthesis of Silver Nanoparticles in Chitosan, Gelatin and Chitosan/Gelatin Bionanocomposites by a Chemical Reducing Agent and Their Characterization", MOLECULES, vol. 16, no. 12, 25 August 2011 (2011-08-25), pages 7237-7248, XP055083626, DOI: 10.3390/molecules16097237 abstract, page 7244 par. 3.2.-page 7245, par. 3.4

LAURENCE MAGGIORELLA ET AL.: "Nanoscale radiotherapy with hafnium oxide nanoparticles", FUTURE ONCOLOGY, FUTURE MEDICINE LTD., LONDON, GB vol. 8, no. 9, 1 September 2012 (2012-09-01), pages 1167-1181, XP002698557, ISSN: 1479-6694, DOI: 10.2217/FON.12.96 Retrieved from the Internet: URL: <http://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/fon.12.96> the whole document

WITTEVEEN JOLANDA ET AL.: "Gelatin/glycerol coating to preserve mechanically compliant nanowire electrodes from damage during brain implantation", JOURNAL OF VACUUM SCIENCE AND TECHNOLOGY: PART B, AVS/AIP, MELVILLE, NEW YORK, NY, US, vol. 28, no. 6, 11 November 2010 (2010-11-11), pages C6K13-C6K16, XP012144368, ISSN: 1071-1023, DOI: 10.1116/1.3498764 Abstract, page C6K14 US-A-5370901

(57) Изобретение относится к способу лечения рака у субъекта, включающему этап обработки биологической ткани-мишени пациента биологически совместимым гелем, содержащим наночастицы и/или агрегаты наночастиц, где i) плотность каждой наночастицы и агрегата наночастиц составляет по меньшей мере 7 г/см³, наночастица или агрегат наночастиц содержит один металлический элемент или смесь металлических элементов, каждый металлический элемент имеет атомное число Z по меньшей мере 40, каждая из указанных наночастиц и из указанного агрегата наночастиц покрыта биологически совместимым покрытием; ii) концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц составляет по меньшей мере приблизительно 1% (мас./мас.); и iii) эффективная вязкость геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 2 с⁻¹ составляет от 5 и до 750 Па·с при измерении в интервале между 20 и 37°C, где наночастицы и/или агрегаты наночастиц указанного геля определяют границы биологической ткани-мишени, и этап облучения биологической ткани-мишени, у которой определены границы; а также раскрыты набор для применения в способе и применение указанного набора для получения биологически совместимого геля.

Область изобретения

Изобретение относится к наборам и способам для применения в контексте онкологии для оптимизации локального облучения ложа опухоли. Более конкретно изобретение относится к способу лечения рака у субъекта, включающему этап обработки биологической ткани-мишени пациента биологически совместимым гелем, содержащим наночастицы и/или агрегаты наночастиц, где i) плотность каждой наночастицы и агрегата наночастиц составляет по меньшей мере 7 г/см^3 , наночастица или агрегат наночастиц содержит один металлический элемент или смесь металлических элементов, каждый металлический элемент имеет атомное число Z по меньшей мере 40, каждая из указанных наночастиц и из указанного агрегата наночастиц покрыта биологически совместимым покрытием; ii) концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц составляет по меньшей мере приблизительно 1% (мас./мас.); и iii) эффективная вязкость геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 2 с^{-1} составляет от 5 и до 750 Па·с при измерении в интервале между 20 и 37°C , где наночастицы и/или агрегаты наночастиц указанного геля определяют границы биологической ткани-мишени и этап облучения биологической ткани-мишени, у которой определены границы.

Изобретение позволяет улучшить послеоперационное определение границ ложа опухоли, для того чтобы оптимизировать его облучение.

Предшествующий уровень техники

Местный контроль рецидивов или обострений злокачественных заболеваний представляет собой ключевой этап терапии злокачественных опухолей, следующий за этапами хирургии и лучевой терапии. Послеоперационную лучевую терапию применяют по некоторым показаниям для обработки ложа опухоли сразу после удаления опухоли, для того чтобы улучшить показатели местного контроля и, таким образом, уменьшить, а в идеале избежать рецидивов опухоли. Недавний метаанализ рабочей группы исследователей раннего рака молочной железы подчеркнул важность сокращения местных рецидивов рака молочной железы, поскольку можно избежать одной смерти от рака молочной железы на каждые четыре предотвращенных местных рецидива. Согласно авторам "Customized computed tomography-based boost volumes in breast-conserving therapy: use of three-dimensional histologic information for clinical target volume margins" [JROBP 75(3): 757-763 (2009)] одним из способов улучшения местного контроля является повышение дозы облучения, которой подвергается ложе опухоли (т.е. дополнительное облучение). Авторы добавляют, что это воздействие может быть дополнительно увеличено за счет улучшения определения границ ложа опухоли (т.е. объема мишени, на которую должно быть специфически нацелено дополнительное облучение).

Международная комиссия по радиологическим единицам и измерениям определяет макроскопический объем опухоли (GTV) как макроскопически очевидный объем и местоположение злокачественного роста. Для адьювантной лучевой терапии молочной железы (хирургический этап с последующим этапом лучевой терапии) GTV вырезают с различным запасом ткани, оставляя полость. Полость не является GTV, но относится к нему. Стенки полости называют, в общих чертах, ложем опухоли ["Target volume definition for external beam partial breast radiotherapy: clinical, pathological and technical studies informing current approaches" Radiotherapy and Oncology 94 255-263 (2010)].

В клинической практике точная идентификация ложа опухоли является сложной задачей, и часто сообщают о высоком уровне вариабельности при определении границ ложа различными исследователями, особенно в плохо визуализируемых полостях резекции ["Excised and Irradiated Volumes in Relation to the Tumor size in Breast-Conserving Therapy" Breast Cancer Res Treat 129:857-865 (2011)]. Облученный послеоперационный объем (с границами, которые были установлены при КТ-сканировании для планирования лучевой терапии перед началом лучевой терапии) у пациентов, которые проходят органосохраняющее лечение рака молочной железы, в большинстве случаев виден не четко, и часто используют оценку визуализации полости, для того чтобы оценить качество идентификации облученного послеоперационного объема.

Также для раков предстательной железы онкологическая группа лучевой терапии Европейской организации по исследованию и лечению рака (EORTC) разработала рекомендацию для определения объема мишени при послеоперационной лучевой терапии, представив методические указания по стандартизации определения объема мишени и определения границ, а также стандартизации клинических методик обеспечения качества; авторы "Guidelines for target volume definition in post-operative radiotherapy for prostate cancer, on behalf of the EORTC Radiation Oncology Group" [Radiotherapy & Oncology 84 121-127 (2007)], в частности, ссылаются на исследование, в котором наблюдали высокую вариабельность между наблюдателями при определении границ объема облучаемых тканей при послеоперационной лучевой терапии для рака предстательной железы, когда определение проводили пять (5) различных лучевых терапевтов для восьми (8) различных пациентов (CTV варьировал между терапевтами от 39 до 53 см^3 для пациента, соответствующего наименьшей вариабельности, и от 16 до 69 см^3 для пациента, соответствующего наибольшей вариабельности).

Исследование для оценки точности техники дополнительного облучения, описанное в "Improving definition of the tumor bed boost with the use of surgical clips and image registration in breast cancer patients" [Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. Vol 78(5); 1352-1355 (2010)], показывает, что применение рентгено-

контрастных клипсов во время удаления опухоли, как правило, применение 3 или более клипсов, повышает точность определения границ ложа опухоли (см. фиг. 1). Однако остаются вопросы относительно точности определения границ ложа опухоли на основе клипсов при помощи КТ. Клипсы только определяют точки, расположенные на стенках полости после удаления, таким образом, что граница раздела между оставшейся тканью опухоли и полостью после удаления должна быть получена путем интерполяции с учетом плотности ткани и искажения.

Примечательно, что отчет о величине волюметрических изменений ложа опухоли после удаления молочной железы продемонстрировал значительные изменения объема ложа опухоли до и во время лучевой терапии или радиотерапии (PT) ["The dynamic tumor bed: volumetric changes in the lumpectomy cavity during breast conserving therapy" Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. 74 (3):695-701 (2009)]. 36 пациентов были включены в исследование с опухолью *in situ*, Tis, (10), T1 (24) и T2 (2) раками молочной железы. 30 пациентов получали облучение всей молочной железы после лампэктомии с дополнительной дозой 10 Гр. Шесть (6) пациентов получали частичное облучение молочной железы. КТ-сканирование молочной железы для планирования лучевой терапии проводили сразу после операции, перед началом облучения всей молочной железы для планирования лечения и перед дополнительным облучением ложа опухоли. Пациентам, которым облучали только часть молочной железы, проводили сканирование только после операции и перед началом обработки ложа опухоли.

Во время интервала между послеоперационным сканированием и вторым сканированием (медиана интервала 3 недели) объем ложа опухоли уменьшился в среднем на 49,9%. Между сканированием для планирования основного облучения и сканированием для дополнительного облучения (медиана интервала 7 недель) объем ложа опухоли уменьшился в среднем на 44,6%.

Подгруппа из 8 пациентов, у которых была задержка (медиана интервала 23 недели) между операцией и лучевой терапией из-за плановой химиотерапии, имела уменьшение медианы объема ложа опухоли на 60,3% во время интервала между послеоперационным сканированием и плановым сканированием. Когда эту величину и данные скорости изменения оценивали в контексте всей выборки пациентов, наблюдаемые результаты свидетельствовали, что объем ложа опухоли уменьшался более быстро в течение недель сразу после операции, а затем достигал относительного плато.

Согласно авторам влияние большого изменения объема на планируемый объем, дозиметрию или клинические параметры, такие как местный контроль или косметический результат, является важной областью для будущих исследований, поскольку теоретически, если одно сканирование для планирования лучевой терапии применяют для планирования дополнительного облучения клинического объема мишени (CTV) у пациента с ложем опухоли, которое резко сокращается во время курса лучевой терапии, окружающие нормальные ткани получают ненужное дополнительное облучение, которое может дать худшие косметические результаты и отсроченные нежелательные воздействия. Напротив, если одно сканирование для планирования лучевой терапии проводят спустя долгое время после операции, уменьшенный объем ложа опухоли может фактически приводить к недооценке действительного ложа опухоли или области загрязнения опухоли при операции.

WO 2011/084465 относится к стабилизации и визуализации пропусков тканей, оставшихся после хирургического удаления раковых тканей. Согласно авторам изобретения подход конформного заполнения является значительным улучшением по сравнению с использованием клипсов, которые обеспечивают плохое разрешение границ участка. Описанные имплантаты можно создавать, чтобы они были стабильными в течение нужного периода времени, а затем биологически разлагались. Согласно WO 2011/084465 имплантация гидрогеля приводит к увеличению среднего объема полости. Таким образом, при использовании стандартных границ гидрогель имеет тенденцию к повышению доз облучения нормальной ткани. Необходимо, таким образом, уменьшить расширение границ, для того чтобы снизить дозы облучения нормальной ткани.

Как легко понять из вышесказанного, остается явная необходимость улучшения послеоперационного определения границ ложа опухоли для того, чтобы оптимизировать облучение исключительно только ложа опухоли.

Подробное описание

Авторы изобретения предлагают эффективный способ определения границ ткани-мишени, в частности определение границ ложа опухоли, без воздействия на изменения объема ткани-мишени, как правило, при рассмотрении ложа опухоли на изменения объема ложа опухоли или на ремоделинг ткани после лампэктомии. В контексте изобретения ложе опухоли представляет собой ткань, покрывающую полость, полученную после удаления опухоли.

Набор по изобретению дополнительно выгодно позволяет по меньшей мере на 10% повысить накопление поражающей (облучающей) дозы в ложе опухоли, т.е. без увеличения накопления поражающей дозы в окружающих здоровых тканях.

Первая цель изобретения относится к способу лечения рака у субъекта, включающему этап обработки биологической ткани-мишени пациента биологически совместимым гелем, содержащим наночастицы и/или агрегаты наночастиц, где i) плотность каждой наночастицы и агрегата наночастиц составляет по меньшей мере 7 г/см^3 , наночастица или агрегат наночастиц содержит один металлический элемент

или смесь металлических элементов, каждый металлический элемент имеет атомное число Z по меньшей мере 40, каждая из указанных наночастиц и из указанного агрегата наночастиц покрыта биологически совместимым покрытием; ii) концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц составляет по меньшей мере приблизительно 1% (мас./мас.); и iii) эффективная вязкость геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 2 с^{-1} составляет от 5 и до 750 Па·с при измерении в интервале между 20 и 37°C , где наночастицы и/или агрегаты наночастиц указанного геля определяют границы биологической ткани-мишени, и этап облучения биологической ткани-мишени, у которой определены границы.

Наночастицы и/или агрегаты наночастиц, как правило, погружены в гель по изобретению.

Набор, содержащий биологически совместимый гель, содержащий наночастицы и/или агрегаты наночастиц по изобретению, позволяет эффективно определить границы и визуализировать по меньшей мере 40%, предпочтительно по меньшей мере 50%, даже более предпочтительно более чем 50% биологической ткани-мишени, наблюдаемой с использованием оборудования для рентгенологического исследования.

Биологическая ткань-мишень представляет собой, как правило, ложе опухоли.

В предпочтительном варианте осуществления, когда гель наносят на биологическую ткань-мишень, наночастицы и/или агрегаты наночастиц биологически совместимого геля позволяют по меньшей мере приблизительно на 10% увеличить накопление дозы облучения в указанной биологической ткани-мишени, которая подвергается воздействию ионизирующего облучения, по сравнению с накоплением дозы в той же самой биологической ткани в отсутствие указанного геля.

Неорганическая наночастица.

В настоящем описании термины "наночастица(-ы)", "агрегат наночастиц(-ы)" и "частица(-ы)" используют без различия.

В контексте настоящего изобретения термины "наночастица" или "агрегат наночастиц" относятся к продукту, в частности к синтетическому продукту, с размером в нанометровом диапазоне, как правило, в пределах между 1 и 500 нм.

Размер наночастицы и ее структуру и композицию можно анализировать по рентгеновской дифрактограмме.

Термин "агрегат из наночастиц" или "агрегат наночастиц" относится к соединению из наночастиц, как правило, прочно ковалентно связанных одна с другой.

Термины "размер наночастицы" или "размер агрегата наночастиц" и "наибольший размер наночастицы" или "наибольший размер агрегата наночастиц" в настоящем документе относятся к "наибольшему измерению наночастицы", или "наибольшему измерению агрегата наночастиц", или "диаметру наночастицы", или "диаметру агрегата наночастиц".

Для измерения размера наночастицы или агрегата наночастиц можно использовать трансмиссионную электронную микроскопию (ТЕМ). Также можно использовать динамическое светорассеяние (DLS) для измерения гидродинамического диаметра наночастиц или агрегатов наночастиц в растворе. Эти два способа могут быть дополнительно использованы один после другого для сравнения измерения размеров и подтверждения указанного размера.

Наибольшее измерение наночастицы или агрегата наночастиц в настоящем документе определяют, как правило, приблизительно от 5 и приблизительно до 250 нм, предпочтительно приблизительно от 10 и приблизительно до 100 нм или приблизительно 200 нм, даже более предпочтительно приблизительно от 20 и приблизительно до 150 нм.

Поскольку форма частицы может влиять на ее "биосовместимость", наиболее предпочтительной является частица, имеющая почти однородную форму. По фармакокинетическим причинам, таким образом, являются предпочтительными наночастицы или агрегаты наночастиц, которые, по существу, имеют круглую, сферическую или овоидную форму. Такая форма также благоприятствует взаимодействию наночастицы или агрегата наночастиц с клетками или захвату их клетками. Особенно предпочтительной является сферическая или круглая форма.

Как правило, наибольшее измерение представляет собой диаметр наночастицы или агрегата наночастиц круглой или сферической формы или наибольшую длину наночастицы или агрегата наночастиц овоидной или овальной формы.

Неорганический материал, из которого получают наночастицу или агрегат наночастиц, как правило, содержит по меньшей мере один металлический элемент, как правило, металлический элемент с атомным числом Z по меньшей мере 25, предпочтительно по меньшей мере 40, даже более предпочтительно больше 40. Неорганический материал может также содержать несколько металлических элементов, как правило, два металлических элемента.

В конкретном варианте осуществления наночастица или агрегат наночастиц состоит из неорганического материала, указанный неорганический материал содержит один металлический элемент или смесь металлических элементов.

Неорганический материал предпочтительно представляет собой материал с эффективным атомным числом ($Z_{\text{эф}}$) по меньшей мере 25, предпочтительно по меньшей мере 40 или 41, более предпочтительно по меньшей мере 50 или 51, более предпочтительно по меньшей мере 60, 61, 62 или даже 63.

Эффективное атомное число представляет собой термин, который аналогичен атомному числу, но используется для соединений (например, воды) и смесей различных материалов (таких как ткань и кость), а не для атомов. Эффективное атомное число определяет среднее атомное число для соединения или смеси материалов. Сокращенно оно обозначается как Z_{eff} .

Эффективное атомное число рассчитывают на основе дробной доли каждого атома в соединении и умножения этой доли на атомное число атома. Формула для эффективного атомного числа, Z_{eff} , выглядит следующим образом:

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

где

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

Z_n представляет собой атомное число каждого элемента.

Атомное число (также известное как число протонов) представляет собой количество протонов, которые находятся в ядре атома. Оно традиционно обозначается символом Z (и в настоящем документе может также обозначаться как Z_n). Атомное число однозначно идентифицирует химический элемент. У атома с нейтральным зарядом атомное число равно числу электронов.

В качестве примера возьмем воду (H_2O), которая состоит из двух атомов водорода ($Z=1$) и одного атома кислорода ($Z=8$). Общее число электронов равно $1+1+8=10$. Доля электронов, соответствующая двум водородам, составляет $2/10$, и доля электронов, соответствующая одному кислороду, составляет $(8/10)$. Z_{eff} воды, таким образом, составляет

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

Z_{eff} вносит вклад в емкость поглощения входящего излучения для наночастиц.

Неорганический материал, составляющий наночастицу и/или агрегат наночастиц, как правило, выбран из металла, оксида, сульфида и любой их смеси. Как правило, этот неорганический материал содержит по меньшей мере один металлический элемент с атомным числом Z по меньшей мере 25, предпочтительно по меньшей мере 40, даже более предпочтительно больше 40.

В конкретном варианте осуществления наночастица или агрегат наночастиц состоит из неорганического материала, где плотность указанной наночастицы и агрегата наночастиц составляет по меньшей мере 7 г/см^3 .

Если неорганический материал, составляющий наночастицу и/или агрегат наночастиц, представляет собой оксид, этот оксид можно выбирать, например, из оксида церия (IV) (CeO_2), оксида неодима (III) (Nd_2O_3), оксида самария (III) (Sm_2O_3), оксида европия (III) (Eu_2O_3), оксида гадолиния (III) (Gd_2O_3), оксида тербия (III) (Tb_2O_3), оксида диспрозия (III) (Dy_2O_3), оксида гольмия (Ho_2O_3), оксида эрбия (Er_2O_3), оксида тулия (III) (Tm_2O_3), оксида иттербия (Yb_2O_3), оксида лютеция (Lu_2O_3), оксида гафния (IV) (HfO_2), оксида тантала (V) (Ta_2O_5), оксида рения (IV) (ReO_2), оксида висмута (III) (Bi_2O_3).

В конкретном варианте осуществления в качестве неорганического материала для получения наночастицы и/или агрегата наночастиц по изобретению также можно использовать смесь оксидов. Наночастица и/или агрегат наночастиц по изобретению могут, таким образом, включать или содержать смесь оксидов.

Если неорганический материал, составляющий наночастицу и/или агрегат наночастиц, представляет собой металл, этот металл можно выбирать, например, из металлического золота (Au), металлического серебра (Ag), металлической платины (Pt), металлического палладия (Pd), металлического олова (Sn), металлического тантала (Ta), металлического гафния (Hf), металлического тербия (Tb), металлического тулия (Tm), металлического диспрозия (Dy), металлического эрбия (Er), металлического гольмия (Ho), металлического железа (Fe), металлического неодима (Nd) и металлического лютеция (Lu). Как указано ранее, в конкретном варианте осуществления в качестве неорганического материала для получения наночастицы и/или агрегата наночастиц по изобретению также можно использовать смесь металлов.

Наночастица и/или агрегат наночастиц по изобретению могут, таким образом, включать или содержать смесь металлов.

Если неорганический материал, составляющий наночастицу и/или агрегат наночастиц, представляет собой сульфид, этот сульфид предпочтительно является сульфидом серебра (Ag_2S).

Для получения наночастиц и/или агрегатов наночастиц по изобретению также можно использовать смесь оксида, металла и/или сульфида. Наночастица и/или агрегат наночастиц по изобретению могут, таким образом, включать или содержать смесь оксида, металла и/или сульфида.

Примером наночастицы, которая может быть успешно использована в контексте настоящего изобретения, является наночастица из металлического золота, покрытая материалом из оксида гафния.

В предпочтительном варианте осуществления наночастица и/или агрегат наночастиц, применяемые в контексте настоящего изобретения, могут быть покрыты биологически совместимым материалом, выбранным из вещества, которое содержит стерическую группу. Такую группу можно выбирать, например, из полиэтиленгликоля (ПЭГ), полиэтиленоксида, поливинилового спирта, полиакрилата, полиакриламида (поли(N-изопропилакриламида)), поликарбамида, биополимера, полисахарида, такого как декстран,

ксилан и целлюлоза, коллагена и цвиттер-ионного соединения, такого как полисульфобетаин и т.д.

В другом предпочтительном варианте осуществления наночастица и/или агрегат наночастиц могут быть покрыты биологически совместимым материалом, выбранным из вещества, позволяющего взаимодействовать с биологической мишенью. Такое вещество, как правило, создает положительный или отрицательный заряд на поверхности наночастиц. Этот заряд можно определять путем измерений зета-потенциала, которые, как правило, проводят на суспензиях наночастиц и/или агрегатов наночастиц с концентрацией, варьирующей от 0,2 до 10 г/л; наночастицы и/или агрегаты наночастиц суспендированы в водной среде с pH в пределах от 6 до 8.

Вещество, формирующее положительный заряд на поверхности наночастицы, может быть, например, аминопропилтриэтоксисиланом или полилизинном. Вещество, формирующее отрицательный заряд на поверхности наночастицы, может быть, например, фосфатом (например, полифосфатом, метафосфатом, пирофосфатом и т.д.), карбоксилатом (например, цитратом или дикарбоновой кислотой, в частности, янтарной кислотой) или сульфатом.

Предпочтительно покрытие сохраняет целостность наночастицы и/или агрегата наночастиц *in vivo*, обеспечивает или улучшает их биосовместимость и облегчает их дополнительную функционализацию (например, с молекулами-спейсерами, биологически совместимыми полимерами, нацеливающими агентами, белками и т.д.). Кроме того, покрытие успешно используют в контексте настоящего изобретения для облегчения связывания частицы с биологической тканью-мишенью или клеткой-мишенью.

Конкретная наночастица и/или агрегат наночастиц по настоящему изобретению могут дополнительно содержать по меньшей мере один нацеливающий агент, позволяющий им взаимодействовать с распознающим элементом, присутствующим на клетке-мишени. Такой нацеливающий агент, как правило, действует, как только наночастицы и/или агрегаты наночастиц очертят границы участка-мишени. Нацеливающий агент может иметь любую биологическую или химическую структуру, демонстрирующую аффинность к молекулам, присутствующим в организме человека или животного. Например, он может быть пептидом, олигопептидом или полипептидом, белком, нуклеиновой кислотой (ДНК, РНК, миРНК, тРНК, и т.д.), гормоном, витамином, ферментом, лигандом молекулы, которая экспрессируется патологической клеткой, в частности лигандом опухолевого антигена, рецептора гормона, циткинового рецептора или рецептора фактора роста. Указанные нацеливающие агенты можно выбирать, например, в группе, состоящей из LHRH, EGF, фолата, антител к домену В фибронектина, Е-селектина/Р-селектина, антител к IL-2R α , GHRH, и т.д.

Биологически совместимый гель.

Природный полимерный гель в основном получают путем образования межмолекулярных связей как результата i) изменений температуры и pH и ii) присутствия ионов металлов. Таким образом, в процессе образования геля происходит обратимый переход раствор-гель.

С другой стороны, синтетические гели состоят из полимерных цепей, соединенных ковалентными связями или другими физическими связями. Эти структуры, как правило, приводят к необратимому образованию геля.

Свойства гелей зависят как от сетчатых структур, так и от растворителей. Гель набухает, когда он погружен в сильный растворитель. Гидрогели представляют собой гели, которые, как правило, набухают в водном окружении.

Предпочтительный биологически совместимый гель по изобретению представляет собой биологически совместимый гидрогель.

Полимеры, применяемые для медицинских целей, должны быть биологически совместимыми, т.е. при контакте с организмом, например с внутренними органами или с любыми другими биологическими системами, они не должны вызывать воспаление и/или нежелательные реакции.

Типичные полимеры, которые можно использовать для образования биологически совместимого геля, можно выбирать из полиэтиленimina (ПЭИ), полиэтиленгликоля (ПЭГ), полипропиленгликоля (ППГ), полисахарида, в том числе, например, из производных целлюлозы (например, метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы), производных гиалуроновой кислоты, хитозана, декстрана и т.п., производных полиакриламида, производных полимолочной кислоты (ПМК), производных полиакриловой кислоты (ПАК), производных сополимера молочной и гликолевой кислот (ПЛГК), поливинилового спирта (ПВС), поливинилпирролидона, производных полиалкилцианоакрилата, производных коллагена, полиглутаминовой кислоты (ПГК) и желатина. Биологически совместимый гель может также состоять из любой смеси полимеров, определенных в настоящем документе.

Предпочтительные полимеры, которые можно успешно применять для получения биологически совместимых гидрогелей, можно выбирать в семействе полисахаридов, которое включает i) производные целлюлозы, как правило, метилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, и ii) членов семейства гиалуроновой кислоты или их производных, которые, как правило, получают при введении функциональной группы в гиалуроновую кислоту. Это может быть достигнуто путем образования активного сложного эфира на карбоксилате глюкуроновой кислоты, которая является частью гиалуроновой кислоты, с последующим его замещением аминной или альдегидной

группой.

Для того чтобы регулировать вязкость геля, эти полисахариды могут быть перекрестно сшиты, как правило, с низко- или высокомолекулярными линкерами для перекрестной сшивки или могут самостоятельно образовывать перекрестные сшивки (с использованием физических способов, таких как нагревание или излучение, и в отсутствие любых чужеродных молекул).

Количество полимера, которое надо диспергировать в растворителе, для того чтобы сформировать биологически совместимый гель по изобретению, как правило, находится в пределах от 0,1 до 50% (мас./мас.), более предпочтительно в пределах от 0,5 до 40%, как правило, в пределах от 0,5 до 35%, или в пределах от 0,5 до 25% и даже более предпочтительно приблизительно 1%, приблизительно 2% или приблизительно 3% и приблизительно 15% или приблизительно 20% (мас./мас.).

Когда биологически совместимый гель представляет собой гидрогель, растворитель, как правило, является водной средой.

Эффективная вязкость биологически совместимого геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 2 с^{-1} для температуры в пределах от 20 до 37°C составляет приблизительно от 0,1 и приблизительно до 1000 Па·с, предпочтительно в пределах от 1 до 750 Па·с, как правило, в пределах от 5 до 500 Па·с или от 5 до 300 Па·с. Измерение вязкости, как правило, проводят при 20 и 37°C с использованием реометра Куэтта (MODEL RM200, LAMY Rheology) с заданным диапазоном скорости сдвига в интервале между 0,1 и 300 с^{-1} . Эффективную вязкость указывают при 2 с^{-1} .

Для каждого образца проводят измерение в объеме по меньшей мере 25 мл с подходящим шпинделем по рекомендациям для стандарта DIN ISO 3219.

Взаимодействие частица-гель.

В биологически совместимом геле, содержащем наночастицы и/или агрегаты наночастиц по изобретению, каждая наночастица или агрегат наночастиц содержит или включает в себя неорганический материал, как правило, неорганический материал, включающий по меньшей мере один металлический элемент с атомным числом Z по меньшей мере 25, предпочтительно по меньшей мере 40, и плотность каждой наночастицы и агрегата наночастиц составляет по меньшей мере 7 г/см^3 . Каждая наночастица или агрегат наночастиц предпочтительно покрыта биологически совместимым покрытием.

Концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц внутри геля составляет по меньшей мере приблизительно 1% (мас./мас.). В предпочтительном варианте осуществления концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц внутри геля составляет приблизительно от 1,5 до 50% (мас./мас.), предпочтительно в пределах от 1,5 до 25% (мас./мас.), даже более предпочтительно в пределах от 1,5 до 10% (мас./мас.) или от 1,5 до 5% (мас./мас.), как правило, в пределах от 2 до 4% (мас./мас.). Например, концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц внутри геля приблизительно равна 1,5, 2, 3,5, 4 или 5% (мас./мас.).

Отсутствие любого сильного взаимодействия (сильное взаимодействие является, как правило, ковалентным взаимодействием) между наночастицами и/или агрегатами наночастиц и полимером, который формирует биологически совместимый гель, является важной особенностью, которая обеспечивает то, что указанные наночастицы и/или агрегаты наночастиц действительно высвобождаются из геля, для того чтобы они правильно очертили границы ложа опухоли.

Отсутствие сильного взаимодействия между частицей и полимером, который формирует биологически совместимый гель, как правило, можно подтвердить измерением вязкости геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 20 и 37°C, как описано выше, и путем сравнения полученной кривой вязкости с кривой геля, не содержащего ни наночастиц, ни агрегатов наночастиц. Сходные кривые вязкости (т.е. значения отличаются одно от другого не более чем на 20%, как правило, не более чем на 15%) подтверждают отсутствие сильного взаимодействия между наночастицами и/или агрегатами наночастиц и гелем.

Отсутствие сильного взаимодействия между частицей и полимером, который формирует биологически совместимый гель, как правило, можно также подтвердить инфракрасной спектроскопией с преобразованием Фурье (FTIR), измеряя спектр пропускания (в зависимости от волнового числа) геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц и сравнивая полученный спектр со спектром геля, не содержащего ни наночастиц, ни агрегатов наночастиц, а также со спектром наночастиц или агрегатов наночастиц. Спектр пропускания геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, строго соответствует сложению спектра пропускания геля плюс спектр пропускания наночастиц или агрегатов наночастиц. Этот спектр пропускания не показывает никаких дополнительных полос. Это подтверждает отсутствие сильных взаимодействий между гелем по изобретению и наночастицами или агрегатами наночастиц (см. примеры 10 и 11 и фиг. 6).

Определение границ биологических тканей и ложа опухоли и визуализация.

Способы, которые классически используются для визуализации ложа опухоли и планирования лечения (т.е. планирования подходящей лучевой терапии) включают клинические способы, такие как i) разметка при пальпации и/или по операционному шраму; ii) разметка с учетом результатов дооперационных изображений (как правило, маммографических), клинической истории и/или протокола операции;

iii) разметка, включающая, как правило, получение изображений при радиографии, компьютерной томографии (КТ), позитронно-эмиссионной томографии (PET) или ядерно-магнитном резонансе (MRI), как известно специалистам.

Медицинские технологии получения изображений с использованием рентгеновского излучения, такие как КТ-сканирование, являются широко используемыми технологиями для определения планирования лечения ложа опухоли.

Визуализация при помощи компьютерной томографии (КТ) основана на различном поглощении излучения разными тканями, и обеспечивает визуализацию в поперечном сечении. Термин "томография" происходит от греческого термина "tomos", означающего "срез" или "сечение", и "graphie", означающего "рисование". Система КТ-визуализации создает изображения поперечного сечения костей и мягких тканей внутри организма. Изображения КТ можно комбинировать для создания 3D-изображений.

Наночастицы и/или агрегаты наночастиц, применяемые в контексте по настоящему изобретению, содержат или включают неорганический материал, который предпочтительно содержит по меньшей мере один металлический элемент с атомным числом по меньшей мере 25, предпочтительно по меньшей мере 40, даже более предпочтительно больше 40. Наночастицы по своей природе являются рентгеноконтрастными (т.е. они поглощают рентгеновские лучи), и их можно легко визуализировать, как правило, при радиографии или компьютерной томографии.

Под воздействием рентгеновских лучей, как правило, выпущенных КТ-сканнером, наночастицы и/или агрегаты наночастиц создают резкий контраст на КТ-изображениях из-за разности плотности электронов в биологических тканях-мишенях и частицах.

Число Хаунсфилда представляет собой нормализованное значение рассчитанного коэффициента рентгеновского поглощения пикселя (элемента изображения) на компьютерной томограмме. Это число выражают в единицах Хаунсфилда (HU). КТ-число для воздуха составляет -1000 ($HU = -1000$), а для воды - 0 ($HU = 0$). Для неорганических частиц с высоким Z_{eff} разделение между тканями и частицами происходит, как правило, при значениях HU приблизительно 150. Как правило, при значениях HU от 120 до 200 плотности мягких тканей больше не могут быть измерены.

Биологически совместимый гель, содержащий наночастицы и/или агрегаты наночастиц по изобретению, можно вводить индивидууму i) путем осаждения на интересующую биологическую ткань (ткани-мишени) или ii) путем заполнения полости, которая, как правило, остается после удаления опухоли, предпочтительно во время операции (удаления опухоли).

Наночастицы или агрегаты наночастицы высвобождаются из геля, а затем осаждаются на ткани-мишени, предпочтительно в ложе опухоли.

Предпочтительно наночастицы или агрегаты наночастиц осаждаются на ткани-мишени, как правило, в пределах от 24 ч до менее чем 1 месяца, предпочтительно в пределах от 24 ч до 3 недель, более предпочтительно в пределах от 24 ч до 2 недель, для того чтобы позволить идеально и постоянно определять границы ткани-мишени. Такое определение границ будет иметь особую важность, как правило, в контексте любого дальнейшего планирования лечения. В конкретном варианте осуществления высвобождение и осаждение наночастиц или агрегатов наночастиц на ткани-мишени изменяется в зависимости от вязкости геля (см. примеры 3, 4 и 7).

В конкретном варианте осуществления биологически совместимый гель по изобретению предназначен для использования для определения границ ткани-мишени.

Когда необходимо заполнить полость гелем по изобретению, гель может заполнять по меньшей мере 10% от объема полости, предпочтительно по меньшей мере 20% от объема полости, даже более предпочтительно более чем 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90% от объема полости. Такой гель может также заполнять 100% от объема полости.

При необходимости можно проводить повторные введения геля.

Определение границ ткани-мишени при помощи геля по настоящему изобретению, который содержит наночастицы и/или агрегаты наночастиц, может быть визуализировано с использованием, как правило, рентгеновского оборудования для диагностической визуализации и более предпочтительно компьютерного томографа. Термин "определение границ" означает что наночастицы или агрегаты и наночастицы i) покрывают по меньшей мере приблизительно 40%, предпочтительно по меньшей мере приблизительно 50% и даже более предпочтительно более чем приблизительно 50, 60, 70, 80, 90% или приблизительно 95% ткани-мишени; и предпочтительно ii) образуют на поверхности тканей-мишеней слой толщиной в пределах от 100 мкм до 0,5 см, например в пределах от 500 мкм до 0,5 см. Число Хаунсфилда (HU) в пределах слоя составляет по меньшей мере 120 HU. В идеале, наночастицы или агрегаты наночастиц покрывают 99% или даже 100% тканей-мишеней.

Также в настоящем документе описан способ определения границ ложа опухоли у индивидуума, такое определение границ позволяет проводить последующую визуализацию указанного ложа опухоли с использованием рентгеновского оборудования для визуализации, где указанный способ включает обработку ложа опухоли пациента биологически совместимым гелем, содержащим наночастицы или агрегаты наночастиц по изобретению (как описано в настоящем документе), как правило, путем осаждения геля в ложе опухоли, предпочтительно во время операции (удаления опухоли), для того, чтобы получить

определение границ ложа опухоли с отсрочкой в пределах от 24 ч и менее чем до 1 месяца, предпочтительно в пределах от 24 ч и до 3 недель, более предпочтительно в пределах от 24 ч и до 2 недель после осаднения. Определение границ ложа опухоли можно затем визуализировать с использованием рентгеновского оборудования для визуализации.

Изобретение можно использовать для определения границ любого ложа опухоли любого типа из злокачественных солидных опухолей, в частности эпителиального, нейроэктодермального или мезенхимального происхождения, а также лимфатических злокачественных опухолей при условии, что затронуты лимфатические узлы.

Биологически совместимый гель, который содержит наночастицы и/или агрегаты наночастиц, описанные в настоящем документе, предназначен, в частности, для применения в протоколе лечения злокачественных опухолей, в котором лучевая терапия является классическим адъювантным лечением или является наиболее подходящим адъювантным лечением для конкретного пациента или в котором лучевая терапия может быть назначена в качестве адъювантного лечения. Такую злокачественную опухоль можно выбирать, в частности, из группы, состоящей из рака кожи, включая злокачественные неоплазии, ассоциированные со СПИДом, меланомы, плоскоклеточной злокачественной опухоли, опухоли центральной нервной системы, в том числе головного мозга, мозжечка, гипофиза, спинного мозга, ствола мозга, глаза и глазницы, опухолей головы и шеи, опухолей легких, опухолей молочной железы, опухолей желудочно-кишечного тракта, таких как злокачественные опухоли печени и гепатобилиарного тракта, злокачественные опухоли толстой кишки, прямой кишки и заднего прохода, желудка, поджелудочной железы, раков пищевода, опухолей мужской мочеполовой системы, таких как злокачественные опухоли предстательной железы, яичка, полового члена и уретры, гинекологических опухолей, таких как злокачественные опухоли шейки матки, эндометрия, яичника, фаллопиевых труб, влагалища и вульвы, опухолей надпочечника и забрюшинных опухолей, сарком костной ткани и сарком мягких тканей вне зависимости от локализации, и опухолей детского возраста, таких как опухоль Вильма, нейробластома, опухоли центральной нервной системы саркома Юинга и т.д.

Биологические ткани и облучение ложа опухоли.

Биологически совместимый гель по изобретению можно использовать во многих областях, в частности в терапии человека или в ветеринарии. Биологически совместимый гель по изобретению, описанный в настоящем документе, предназначен предпочтительно для применения у млекопитающего, даже более предпочтительно у человека в качестве терапевтического средства в онкологии, в частности, когда наночастицы или агрегаты наночастиц подвергаются ионизирующему облучению. Ионизирующее облучение предпочтительно выбрано из рентгеновского облучения, гамма-лучей и электронного пучка.

В предпочтительном варианте осуществления, когда гель наносят на биологическую ткань-мишень, наночастицы и/или агрегаты наночастиц биологически совместимого геля позволяют по меньшей мере приблизительно на 10% увеличить накопление дозы излучения в указанной биологической ткани-мишени, когда она подвергается ионизирующим излучениям, по сравнению с накоплением дозы в той же самой биологической ткани в отсутствие указанного геля.

Как правило, настоящее изобретение относится к способу лечения, позволяющему улучшить накопление дозы облучения по меньшей мере на 10% в ткани-мишени пациента, предпочтительно в ложе опухоли пациента и включающему следующие этапы по порядку:

- i) обработку ложа опухоли пациента биологически совместимым гелем, содержащим наночастицы или агрегаты наночастиц по изобретению (как описано в настоящем документе), как правило, путем осаднения геля в ложе опухоли, предпочтительно во время операции (удаления опухоли), для того чтобы определить границы ложа опухоли, и
- ii) облучение указанных наночастиц или агрегатов наночастиц с использованием лучей ионизирующей радиации, и, таким образом, лечение пациента.

Как правило, пациент является пациентом со злокачественной опухолью.

Под воздействием ионизирующих излучений, в частности рентгеновских лучей, гамма-лучей, радиоактивных изотопов и/или пучков электронов, наночастицы и/или агрегаты наночастиц генерируют электроны и/или фотоны с высокой энергией. Эти электроны и/или фотоны с высокой энергией, испускаемые после ионизации, будут отвечать за прямое и/или опосредованное повреждение клеток с помощью генерации свободных радикалов и, в конечном счете, за разрушение клеток, приводя в результате к лучшему исходу для пациента.

Частицы могут подвергаться большому диапазону общей дозы излучения.

Количества и расписания (планирования и доставка излучения в однократной дозе или в контексте фракционного или гиперфракционного протокола и т.д.) определены для каждого заболевания/анатомической локализации/стадии заболевания/состояния пациента/возраста пациента (детский, взрослый, пожилой пациент) и являются стандартом лечения для любой конкретной ситуации.

Как указано ранее, подходящие излучения или источники излучения представляют собой предпочтительно ионизирующие излучения и могут быть предпочтительно выбраны из группы, состоящей из рентгеновских лучей, гамма-лучей, электронных пучков, ионных пучков и радиоактивных изотопов или излучений радиоактивных изотопов. Рентгеновские лучи и электронные пучки являются особенно пред-

почтительными источниками излучения.

Ионизирующие излучения, как правило, составляют приблизительно от 2 до приблизительно 25000 КэВ (или 25 МэВ), в частности приблизительно от 2 до приблизительно 6000 КэВ (т.е. 6 МэВ) (источник - линейный ускоритель) или приблизительно от 50 до приблизительно 25000 КэВ.

В основном и неограничивающим образом следующие рентгеновские лучи можно применять в различных случаях для возбуждения частиц:

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

рентгеновские лучи от 50 до 150 КэВ: для диагностики, а также для терапии;

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

рентгеновские лучи (мегавольтаж) от 1000 до 25000 КэВ. Радиоактивные изотопы можно альтернативно использовать в качестве источника ионизирующего излучения (называется радиевая терапия или брахитерапия). В частности, можно успешно использовать йод I^{125} ($t_{1/2}=60,1$ суток), палладий Pd^{103} ($t_{1/2}=17$ суток), цезий Cs^{137} и иридий Ir^{192} .

Также в качестве источника ионизирующего излучения можно использовать заряженные частицы, такие как протонные пучки, ионные пучки, такие как углерод, в частности ионные пучки с высокой энергией, и/или нейтронные пучки.

Электронные пучки также можно использовать в качестве источника ионизирующего излучения с энергией в диапазоне от 4 до 25 МэВ.

Специфический монохроматический источник излучения можно использовать для выборочной генерации рентгеновского излучения с энергией, близкой или соответствующей желаемой границе полосы поглощения рентгеновских лучей атомами ("металлический элемент"), составляющими неорганические наночастицы или агрегаты наночастиц.

Предпочтительным источником ионизирующих излучений является линейный ускоритель (LINAC).

Другая цель изобретения относится к набору, который включает биологически совместимый гель, содержащий наночастицы и/или агрегаты наночастиц по настоящему изобретению (как описано в настоящем документе), необязательно совместно с терапевтическим средством. В конкретном варианте осуществления набор содержит в отдельных контейнерах биологически совместимый гель, описанный в настоящем документе, и суспензию наночастиц или агрегатов наночастиц, описанных в настоящем документе (которые предназначены для контакта, как правило, смешивания или *in situ*, т.е. на участке-мишени, или *ex vivo* перед осаждением смеси на участке-мишени).

Таким образом, в настоящем документе дополнительно описан набор, который включает биологически совместимый гель, содержащий наночастицы и/или агрегаты наночастиц, описанные в настоящем документе, где биологически совместимый гель и наночастицы и/или агрегаты наночастиц находятся в отдельных контейнерах.

Последующие примеры иллюстрируют изобретение без ограничения его объема.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 - определение границ опухолевой ткани с использованием клипсов.

Из "Improving the definition of the tumor bed boost with the use of surgical clips and image registration in breast cancer patients" [Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. Vol 78(5); 1352-1355 (2010)]. Определение границ объема ложа опухоли: макроскопический объем опухоли (GTV) (красный); клипсы для клинического объема мишени (CTV)=все клипсы с 0,5-см границами; планируемый объем мишени (PTV) (зеленый)=GTV+клипсы CTV+0,5-см боковые и 1-см верхние-нижние границы.

Фиг. 2 - микроКТ-изображения (мкКТ), полученные через 2, 8 и через 20 суток после осаждения геля в полость, полученную после удаления опухоли, показывающие определение границ ложа опухоли с использованием биологически совместимого гидрогеля по изобретению, состоящего из метилцеллюлозы (5% мас./мас.) с биологически совместимыми наночастицами и/или агрегатами наночастиц (3,5% мас./мас.), состоящими из оксида гафния. Наночастицы и/или агрегаты наночастиц смешивают с гелем перед осаждением геля на ложе опухоли.

Фиг. 3. - КТ-изображения, полученные через 2, 9 и через 20 суток после осаждения геля в полость, полученную после удаления опухоли, показывающие определение границ ложа опухоли с использованием биологически совместимого гидрогеля по изобретению, состоящего из метилцеллюлозы (9% мас./мас.) с биологически совместимыми наночастицами и/или агрегатами наночастиц (3,5% мас./мас.), состоящими из оксида гафния. Наночастицы и/или агрегаты наночастиц смешивают с гелем перед осаждением геля на ложе опухоли.

Фиг. 4 - влияние концентрации частиц на накопление дозы излучения с использованием расчета методом Монте-Карло.

Фиг. 5 - измерение вязкости (А при 20°C и В при 37°C) геля, состоящего из гиалуроновой кислоты (3% мас./мас.) и геля, состоящего из гиалуроновой кислоты (3% мас./мас.), содержащей биологически совместимые наночастицы и/или агрегаты наночастиц (5% мас./мас.) из оксида гафния.

Фиг. 6 - инфракрасный Фурье-спектр геля, состоящего из гиалуроновой кислоты (0,1% мас./мас.),

содержащей биологически совместимые наночастицы и/или агрегаты наночастиц (0,26% мас./мас.) из оксида гафния. Сравнение со спектром геля, состоящего из гиалуроновой кислоты, а также со спектром наночастиц и/или агрегатов наночастиц из оксида гафния.

Фиг. 7 - КТ-изображения, полученные через 30 мин (D01), 1 сутки (D02), 3 суток (D04), 8 суток (D09) и 22 суток (D23) после осаждения геля в полость, полученную после удаления опухоли, показывающие определение границ ложа опухоли с использованием биологически совместимого гидрогеля по изобретению. Гель состоит из гиалуроновой кислоты (3,8% мас./мас.), гиалуроновой кислоты (2,5% мас./мас.) и гиалуроновой кислоты с самостоятельно образованными поперечными сшивками (3% мас./мас.), содержащей биологически совместимые наночастицы и/или агрегаты наночастиц (5% мас./мас.) из оксида гафния. Наночастицы и/или агрегаты наночастиц смешивают с гелем перед осаждением геля на ложе опухоли.

Примеры

Пример 1. Биологически совместимые наночастицы или агрегаты наночастиц из оксида гафния (HfO_2) с использованием гексаметафосфата натрия в качестве покрывающего средства.

Раствор тетраметилгидроксида аммония (ТМАОН) добавляют к раствору HfCl_4 . Добавление раствора ТМАОН проводят до тех пор, пока pH конечной суспензии не достигнет pH в диапазоне от 7 до 13. Получают белый осадок.

Осадок далее переносят в автоклав и нагревают при температуре в диапазоне от 120 до 300°C для проведения кристаллизации. После охлаждения суспензию промывают деионизованной водой.

Затем к промытой суспензии добавляют раствор гексаметафосфата натрия, и доводят pH до pH в диапазоне от 6 до 8.

Стерилизацию суспензии наночастиц или агрегатов наночастиц проводят перед экспериментами *in vitro* или *in vivo*.

Пример 2. Синтез и физико-химические характеристики наночастиц из золота с различными размерами.

Наночастицы из золота получают путем восстановления хлорида золота с цитратом натрия в водном растворе. Был применен протокол из G. Frens Nature Physical Science 241 (1973) 21.

В типичном эксперименте раствор HAuCl_4 нагревают до кипения. Затем добавляют раствор цитрата натрия. Полученный раствор выдерживают при кипении в течение дополнительного периода в 5 мин.

Размер наночастиц корректируют в диапазоне от 15 до 105 нм путем тщательного подбора соотношения цитрат/предшественник с золотом (см. табл. 1).

Только что приготовленные суспензии наночастиц из золота затем концентрируют при помощи устройства для ультрафильтрации с целлюлозной мембраной 30 кДа.

Полученные суспензии, в конечном счете, фильтруют через мембранный фильтр с порогом 0,22 мкм в ламинарном вытяжном шкафу и хранят при 4°C.

Размер частиц определяют на более чем 200 частицах с использованием трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) и принимая во внимание наибольшее измерение наночастицы для каждой частицы.

Таблица 1

Образцы	Размер частиц (нм)	Синтез	
		Цитрат	HAuCl_4
Золото-15	15±2 (1σ)	20 мл 30 мл	500 мл 0,25 mM
Золото -30	32±10 (1σ)	7,5 мл 40 mM	500 мл 0,25 mM
Золото -60	60±10 (1σ)	2 мл 85 mM	500 мл 0,25 mM
Золото -80	80±10 (1σ)	1,2 мл 43 mM	200 мл 0,30 mM
Золото -105	105±25 (1σ)	1,2 мл 39 mM	200 мл 0,33 mM

Пример 3. Введение биологически совместимых наночастиц и/или агрегатов наночастиц из оксида гафния (3,5% мас./мас.) в гель (5% мас./мас. метилцеллюлозы) перед осаждением геля на ложе опухоли.

Объем водной суспензии биологически совместимых наночастиц HfO_2 из примера 1 добавляют к объему геля, как правило, с концентрацией полимера (метилцеллюлозы) в диапазоне от 4,5 до 5,5% мас./мас. Соотношение объемов между суспензией наночастиц HfO_2 и гелем корректируют до конечной концентрации наночастиц HfO_2 в геле 3,5% (мас./мас.). Получаемый таким образом препарат смешивают, как правило, при помощи магнитной мешалки или шпателя.

Пример 4. Введение биологически совместимых наночастиц и/или агрегатов наночастиц оксида гафния (3,5% мас./мас.) в гель (9% мас./мас. метилцеллюлозы) перед осаждением геля на ложе опухоли.

Объем водной суспензии биологически совместимых наночастиц HfO_2 из примера 1 добавляют к объему геля, как правило, с концентрацией полимера (метилцеллюлозы) в диапазоне от 8,5 до 9,5% мас./мас. Соотношение объемов между суспензией наночастиц HfO_2 и гелем корректируют до конечной концентрации наночастиц HfO_2 в геле 3,5% (мас./мас.).

Пример 5. Оценка качества определения границ "ложа опухоли", полученного при использовании

наночастиц, погруженных в гидрогель из примера 3, при помощи компьютерной микротомографии (мкКТ).

Задачей этого эксперимента была оценка качества определения границ "ложа опухоли" при помощи наночастиц (НЧ) путем мкКТ (компьютерной томографии).

Экспериментальный гель из примера 3 имплантировали (осаждали) в полость, оставшуюся от удаления ксенотрансплантированной опухоли НСТ 116 (злокачественные клетки колоректальной карциномы человека) у безтимусных мышей.

Анализ при помощи мкКТ проводили через 2, 8 и 20 суток после имплантации геля в полость, оставшуюся после удаления опухоли, для того чтобы оценить объем, заполненный наночастицами и/или агрегатами наночастиц в ложе опухоли с течением времени. Для этого вокруг хирургической полости проводили сегментацию вручную (области, представляющие интерес (ROI)). Затем задавали пороговое значение выше 120 HU внутри хирургической полости, для того чтобы оценить наличие наночастиц или агрегатов наночастиц и оценить расположение и объем, занятый этими наночастицами или агрегатами наночастиц, для всех мышей. Фиг. 2 представляет мкКТ-изображения, показывающие приблизительно более чем на 80% определение границ полости не позже 2 суток после операции и имплантации геля.

Пример 6. Оценка качества определения границ "ложа опухоли", полученного при использовании наночастиц, погруженных в гидрогель из примера 4, при помощи компьютерной томографии (КТ).

Задачей этого эксперимента была оценка качества определения границ "ложа опухоли" при помощи наночастиц (НЧ) путем КТ (компьютерной томографии).

Экспериментальный гель из примера 4 имплантировали (осаждали) в полость, оставшуюся от удаления ксенотрансплантированной опухоли НСТ 116 (злокачественные клетки колоректальной карциномы человека) у безтимусных мышей.

Анализ при помощи КТ проводили через 2, 9 и 20 суток после имплантации геля в полость, оставшуюся после удаления опухоли, для того чтобы оценить объем, заполненный наночастицами и/или агрегатами наночастиц в ложе опухоли с течением времени. Для этого вокруг хирургической полости проводили сегментацию вручную (области, представляющие интерес (ROI)). Затем задавали пороговое значение выше 120 HU внутри хирургической полости, для того чтобы оценить наличие наночастиц или агрегатов наночастиц и оценить расположение и объем, занятый этими наночастицами или агрегатами наночастиц, для всех мышей. Фиг. 3 представляет КТ-изображения, показывающие приблизительно более чем на 80% определение границ полости не позже 9 суток после операции и имплантации геля.

Следует отметить, что гели, содержащие наночастицы или агрегаты наночастиц и приготовленные согласно протоколам, приведенным в примерах 3 и 4, имели значения вязкости при 2 с^{-1} , которые были равны соответственно 190 и 720 Па·с при 37°C . После высвобождения из гелей осаждение наночастиц и/или агрегатов наночастиц на ложе опухоли, как правило, происходит в пределах 2 и 9 суток соответственно (см. фиг. 2 и 3).

Пример 7. Расчет увеличения накопления дозы излучения, когда наночастицы и/или агрегаты наночастиц присутствуют в ложе опухоли, по оценке средней концентрации наночастиц или агрегатов наночастиц в ложе опухоли.

Табл. 2 представляет рассчитанные концентрации любых наночастиц или агрегатов наночастиц, упомянутых в п.1 формулы изобретения, когда частицы определяют границы ложа опухоли. Начальные концентрации наночастиц или агрегатов наночастиц внутри геля были выбраны 1 и 3,5% (мас./мас.). Объем ложа опухоли рассчитывали с учетом различных диаметров ложа опухоли, указанные диаметры находились в пределах от 1 до 9 см, одновременно учитывая диаметр удаленной опухоли, а также макроскопические границы. Толщину слоя, образованного осаждением наночастиц в ложе опухоли, оценили как равную соответственно 0,1, 0,5, 1 и 2 мм. Рассчитанные наночастицы или концентрации наночастиц в этих слоях (концентрация наночастиц в крае - см. табл. 2) выше 100 г/л подчеркнуты жирным шрифтом.

На фиг. 4 представлено влияние концентрации частиц на повышение дозы излучения с использованием расчетов Монте-Карло.

Повышение дозы излучения проводили с использованием расчета "глобальной модели" и фотонного луча 6 МэВ как для опухоли с глубокой анатомической локализацией (с наночастицами из оксида гафния, упомянутыми в п.1 формулы изобретения и называемыми в настоящем документе "наночастицы NBTXR3"), так и для нормальных тканей (без наночастиц). Для расчетов использовали Z_{global} .

При расчете глобальной модели повышение дозы излучения (которое определяют как накопление дозы в опухоли с наночастицами с высоким Z , деленное на накопление дозы в опухоли без наночастиц) является результатом накопления энергии, когда среднее значение Z (Z_{global}) принимают равным

$$Z_{\text{global}} = (100 - x) // Z_{\text{вода}} + x // Z_{\text{наночастицы}},$$

где x представляет собой концентрацию наночастиц в опухоли (массу наночастиц, деленную на массу опухоли), $Z_{\text{вода}}$ представляет собой эффективное атомное число воды, и $Z_{\text{наночастицы}}$ представляет собой эффективное атомное число наночастиц (т.е. наночастиц из оксида гафния). При расчетах считают, что опухоль имеет эффективное атомное число, равное эффективному атомному числу воды. Наночастицы увеличивают среднюю эффективность поглощения рентгеновских лучей изотропным образом.

Результаты на фиг. 4 показывают, что получено 10%-ное повышение накопления дозы излучения

для концентрации наночастиц в опухоли, равной или выше 10% (мас.%).

На основании результатов на фиг. 4 из "nanoscale Radiotherapy with Hafnium Oxide Nanoparticles" [[Future Oncology 8(9),1167-1181 (2012)] и согласно табл. 2А и 2В наблюдали по меньшей мере 10%-ное накопление дозы излучения после определения границ ложа опухоли при помощи наночастиц и/или агрегатов наночастиц и последующего облучения указанных наночастиц и/или агрегатов наночастиц, когда использовали биологически совместимый гель по изобретению, т.е. биологически совместимый гель, содержащий наночастицы и/или агрегаты наночастиц, где i) плотность каждой наночастицы и агрегата наночастиц составляет по меньшей мере 7 г/см^3 , наночастица или агрегат наночастиц содержит неорганический материал, содержащий по меньшей мере один металлический элемент с атомным числом Z по меньшей мере 25, предпочтительно по меньшей мере 40, каждая из указанных наночастиц и из указанного агрегата наночастиц покрыта биологически совместимым покрытием; ii) концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц составляет по меньшей мере приблизительно 1% (мас./мас.); и iii) эффективная вязкость геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 2 с^{-1} составляет приблизительно от 0,1 и до приблизительно 1000 Па·с при измерении в диапазоне от 20 до 37°C .

Таблица 2А

Концентрация наночастиц в крае исходя из начальной концентрации наночастиц в геле 10 г/л

Диаметр опухоли и границы (т.е. иссечение опухоли, включающее, как правило, макроскопическую границы в диапазоне от 0,5 до 2 см (м))	Радиус ложа опухоли (м)	Объем ложа опухоли (м ³)	Концентрация наночастиц в геле (г/м ³)	Количество наночастиц в ложе опухоли (г)	Определение границ по наночастицам после осаждения на ложе опухоли: Расчет объема края (м ³)			
					Край = 0,1 мм	Край = 0,5 мм	Край = 1 мм	Край = 2 мм
0,010	0,005	5,24E-07	10000	0,0052	3,08E-08	1,42E-07	2,56E-07	4,11E-07
0,020	0,010	4,19E-06	10000	0,0419	1,24E-07	5,98E-07	1,14E-06	2,04E-06
0,030	0,015	1,41E-05	10000	0,1414	2,81E-07	1,37E-06	2,64E-06	4,94E-06
0,040	0,020	3,35E-05	10000	0,3351	5,00E-07	2,45E-06	4,78E-06	9,08E-06
0,050	0,025	6,55E-05	10000	0,6546	7,82E-07	3,85E-06	7,54E-06	1,45E-05
0,060	0,030	1,13E-04	10000	1,1311	1,13E-06	5,56E-06	1,09E-05	2,11E-05
0,070	0,035	1,80E-04	10000	1,7962	1,54E-06	7,59E-06	1,50E-05	2,91E-05
0,080	0,040	2,68E-04	10000	2,6812	2,01E-06	9,93E-06	1,96E-05	3,82E-05
0,090	0,045	3,82E-04	10000	3,8175	2,54E-06	1,26E-05	2,49E-05	4,87E-05

Концентрация наночастиц в крае (г/л)			
Край = 0,1 мм	Край = 0,5 мм	Край = 1 мм	Край = 2 мм
170	37	20	13
337	70	37	20
503	103	53	29
670	137	70	37
837	170	87	45
1003	203	103	53
1170	237	120	62
1337	270	137	70
1503	303	153	78

Таблица 2В

Концентрация наночастиц в крае исходя из начальной концентрации наночастиц в геле 35 г/л

Диаметр опухоли и границы (т.е. иссечение опухоли, как правило, макроскопическую границы в диапазоне от 0,5 до 2 см (м))	Радиус ложа опухоли (м)	Объем ложа опухоли (м³)	Концентрация наночастиц в геле (г/м³)	Количество наночастиц в ложе опухоли (г)	Определение границ по наночастицам после осаждения на ложе опухоли: Расчет объема края (м³)			
					Край = 0,1 мм	Край = 0,5 мм	Край = 1 мм	Край = 2 мм
0,01	0,005	5,24E-07	35000	0,0183	3,08E-08	1,42E-07	2,56E-07	4,11E-07
0,02	0,010	4,19E-06	35000	0,1466	1,24E-07	5,98E-07	1,14E-06	2,04E-06
0,03	0,015	1,41E-05	35000	0,4949	2,81E-07	1,37E-06	2,64E-06	4,94E-06
0,04	0,020	3,35E-05	35000	1,1730	5,00E-07	2,45E-06	4,78E-06	9,08E-06
0,05	0,025	6,55E-05	35000	2,2910	7,82E-07	3,85E-06	7,54E-06	1,45E-05
0,06	0,030	1,13E-04	35000	3,9589	1,13E-06	5,56E-06	1,09E-05	2,11E-05
0,07	0,035	1,80E-04	35000	6,2866	1,54E-06	7,59E-06	1,50E-05	2,91E-05
0,08	0,040	2,68E-04	35000	9,3841	2,01E-06	9,93E-06	1,96E-05	3,82E-05
0,09	0,045	3,82E-04	35000	13,3614	2,54E-06	1,26E-05	2,49E-05	4,87E-05

Концентрация наночастиц в крае (г/л)			
Край = 0,1 мм	Край = 0,5 мм	Край = 1 мм	Край = 2 мм
595	129	72	45
1178	245	129	72
1762	362	187	100
2345	479	245	129
2928	595	304	158
3512	712	362	187
4095	828	420	216
4678	945	479	245
5262	1062	537	275

Пример 8. Включение биологически совместимых наночастиц оксида гафния и/или агрегатов наночастиц (5% мас./мас.) в гель с гиалуроновой кислотой (3% мас./мас.).

Объем водной суспензии биологически совместимых наночастиц HfO_2 из примера 1 добавляют к объему геля, как правило, с концентрацией полимера (гиалуроновой кислоты) в диапазоне от 4,5 до 4% (мас./мас.). Соотношение объемов между суспензией наночастиц HfO_2 и гелем корректируют до достижения конечной концентрации наночастиц HfO_2 в геле 5% (мас./мас.). Получаемый таким образом препарат смешивают, как правило, при помощи магнитной мешалки или шпателя.

Пример 9. Измерение вязкости геля, состоящего из гиалуроновой кислоты (3% мас./мас.) и геля из примера 8, состоящего из гиалуроновой кислоты (3% мас./мас.) и содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц (5% мас./мас.), состоящие из оксида гафния.

Измерение вязкости проводят, как правило, при 20 и 37°C при помощи реометра Куэтта и согласно рекомендациям по стандарту DIN ISO 3219 (MODEL RM200, LAMY Rheology) с заданным диапазоном скорости сдвига, лежащим между 0,1 и 20 с^{-1} . Эффективную вязкость указывают при 2 с^{-1} . Отсутствие сильного взаимодействия между частицей и полимером, который формирует биологически совместимый гель, как правило, можно подтвердить измерением вязкости геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 20 и 37°C, как описано выше, и путем сравнения полученной кривой вязкости с кривой геля, не содержащего ни наночастиц, ни агрегатов наночастиц. Эффективная вязкость при 2 с^{-1} для обоих гелей выше чем 150 Па·с при 20°C и выше чем 100 Па·с при 37°C. Наблюдаемые сходные кривые вязкости (т.е. значения отличаются одно от другого не более чем на 20%, как правило, не более чем на 15%) подтверждают отсутствие сильного взаимодействия между наночастицами и/или агрегатами наночастиц и гелем (см. фиг. 5А и 5В).

Пример 10. Включение биологически совместимых наночастиц оксида гафния и/или агрегатов наночастиц (0,26% мас./мас.) в гель с гиалуроновой кислотой (0,1% мас./мас.).

Объем водной суспензии биологически совместимых наночастиц HfO_2 из примера 1 добавляют к объему геля, как правило, с концентрацией полимера (гиалуроновой кислоты) в диапазоне от 0,05 до 0,25% мас./мас. Соотношение объемов между суспензией наночастиц HfO_2 и гелем корректируют до достижения конечной концентрации наночастиц HfO_2 в геле 0,26% (мас./мас.). Получаемый таким образом препарат смешивают, как правило, при помощи магнитной мешалки или шпателя.

Пример 11. Спектр FTIR (инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье) геля из примера 10 и сравнение с гелем, состоящим из гиалуроновой кислоты, а также с наночастицами и/или агрегатами наночастиц.

Полосы, наблюдаемые в геле, окружающем биологически совместимые наночастицы и/или агрегаты наночастиц из оксида гафния, соответствуют полосам, характерным для геля, состоящего из гиалуроновой кислоты, и полосам наночастиц и/или агрегатов наночастиц, состоящим из оксида гафния. Никакие полосы, характерные для одного или другого компонента, не отсутствовали, и не появилось новых полос. FTIR-спектр не показал признаков, выявляющих взаимодействие между наночастицами и/или агрегатами наночастиц и гелем (см. фиг. 6 и табл. 3 и 4 ниже).

Таблица 3

Распределение полос FTIR для гиалуроновой кислоты (из Pasqui D. et al. Polysaccharide-based hydrogels: the key role of water in affecting mechanical properties. Polymers, vol 4, p. 1517-1534, 2012)

Гиалуроновая кислота	
Длина волны (см ⁻¹)	Распределение
3310	молекулы воды - OH
2930	-C-C-C-H растягивающее колебание
2875	-C-C-C-H растягивающее колебание
1640	амид -C=O растягивающее колебание
1610	карбоксилат асимметричное растягивающее колебание
1560	амид N-H деформационное колебание
1410	карбоксилат асимметричное растягивающее колебание
1375	C-SH и O-SH растягивающее колебание
1281	-C-O растягивающее колебание
1146	C-S C-O растягивающее колебание
1046	C-O-C деформационное колебание

Таблица 4

Распределение полос FTIR для оксида гафния (из Ramadoss A. et al. Synthesis and characterization of HfO₂ nanoparticles by sonochemical approach. Journal of Alloys and Compounds, vol 544, p. 115-119, 2012)

HfO ₂	
Длина волны (см ⁻¹)	Распределение
3417	растягивающее колебание O-H
1628	деформационное колебание H-O-H
1011	покрытие
755	m-HfO ₂
675	m-HfO ₂
523	m-HfO ₂
419	m-HfO ₂

Пример 12. Включение биологически совместимых наночастиц оксида гафния и/или агрегатов наночастиц (5% мас./мас.) в гель с гиалуроновой кислотой (3,8% мас./мас.) перед осаждением геля на ложе опухоли.

Объем водной суспензии биологически совместимых наночастиц HfO₂ из примера 1 добавляют к объему геля, как правило, с концентрацией полимера (гиалуроновой кислоты) в диапазоне от 3,3 до 4,3% мас./мас. Соотношение объемов между суспензией наночастиц HfO₂ и гелем корректируют до достижения конечной концентрации наночастиц HfO₂ в геле 5% (мас./мас.).

Пример 13. Включение биологически совместимых наночастиц оксида гафния и/или агрегатов наночастиц (5% мас./мас.) в гель с гиалуроновой кислотой (2,5% мас./мас.) перед осаждением геля на ложе опухоли.

Объем водной суспензии биологически совместимых наночастиц HfO₂ из примера 1 добавляют к объему геля, как правило, с концентрацией полимера (гиалуроновой кислоты) в диапазоне от 2 до 3% мас./мас. Соотношение объемов между суспензией наночастиц HfO₂ и гелем корректируют до достижения конечной концентрации наночастиц HfO₂ в геле 5% (мас./мас.).

Пример 14. Включение биологически совместимых наночастиц оксида гафния и/или агрегатов наночастиц (5% мас./мас.) в гель (гиалуроновая кислота с самообразованными перекрестными сшивками, 3% мас./мас.) перед осаждением геля на ложе опухоли.

Объем водной суспензии биологически совместимых наночастиц HfO₂ из примера 1 добавляют к объему геля, как правило, с концентрацией полимера (гиалуроновой кислоты с самообразованными перекрестными сшивками), в диапазоне от 2,5 до 3,5% мас./мас. Соотношение объемов между суспензией наночастиц HfO₂ и гелем корректируют до достижения конечной концентрации наночастиц HfO₂ в геле

5% (мас./мас.).

Пример 15. Оценка качества определения границ "ложа опухоли", полученных при использовании наночастиц, погруженных в гидрогели из примеров 12, 13 и 14, при помощи компьютерной томографии (КТ).

Задачей этого эксперимента была оценка качества определения границ "ложа опухоли" при помощи наночастиц (НЧ) путем КТ (компьютерной томографии).

Экспериментальные гели из примера 12 (фиг. 7, верхняя панель), примера 13 (фиг. 7, средняя панель) и примера 14 (фиг. 7, нижняя панель) были имплантированы (осаждены) в полость, оставшуюся от удаления ЕМТ-6 ортотопической пересаженной опухоли (злокачественные клетки карциномы молочной железы мышей) у мышей BALB/cJRj. Анализ при помощи КТ проводили через 30 мин, 1 сутки, 8 суток и 22 суток после имплантации геля в полость, оставшуюся после удаления опухоли, для того чтобы оценить объем, заполненный наночастицами и/или агрегатами наночастиц в ложе опухоли с течением времени. Для этого вокруг хирургической полости проводили сегментацию вручную (области, представляющие интерес (ROI)). Затем задавали пороговое значение выше 120 HU внутри хирургической полости, для того чтобы оценить наличие наночастиц или агрегатов наночастиц и оценить расположение и объем, занятый этими наночастицами или агрегатами наночастиц, для всех мышей. Фиг. 7 представляет КТ-изображения, показывающие приблизительно более чем на 80% определение границ полости не позже 3 суток после операции и имплантации геля.

После высвобождения из гелей осаждение наночастиц и/или агрегатов наночастиц на ложе опухоли, как правило, происходит в пределах 3 суток (см. фиг. 7).

Ссылки.

Customized Computed Tomography-Based Boost Volumes in Breast-Conserving Therapy: Use of Three-Dimensional Histologic Information for Clinical Target Volume Margins. *IJROB* 75(3) 757-763 (2009).

Target volume definition for external beam partial breast radiotherapy: clinical, pathological and technical studies informing current approaches. *Radiotherapy and Oncology* 94 255-263 (2010).

Excised and Irradiated Volumes in Relation to the Tumor size in Breast-Conserving Therapy. *Breast Cancer Res Treat* 129:857-865 (2011).

Guidelines for target volume definition in post-operative radiotherapy for prostate cancer, on behalf of the EORTC Radiation Oncology Group. *Radiotherapy & Oncology* 84 121-127 (2007).

Improving the definition of the tumor bed boost with the use of surgical clips and image registration in breast cancer patients. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* Vol 78(5); 1352-1355 (2010).

The dynamic tumor bed: volumetric changes in the lumpectomy cavity during breast conserving therapy. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 74 (3):695-701 (2009).

Nanoscale Radiotherapy with Hafnium Oxide Nanoparticles. *Future Oncology* 8(9):1167-1181 (2012).

Polysaccharide-based hydrogels: the key role of water in affecting mechanical properties. *Polymers*. 4: 1517-1534, 2(2012).

Ramadoss A. et al. Synthesis and characterization of HfO_2 nanoparticles by sonochemical approach. *Journal of Alloys and Compounds*. 544:115-119 (2012).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у субъекта, включающий

этап обработки биологической ткани-мишени пациента биологически совместимым гелем, содержащим наночастицы и/или агрегаты наночастиц, где i) плотность каждой наночастицы и агрегата наночастиц составляет по меньшей мере 7 г/см^3 , наночастица или агрегат наночастиц содержит один металлический элемент или смесь металлических элементов, каждый металлический элемент имеет атомное число Z по меньшей мере 40, каждая из указанных наночастиц и из указанного агрегата наночастиц покрыта биологически совместимым покрытием; ii) концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц составляет по меньшей мере приблизительно 1% (мас./мас.); и iii) эффективная вязкость геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 2 с^{-1} составляет от 5 и до 750 Па·с при измерении в интервале между 20 и 37°C , где наночастицы и/или агрегаты наночастиц указанного геля определяют границы биологической ткани-мишени;

и этап облучения биологической ткани-мишени, у которой определены границы.

2. Способ по п.1, где концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц составляет от приблизительно 1,5 до приблизительно 10% (мас./мас.).

3. Способ по п.1 или 2, где наночастица или агрегат наночастиц состоит из металла, оксида металла, сульфида металла или любой их смеси.

4. Способ по любому из пп.1-3, где наночастица или агрегат наночастиц дополнительно содержит по меньшей мере один нацеливающий агент.

5. Способ по любому из пп.1-4, где гель является гидрогелем.

6. Способ по любому из пп.1-5, где, когда гель наносят на биологическую ткань-мишень, наночастицы и/или агрегаты наночастиц биологически совместимого геля позволяют увеличить по меньшей

мере приблизительно на 10% накопление дозы излучения в указанной биологической ткани-мишени при воздействии ионизирующего излучения по сравнению с накоплением дозы в той же самой биологической ткани в отсутствие указанного геля.

7. Способ по п.6, где применяемая доза ионизирующего излучения находится в диапазоне от 2 КэВ до 25 МэВ.

8. Способ по п.7, где ионизирующее излучение выбрано из рентгеновских лучей, гамма-лучей и электронного пучка.

9. Способ по любому из пп.6-8, где гель позволяет определять границы и визуализировать по меньшей мере 40% биологической ткани-мишени.

10. Способ по любому из пп.1-9, где биологическая ткань представляет собой ложе опухоли.

11. Способ по п.10, где ложе опухоли представляет собой ткань, покрывающую полость, которая получена после удаления опухоли.

12. Набор для применения в способе по любому из пп.1-11, содержащий:

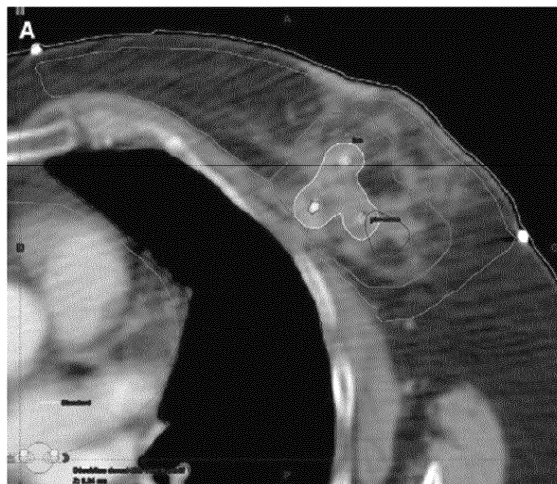
а) биологически совместимый гель и

б) наночастицы и/или агрегаты наночастиц, где плотность каждой наночастицы и агрегата наночастиц составляет по меньшей мере 7 г/см^3 , наночастица или агрегат наночастиц содержит один металлический элемент или смесь металлических элементов, каждый металлический элемент имеет атомное число Z по меньшей мере 40, каждая из указанных наночастиц и из указанного агрегата наночастиц покрыта биологически совместимым покрытием;

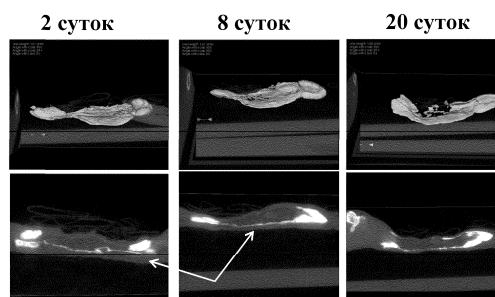
где биологически совместимый гель и наночастицы и/или агрегаты наночастиц набора находятся в отдельных контейнерах, и

где после получения биологически совместимого геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, концентрация наночастиц и/или агрегатов наночастиц составляет по меньшей мере приблизительно 1% (мас./мас.); и эффективная вязкость геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц, при 2 с^{-1} составляет от 5 и до 750 Па·с при измерении в интервале между 20 и 37°C.

13. Применение набора по п.12 для получения биологически совместимого геля, содержащего наночастицы и/или агрегаты наночастиц.

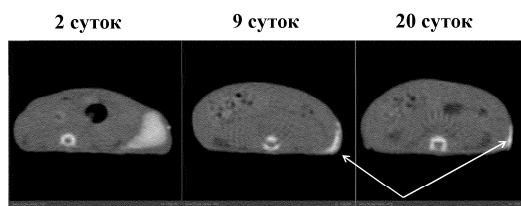


Фиг. 1



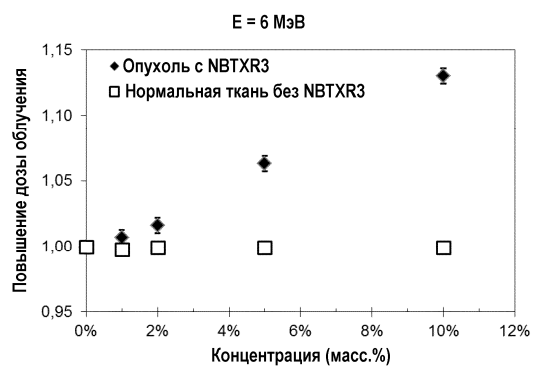
Наночастицы (белым) определяют границы ложа опухоли

Фиг. 2



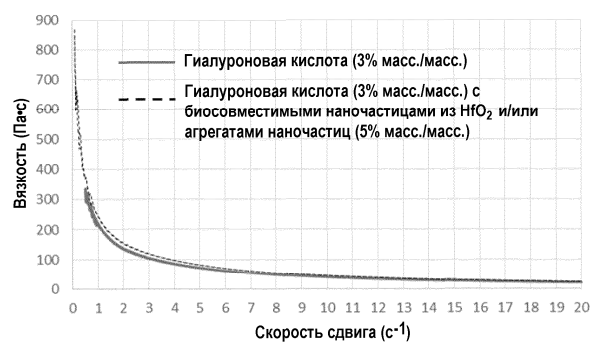
Наночастицы (белым) определяют границы ложа опухоли

Фиг. 3

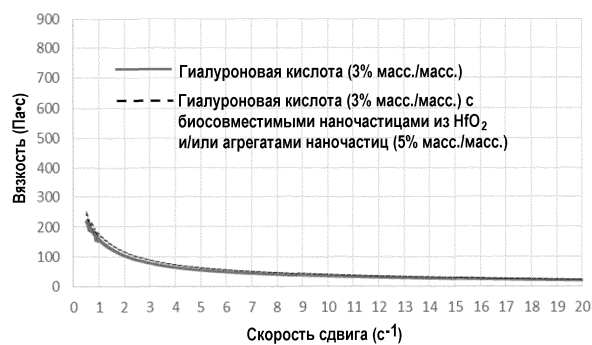


Фиг. 4

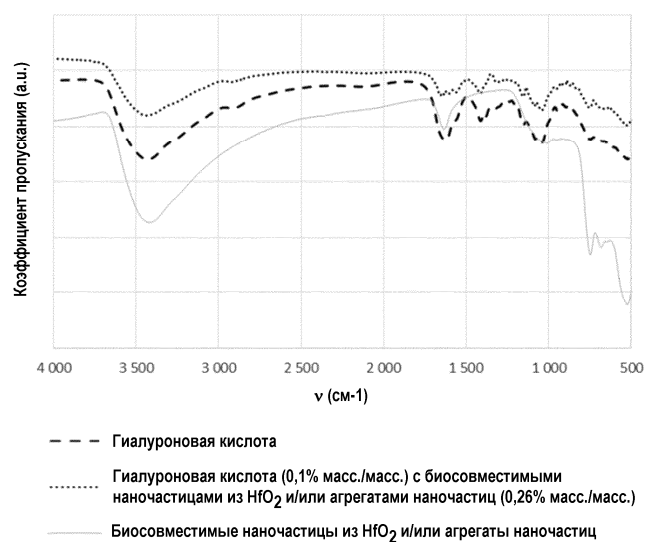
А



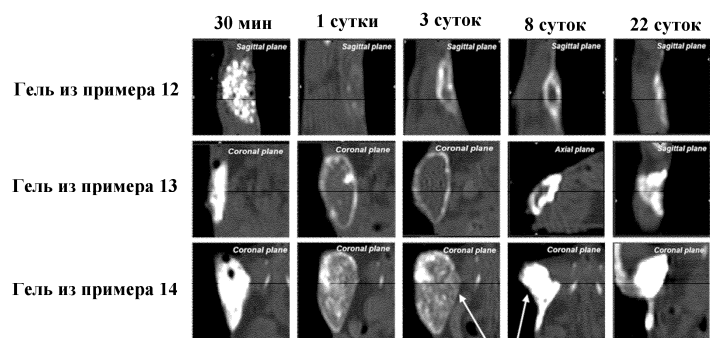
В



Фиг. 5



Фиг. 6



Наночастицы (белым) определяют границы ложа опухоли

Фиг. 7



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2