

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 588**

51 Int. Cl.:
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 33/22 (2006.01)
A61K 41/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07795351 .1**
96 Fecha de presentación: **25.05.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2026765**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.02.2009**

54 Título: **TECNOLOGÍAS HIPERTÉRMICAS Y USOS TERAPÉUTICOS DE LAS MISMAS.**

30 Prioridad:
25.05.2006 US 808399 P
26.10.2006 US 854500 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
06.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
06.02.2012

73 Titular/es:
Wake Forest University Health Sciences
391 Technology Way, Suite 199
Winston-Salem NC 27101, US;
Wake Forest University y
RENSSLAER POLYTECHNIC INSTITUTE

72 Inventor/es:
TORTI, Suzy;
TORTI, Frank;
CARROLL, David, Loren;
AKMAN, Steven;
NALAMASU, Omkaram y
AJAYAN, Pulickel

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 373 588 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tecnologías hipertérmicas y usos terapéuticos de las mismas

CAMPO DE LA INVENCIÓN¶

5 La presente invención se refiere a realizaciones de tecnologías hipertérmicas, incluyendo nanoestructuras y microestructuras y usos terapéuticos para las mismas en campos médicos incluyendo formación de imágenes y tratamiento de enfermedad.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

10 Los nanotubos de carbono, en general, son cilindros de grafito cerrados en cada extremo con tapas que contienen seis anillos pentagonales. Los nanotubos de carbono se pueden ilustrar conceptualmente dividiendo un fullereno (C₆₀) por la mitad y poniendo un cilindro de grafeno entre las dos mitades. Dividir el fullereno paralelo a uno de los ejes ternarios da como resultado una construcción de nanotubos en zig-zag mientras que dividir el fullereno a lo largo de uno de los ejes quaternarios produce una construcción de nanotubos en silla. Además de geometrías de red variables, los nanotubos de carbono demuestran diferentes macroestructuras expresadas como nanotubos de pared única y nanotubos de paredes múltiples.

15 Desde su descubrimiento en 1.991, los nanotubos de carbono han encontrado aplicación en una amplia variedad de campos debido a sus distintas y ventajosas propiedades electrónicas y mecánicas. Un campo en el que los nanotubos están encontrando aplicabilidad continuada es el de los biomateriales. Los nanotubos de carbono se han usado para detección electroquímica de especies biológicas, andamiaje de tejidos y suministro molecular. Los nanotubos de carbono de pared única han demostrado transportar diversas cargas a través de las membranas celulares sin citotoxicidad, proporcionando de ese modo vías adicionales para el suministro de fármacos en aplicaciones de tratamiento de enfermedades.

20 Existen muchas enfermedades que requieren rigurosas estrategias y procedimientos de tratamiento. Una de esas enfermedades es el cáncer. A pesar de considerables esfuerzos en investigación, el cáncer sigue siendo una de las causas principales de muerte en los Estados Unidos. Los tratamientos para el cáncer son invasivos y generalmente incluyen cirugía para retirar tejido canceroso seguido por radiación y/o quimioterapia. Los tratamientos contra el cáncer con frecuencia producen efectos secundarios perjudiciales tales como la destrucción indiferenciada de células enfermas y sanas, fatiga, náuseas y vómitos.

25 A la vista de estos efectos secundarios perjudiciales, sería deseable proporcionar estrategias de tratamiento menos invasivas, alternativas, para el cáncer y otras enfermedades. Adicionalmente, sería deseable proporcionar composiciones de nanopartículas de carbono operables para uso en tales estrategias. 'Nanotechnology used to kill tumour cells', Clare Sansom, <http://oncology.thelancet.com>, Vol. 6, septiembre de 2.005, describe la introducción de nanotubos de carbono de pared única en células cancerígenas y la provocación de la muerte de las células con radiación IR cercana. La patente internacional WO 2005/097672 describe nanotubos de carbono ferromagnéticamente rellenos con hierro, cobalto, níquel y platino para fines de diagnóstico y terapéuticos.

30 La patente de EE.UU. 2008/051290 describe un método para suministrar un agente radioterapéutico a un objetivo que comprende administrar una composición que comprende nanotubos solubles en agua. La patente de Corea KR 2004/0065100 describe el implante de hierro en nanotubos de carbono.

35 La patente internacional WO 03/084869 describe un procedimiento para separar una mezcla de nanotubos de carbono de pared única. 'Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-Infrared agents for selective cancer cell destruction' Kam et al, PNAS, 16 de agosto de 2.005, Vol. 102, Nº 33, describen usar los CNT (por sus siglas en inglés) de pared única para provocar la muerte de células cancerosas cuando los CNT se interiorizan selectivamente en células cancerígenas y se irradian después con radiación NIR. 'Substituted Carborane-Appended Water-Soluble Single-Wall Carbon Nanotubes: New Approach to Boron Neutron Capture Therapy Drug Delivery', Zhu et al, J. AM. CHEM. SOC, 2.005, 127, 9.875-9.880 describen el uso de nanotubos de carbono de pared única como agentes de suministro de boro para BNCT.

RESUMEN

40 La presente invención es según se reivindica y proporciona nuevas composiciones a nanoescala y microescala multifuncionales. Las composiciones, entre otros usos, se pueden usar ventajosamente para realizar una o más de las siguientes funciones en un método terapéutico: fijar como objetivo células seleccionadas, formar imágenes de las células y/o inducir hipertermia en células seleccionadas.

La presente invención también proporciona sistemas y métodos que incorporan composiciones de nanopartículas de carbono descritas en la presente memoria para el tratamiento de enfermedades incluyendo, pero no limitándose, al cáncer.

Estas y otras realizaciones de la presente invención se describen con mayor detalle en la descripción detallada de la

invención a continuación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 ilustra ramificación de nanotubos de carbono según realizaciones de la presente invención.

La Figura 2 ilustra un microtubo de carbono según una realización de la presente invención.

5 La Figura 3 ilustra un microtubo de carbono según una realización de la presente invención.

La Figura 4 ilustra funcionalización de la superficie de un nanotubo de carbono según una realización de la presente invención.

La Figura 5 ilustra nanotubos de carbono dispuestos en un substrato esférico según una realización de la presente invención.

10 La Figura 6 ilustra la síntesis de nanotubos de carbono según una realización de la presente invención.

La Figura 7 ilustra propiedades de transferencia de calor de nanotubos de carbono según realizaciones de la presente invención.

La Figura 8 ilustra el umbral de destrucción de nanotubos de carbono según realizaciones de la presente invención.

La Figura 9 ilustra arquitecturas de nanotubos de carbono ramificadas según realizaciones de la presente invención.

15 La Figura 10 muestra una imagen de microscopía de transmisión de electrones de nanotubos de carbono según una realización de la presente invención.

La Figura 11 muestra una imagen de microscopía de transmisión de electrones de un nanotubo de carbono según una realización de la presente invención.

20 La Figura 12 ilustra la muerte celular inducida en microtubos de carbono según una realización de la presente invención.

La Figura 13 ilustra microtubos de carbono producidos según una realización de la presente invención.

La Figura 14 ilustra la distribución de la longitud del microtubo de carbono según una realización de la presente invención.

La Figura 15 ilustra nanotubos de carbono producidos según una realización de la presente invención.

25 La Figura 16 ilustra la distribución de la longitud de los nanotubos de carbono según una realización de la presente invención.

La Figura 17 ilustra la viabilidad celular como una función de mezcla con microtubos de carbono según una realización de la presente invención.

30 La Figura 18 ilustra el calentamiento de nanotubos de carbono de un entorno circundante según una realización de la presente invención.

La Figura 19 ilustra la viabilidad celular como una función de la concentración de los microtubos de carbono cuando se exponen a radiación infrarroja cercana (NIR, por sus siglas in inglés) según una realización de la presente invención.

35 La Figura 20 ilustra el aumento de temperatura en un entorno circundante como una función de la concentración de los microtubos de carbono según una realización de la presente invención.

La Figura 21 ilustra la viabilidad celular como una función de la concentración de nanotubos de carbono cuando se exponen a radiación infrarroja cercana (NIR) según una realización de la presente invención.

La Figura 22 ilustra el aumento de la temperatura en un entorno circundante como una función de la concentración de nanotubos de carbono según una realización de la presente invención.

40 La Figura 23 ilustra la regresión de un tumor tratado con una composición de nanotubos de paredes múltiples según una realización de la presente invención.

La Figura 24 es una imagen de MIR pesada T₂ de un ratón que soporta un tumor inyectado con una composición según una realización de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

- Para los fines de esta memoria descriptiva, a menos que se indique de otro modo, se tiene que entender que todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, etc., usados en la memoria descriptiva que se modifican en todos los casos por la terminología “aproximadamente”. De acuerdo con esto, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos explicados en la siguiente memoria descriptiva son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se busca obtener por la presente invención. Como poco, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes a cualesquiera reivindicaciones que podían presentarse en las aplicaciones que reivindican prioridad para esta solicitud, cada parámetro numérico se debería interpretar al menos a la luz del número de dígitos significativos indicados y aplicando técnicas de redondeo ordinarias.
- A pesar de que los intervalos numéricos y los parámetros que explican el amplio alcance de la invención son aproximaciones, los valores numéricos explicados en los ejemplos específicos son indicados con tanta precisión como es posible. Cualquier valor numérico, sin embargo, contiene inherentemente ciertos errores que resultan necesariamente de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de ensayo. Por otra parte, se debe entender que todos los intervalos descritos en la presente memoria incluyen cualquier subintervalo y todos los subintervalos incluidos en la presente memoria. Por ejemplo, un intervalo indicado de “1 a 10” debería considerarse que incluye cualquier subintervalo y todos los subintervalos entre (e inclusive) el valor mínimo de 1 y el valor máximo de 10; es decir, todos los subintervalos que empiezan con un valor mínimo de 1 o más, por ejemplo, 1 a 6,1 y que terminan con un valor máximo de 10 o menos, por ejemplo, 5,5 a 10.
- También se indica que, como se usa en esta memoria descriptiva, las formas singulares “un”, “una” y “el”, “la” incluyen referentes plurales a menos que se limite expresamente e inequívocamente a una referencia.
- Además, cuando la expresión “hasta” se usa junto con una cantidad de un componente, material o composición en las reivindicaciones, se tiene que entender que el componente, material o composición está presente en al menos una cantidad detectable (por ejemplo, se puede determinar su presencia) y puede estar presente hasta e incluir la cantidad especificada.
- La presente invención proporciona composiciones a nanoescala y microescala útiles para una variedad de fines, incluyendo el diagnóstico y tratamiento de enfermedades. En una realización, la presente invención proporciona composiciones de nanopartículas de carbono, incluyendo nanotubos de carbono, así como métodos para fabricar y usar los mismos. En otra realización, la presente invención proporciona una composición de micropartículas de carbono, incluyendo microtubos de carbono y métodos para fabricar y usar los mismos. La presente invención proporciona adicionalmente sistemas y métodos que incorporan composiciones de nanopartículas de carbono y micropartículas de carbono descritas en la presente memoria para el tratamiento de enfermedades.
- En un aspecto, la presente invención proporciona una composición de nanopartículas que comprende un nanotubo de carbono que comprende hierro, en el que el nanotubo de carbono presenta un diámetro que oscila de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 100 nm. En algunas realizaciones, un nanotubo de carbono puede presentar un diámetro que oscila de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 30 nm. En otras realizaciones, un nanotubo de carbono puede presentar un diámetro que oscila desde mayor que 50 nm a aproximadamente 100 nm. En otra realización, un nanotubo de carbono puede presentar un diámetro que oscila desde aproximadamente 70 nm a aproximadamente 100 nm.
- Los nanotubos de carbono que comprenden hierro, en algunas realizaciones, pueden presentar longitudes que oscilen desde aproximadamente 500 nm a aproximadamente 1.500 nm. En otras realizaciones, los nanotubos de carbono que comprenden hierro pueden presentar longitudes que oscilan desde aproximadamente 800 nm a aproximadamente 1.200 nm.
- Los nanotubos de carbono que comprenden hierro, según algunas realizaciones, comprenden al menos 0,1 por ciento, en peso de hierro. En otras realizaciones, los nanotubos de carbono que comprenden hierro pueden comprender más de aproximadamente 2 por ciento, en peso de hierro. En una realización más, un nanotubo de carbono comprende un contenido en hierro que oscila de aproximadamente 0,1 por ciento, en peso a aproximadamente 2 por ciento, en peso.
- En algunas realizaciones, los nanotubos de carbono que comprenden hierro pueden comprender nanotubos de pared única. En otras realizaciones, los nanotubos de carbono que comprenden hierro pueden comprender nanotubos de pared múltiple. Los nanotubos de carbono que comprenden hierro, en una realización más, pueden comprender nanotubos ramificados. Los nanotubos ramificados, según realizaciones de la presente invención, comprenden nanotubos de carbono de pared única y de paredes múltiples con ramificaciones múltiples, ramificaciones múltiples con ramificaciones múltiples, ramificaciones Y, ramificaciones Y con ramificaciones múltiples y ramificaciones Y multiniveles. La Figura 1 ilustra arquitecturas de ramificación de nanotubos de carbono según realizaciones de la presente invención.
- En algunas realizaciones de nanotubos de carbono que comprenden hierro, el hierro puede comprender una o más partículas en una cavidad formada por el nanotubo. En una realización, una partícula de hierro puede disponerse en

la cavidad central de un nanotubo de carbono. Una pluralidad de partículas de hierro, según algunas realizaciones, se puede disponer en la cavidad central de un nanotubo de carbono a intervalos regulares, tales como intervalos de 100 nm. En otras realizaciones, las partículas de hierro se pueden disponer entre las paredes de un nanotubo de carbono de paredes múltiples o por todas las ramificaciones de un nanotubo de carbono ramificado.

- 5 Alternativamente, en otra realización, se puede disponer una partícula de hierro sobre una superficie externa de un nanotubo de carbono. En una realización más, se puede incorporar una o más partículas de hierro a la red de un nanotubo de carbono.

Las partículas de hierro, según realizaciones de la presente invención, pueden oscilar desde un único átomo de hierro a una agrupación que comprende una pluralidad de átomos de hierro. En algunas realizaciones, las agrupaciones de hierro pueden presentar diámetros que oscilan de aproximadamente 2 nm a aproximadamente 50 nm.

Por otra parte, en una realización, los nanotubos de carbono con cualquiera de las construcciones proporcionadas en la presente memoria no comprenden sustancialmente hierro. En otra realización, los nanotubos de carbono no comprenden hierro.

- 15 En otra realización, un nanotubo de carbono puede comprender al menos un agente de contraste de resonancia magnética. En algunas realizaciones, al menos el agente de contraste de resonancia magnética es un agente de contraste positivo (T1). Un agente de contraste positivo, en algunas realizaciones, comprende especies químicas que comprenden gadolinio, tal como cloruro de gadolinio ($GdCl_3$). En una realización, al menos el agente de contraste de resonancia magnética se dispone dentro del nanotubo. En otra realización, al menos el agente de
- 20 contraste de resonancia magnética se dispone sobre una superficie del nanotubo de carbono.

Los nanotubos de carbono, según algunas realizaciones, se pueden dopar con boro nitrógeno o combinaciones de los mismos. En una realización, los nanotubos de carbono dopados pueden comprender boro en una cantidad que oscila desde aproximadamente 0,01 por ciento en peso a aproximadamente 10 por ciento en peso. En otra realización, los nanotubos de carbono dopados pueden comprender aproximadamente 5 por ciento en peso de boro.

25 En otras realizaciones, los nanotubos de carbono dopados pueden comprender nitrógeno en una cantidad que oscila desde aproximadamente 0,01 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso o desde aproximadamente 5 por ciento en peso a aproximadamente 25 por ciento en peso. En otra realización, los nanotubos de carbono dopados pueden comprender nitrógeno en una cantidad mayor que aproximadamente 30 por ciento en peso. En otra realización, los nanotubos de carbono dopados pueden comprender desde aproximadamente 10 por

30 ciento en peso de nitrógeno a aproximadamente 20 por ciento en peso de nitrógeno. En una realización más, los nanotubos de carbono dopados pueden comprender menos de aproximadamente 1 por ciento en peso de nitrógeno. En algunas realizaciones, los nanotubos de carbono dopados pueden comprender entre aproximadamente 5 por ciento en peso y aproximadamente 10 por ciento en peso de boro y/o nitrógeno.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones de micropartículas. En una realización, una composición de micropartículas comprende una micropartícula o una pluralidad de micropartículas de carbono. Las micropartículas de carbono, según algunas realizaciones de la presente invención, comprenden microtubos de carbono. Los microtubos de carbono, en algunas realizaciones, comprenden hierro. En algunas realizaciones, los microtubos de carbono se dopan con nitrógeno y/o boro. Los microtubos de carbono pueden comprender microtubos de carbono de pared única, microtubos de carbono de paredes múltiples o mezclas de los mismos.

40 Los microtubos de carbono, según algunas realizaciones de la presente invención, presentan longitudes mayores que 1 μm . En una realización, un microtubo de carbono presenta una longitud que oscila de 1 μm a aproximadamente 100 μm , de aproximadamente 5 μm a aproximadamente 90 μm , de aproximadamente 10 μm a aproximadamente 75 μm o de aproximadamente 20 μm a aproximadamente 60 μm . En otra realización, un microtubo de carbono presenta una longitud que oscila de 1 μm a aproximadamente 15 μm o de aproximadamente 5

45 μm a aproximadamente 10 μm . En una realización más, un microtubo de carbono presenta una longitud mayor que aproximadamente 100 μm .

Un microtubo de carbono, en algunas realizaciones, presenta un diámetro que oscila desde aproximadamente 5 nm a aproximadamente 150 nm. En otra realización, un microtubo de carbono presenta un diámetro que oscila desde aproximadamente 10 nm a aproximadamente 100 nm, de aproximadamente 20 nm a aproximadamente 80 nm o de

50 aproximadamente 40 nm a aproximadamente 70 nm. En una realización más, un microtubo de carbono presenta un diámetro mayor que aproximadamente 150 nm.

Un microtubo de carbono, según algunas realizaciones, está doblado, curvado y/o plegado. Un microtubo de carbono doblado, curvado y/o plegado, en algunas realizaciones, presenta un radio de giro que oscila de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 100 μm , de aproximadamente 5 μm a aproximadamente 80 μm , de

55 aproximadamente 10 μm a aproximadamente 70 μm , de aproximadamente 20 μm a aproximadamente 60 o de aproximadamente 30 μm a aproximadamente 50 μm . En otra realización, un microtubo de carbono doblado, curvado y/o plegado presenta un radio de giro mayor que aproximadamente 10 μm . En algunas realizaciones, un microtubo doblado, curvado y/o plegado presenta una forma sustancialmente esférica.

Un microtubo de carbono doblado, curvado y/o plegado, según algunas realizaciones de la presente invención, comprende además un componente polimérico o tensioactivo. El componente polimérico o tensioactivo, en algunas realizaciones, puede ayudar a mantener la estructura doblada, curvada y/o plegada del microtubo de carbono. En algunas realizaciones, un componente polimérico comprende un material polimérico o una pluralidad de materiales poliméricos incluyendo, pero no limitándose a, alginato, poli(metacrilato de metilo), poli(D,L-lactida-co-glicolida) (PLGA), colágeno o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el material polimérico está reticulado proporcionando de ese modo estabilidad mejorada a la estructura doblada, curvada y/o plegada de la micropartícula de carbono. En otras realizaciones, un componente tensioactivo comprende uno o una pluralidad de tensioactivos. Los tensioactivos, según realizaciones de la presente invención, comprenden tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos, tensioactivos no iónicos o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, los lípidos y/u otras biomoléculas pueden ayudar a mantener la estructura doblada, curvada y/o plegada del microtubo de carbono.

Los microtubos de carbono doblados, curvados y/o plegados, en algunas realizaciones, se producen sometiendo a ultrasonidos los microtubos de carbono en una disolución que comprende el componente polimérico o tensioactivo. Dependiendo del grado de doblado, curvado y/o plegado deseado, los microtubos de carbono, en algunas realizaciones, son sometidos a ultrasonidos en una disolución que comprende el componente polimérico o tensioactivo desde aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 72 horas. En una realización, los microtubos de carbono son sometidos a ultrasonidos en una disolución que comprende el componente polimérico o tensioactivo durante aproximadamente 24 horas.

La Figura 2 es un esquema de un microtubo de carbono doblado, curvado y/o plegado según una realización de la presente invención. El microtubo (200) de carbono doblado, curvado y/o plegado está afieltrado con un componente (202) polimérico o tensioactivo. El componente (202) polimérico o tensioactivo puede ayudar a mantener la arquitectura doblada, curvada y/o plegada del microtubo (200). El microtubo (200) puede demostrar adicionalmente un radio de giro (204) que oscila de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 100 μm .

La Figura 3 es una imagen TEM de microtubos curvados según una realización de la presente invención. Los microtubos de la Figura 3 fueron producidos por deposición química de vapor (CVD, por sus siglas en inglés), como se proporciona en la presente memoria, dispuestos en un disolvente de cloroformo y fueron sometidos a ultrasonidos durante aproximadamente 20 minutos con un baño de bocina de ultrasonidos a alta potencia en presencia de tensioactivos o polímeros.

En algunas realizaciones, los microtubos de carbono comprenden hierro. En una realización, un microtubo de carbono comprende al menos 0,1 por ciento en peso de hierro. En otra realización, un microtubo de carbono comprende más de aproximadamente 2 por ciento en peso de hierro. En una realización más, un microtubo de carbono comprende un contenido en hierro que oscila de aproximadamente 0,1 por ciento en peso a aproximadamente 2 por ciento en peso.

En algunas realizaciones de microtubos de carbono que comprenden hierro, el hierro puede comprender una o más partículas dispuestas en una cavidad formada por el microtubo. En una realización, una partícula de hierro puede estar dispuesta en la cavidad central de un microtubo de carbono. Una pluralidad de partículas de hierro, según algunas realizaciones, puede estar dispuesta en la cavidad central de un microtubo de carbono a intervalos regulares, tales como intervalos de 100 nm. En otras realizaciones, las partículas de hierro pueden estar dispuestas en las paredes de un microtubo de carbono.

Alternativamente, en otra realización, una partícula de hierro puede estar dispuesta sobre una superficie externa de un microtubo de carbono. En una realización más, se puede incorporar una o más partículas de hierro a la red de un microtubo de carbono.

Las partículas de hierro, según realizaciones de la presente invención, pueden oscilar desde un único átomo de hierro a una agrupación que comprende una pluralidad de átomos de hierro. En algunas realizaciones, las agrupaciones de hierro pueden presentar diámetros que oscilan desde aproximadamente 2 nm a aproximadamente 50 nm.

En otra realización, un microtubo de carbono puede comprender al menos un agente de contraste de resonancia magnética. En algunas realizaciones, al menos un agente de contraste de resonancia magnética es un agente de contraste positivo (T1). Un agente de contraste positivo, en algunas realizaciones, comprende especies químicas que comprenden gadolinio, tal como cloruro de gadolinio (GdCl_3). En una realización, al menos un agente de contraste de resonancia magnética está dispuesto dentro del microtubo de carbono. En otra realización, al menos un agente de contraste de resonancia magnética está dispuesto sobre una superficie del microtubo de carbono.

Los microtubos de carbono, según algunas realizaciones, se pueden dopar con boro nitrógeno o combinaciones de los mismos. En una realización, los microtubos de carbono dopados pueden comprender boro en una cantidad que oscila de aproximadamente 0,01 por ciento en peso a aproximadamente 10 por ciento en peso. En otra realización, los microtubos de carbono dopados pueden comprender aproximadamente 5 por ciento en peso de boro. En otras realizaciones, los microtubos de carbono dopados pueden comprender nitrógeno en una cantidad que oscila de aproximadamente 0,01 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso o de aproximadamente 5 por

ciento en peso a aproximadamente 25 por ciento en peso. En otra realización, los microtubos de carbono dopados pueden comprender nitrógeno en una cantidad mayor que 30 por ciento, en peso. En otra realización, los microtubos de carbono dopados pueden comprender de aproximadamente 10 por ciento en peso de nitrógeno a aproximadamente 20 por ciento en peso de nitrógeno. En una realización más, los microtubos de carbono dopados pueden comprender menos de aproximadamente 1 por ciento en peso de nitrógeno. En algunas realizaciones, los microtubos de carbono dopados pueden comprender entre aproximadamente 5 por ciento en peso y aproximadamente 10 por ciento en peso de boro y/o nitrógeno.

Por otra parte, en una realización, los microtubos de carbono no comprenden sustancialmente hierro. En otra realización, los microtubos de carbono no microparticulacomprenden hierro.

Los nanotubos de carbono así como los microtubos de carbono, en algunas realizaciones, presentan al menos una superficie funcionalizada con al menos una especie química hidrófila. Los nanotubos de carbono que presentan al menos una superficie funcionalizada con al menos una especie química hidrófila, en algunas realizaciones, comprenden nanotubos de carbono ramificados y no ramificados. Por otra parte, los microtubos de carbono que presentan al menos una superficie funcionalizada con al menos una especie química hidrófila, en algunas realizaciones, presentan arquitecturas o estructuras dobladas, curvadas y/o plegadas.

Especies químicas hidrófilas adecuadas para funcionalizar al menos una superficie de un nanotubo de carbono o microtubo de carbono, en una realización, comprenden especies que tienen al menos un grupo carboxilo (COOH). En otras realizaciones, las especies químicas hidrófilas adecuadas pueden comprender polímeros hidrófilos tales como, pero no limitándose a, poli(cloruro de dimetildialilamonio), polietilenglicol, polietilenglicol alcoxilado o polipropilenglicol.

En algunas realizaciones, al menos una superficie de un nanotubo de carbono o un microtubo de carbono es funcionalizada por unión mediante enlaces covalentes de una especie química hidrófila a la superficie. En otras realizaciones, al menos una superficie de un nanotubo de carbono o un microtubo de carbono es funcionalizada por formación de interacciones intermoleculares no covalentes con una especie química hidrófila, incluyendo interacciones iónicas, dipolo-dipolo y/o de Van der Waals. En una realización más, al menos una superficie de un nanotubo de carbono o un microtubo de carbono es funcionalizada por formación de interacciones covalentes y no covalentes con una o más especies químicas hidrófilas. La funcionalización de al menos una superficie de nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono con especies químicas hidrófilas puede aumentar la solubilidad y/o dispersión de los nanotubos y microtubos en disoluciones o matrices polares. Las disoluciones polares, en algunas realizaciones, pueden comprender disoluciones con base acuosa tales como disoluciones salinas o disoluciones tampón. Las matrices polares, en algunas realizaciones, pueden comprender un gel polimérico.

La Figura 4 ilustra un método para funcionalizar una superficie de un nanotubo de carbono con especies químicas hidrófilas según una realización de la presente invención. La primera etapa en la Figura 4 ilustra la funcionalización de una superficie de nanotubo de carbono por unión mediante enlaces covalentes a especies químicas que comprenden un grupo carboxilo a la superficie. La unión covalente de una especie química puede llevarse a cabo mediante tratamiento ácido de los nanotubos seguido por 2+2 cicloadiciones de los grupos deseados. La segunda etapa de la Figura 4 ilustra asociación electrostática de un polímero hidrófilo a la superficie del nanotubo por interacción con la especie superficial de carboxilo.

En otras realizaciones, un nanotubo de carbono o un microtubo de carbono comprende una superficie funcionalizada con al menos un ligando objetivo. "Ligando objetivo" como se usa en la presente memoria, se refiere a un ligando o receptor que presenta una afinidad específica por una especie química particular. Por otra parte, "objetivo," como se usa en la presente memoria incluye el uso de unión anticuerpo-antígeno, unión ligando-receptor y otras interacciones de unión química. En algunas realizaciones, los ligandos objetivo pueden comprender anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos recombinantes, anticuerpos biespecíficos, fragmentos de anticuerpo, fragmentos de anticuerpo de cadena única recombinantes, aptámeros, (fragmentos de ADNss) y péptidos.

Los ligandos objetivo, según algunas realizaciones de la presente invención, pueden comprender receptores de quimiocina y citocina tales como CXCR4, CCR7, RANK, interleucina 1 alfa, interleucina 1 beta e interleucina 2 -18; receptores de muerte tales como TNF, DR1-5, TRAIL, fas y linfotoxina; transportadores de glucosa (Glut1, etc.), Dmt 1 y lipocalina; receptores víricos tales como receptor de HSV, receptor de Adenovirus y receptor de EBV; ligandos receptores de superficie celular tales como ligandos Fas y Wnt; receptores circulantes y otras proteínas presentes en la sangre tales como IGF (factor de crecimiento de tipo insulina), antagonistas BMP (proteína morfogénica ósea), CA125, factor de tejidos, activador plasminógeno del tejidos, trioglobulina, fetoproteína alfa, HCG, quinínogeno H, quinínogeno L y ferritina; receptores de superficie celular tales como DCC (eliminado en cáncer colorrectal), receptores de angiotensina, PTCH (homólogo humano de Drosophila patched), RET, Kit, receptor de NGF (factor de crecimiento nervioso), CGSF, receptor de GM-CSF (factor de estimulación de colonias de macrófagos y granulocitos), receptor de transferrina, Frizzled, LRP y Wise; moléculas de adhesión celular tales como cadherinas, CD31 (molécula de adhesión celular endotelial), N-CAM (molécula de adhesión celular neural), i-CAM (molécula de adhesión celular intercelular), integrinas y selectinas (selectina-E, selectina-P, selectina L); receptores para proteínas de matriz extracelular, tales como receptores de laminina y receptores de bronectina; receptores de factor

de crecimiento tales como FGF, EGF, PDGF, VEGF, FLIT, receptor de insulina, IGF, BMP, met (receptor de HGF), TGFbeta y antagonistas de BMP; antígenos de superficie celular tales como CD5, CD44, CD20, CD57, MUC, proteoglicanos, PSMA, HER2 y CEA; bombas de salida tales como Mdr, Mrp y Bcrp y otras proteínas de superficie tales como uPAR, trombospondina, moléculas de MHC, microglobulina Beta 2, receptores Toll y un receptor de LDL.

5 Los ligandos objetivo, según algunas realizaciones, están operables para unirse a un marcador de cáncer. En tales realizaciones, un ligando objetivo se puede diseñar para fijar como objetivo un marcador o marcadores de células cancerígenas específicas. El marcador de células cancerígenas particular puede ser específico a, pero no limitarse a, el tipo y la localización del cáncer, tal como, por ejemplo, tumores, cáncer metastásico, enfermedad residual mínima y similares.

10 El marcador o los marcadores de cáncer se pueden seleccionar de manera que representen un objetivo viable en la célula cancerígena de interés. Los marcadores de cáncer, en algunas realizaciones, se pueden expresar sobre la superficie de células cancerígenas y no se expresan sobre la superficie de células sanas para permitir la diferenciación celular adecuada. En algunas realizaciones, los marcadores de cáncer no se desprenden fácilmente de las superficies celulares. En el caso de que se desprenda un marcador de cáncer, según algunas realizaciones, un ligando objetivo puede aún reconocer un epítipo particular del marcador que queda en la superficie celular. Alternativamente, si se desprende un marcador de cáncer, la superficie de un nanotubo o microtubo puede comprender uno o más ligandos objetivo adicionales operables para reconocer tales entidades desprendidas como marcadores para las células cancerosas.

20 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición de nanopartículas que comprende un sustrato esférico o con facetas y una pluralidad de nanotubos de carbono acoplados al sustrato. En algunas realizaciones, el sustrato esférico o con facetas puede comprender sílice. En otras realizaciones, el sustrato puede comprender hierro.

25 Por otra parte, los nanotubos de carbono acoplados al sustrato esférico o con facetas, según realizaciones de la presente invención, pueden comprender los nanotubos de carbono de cualquier construcción consistente con la descrita en la presente memoria, incluyendo nanotubos que comprenden hierro. La Figura 5 ilustra una composición de nanopartículas que comprende un sustrato de sílice esférico y una pluralidad de nanotubos de carbono acoplados al sustrato según una realización de la presente invención.

30 La presente invención también proporciona métodos para producir nanotubos de carbono y microtubos de carbono. En una realización, un método para producir nanotubos de carbono o microtubos de carbono comprende proporcionar una disolución que comprende una fuente de carbono y una fuente de hierro, inyectar la disolución en un precalentador, vaporizar la disolución, transportar la disolución a un horno en un portador de gas y pirolizar la disolución. En algunas realizaciones, una fuente de carbono puede comprender xilenos. Una fuente de hierro, según algunas realizaciones, puede comprender ferrocina. Por otra parte, un gas portador adecuado puede comprender hidrógeno. En algunas realizaciones, los nanotubos de carbono y los microtubos de carbono producidos por el método de horno anterior comprenden hierro.

35 La Figure 6 ilustra un procedimiento para producir nanotubos de carbono o microtubos de carbono que comprenden hierro según una realización de la presente invención. Se proporciona un horno (600) de cuarzo tubular de dos fases en el que la primera fase comprende un precalentador (602) y la segunda fase comprende la estufa (604) de crecimiento. Un tubo (606) de cuarzo se extiende a lo largo de tanto el precalentador (602) como la estufa (604) de crecimiento. En algunas realizaciones, el tubo (606) de cuarzo puede presentar un diámetro de aproximadamente 45 mm y una longitud total de aproximadamente 450 mm y tiene un sustrato (608) apropiado para la deposición de nanotubos de carbono, tal como sílice, dispuesto en el mismo. Se conecta un gas (612) portador al tubo de cuarzo por una válvula (610) para controlar el caudal de gas portador. En algunas realizaciones, el gas portador puede comprender hidrógeno y tener un caudal de aproximadamente 320 sccm. En otras realizaciones, el argón puede servir como gas portador y presentar un caudal de aproximadamente 40 sccm.

40 También se conecta una bomba (614) de inyección al tubo de cuarzo y está operable para inyectar una disolución que comprende una fuente de carbono y una fuente de hierro en el tubo (606) de cuarzo en un punto en el interior del precalentador (602). La disolución, en una realización, puede comprender 0,3 g de ferrocina disueltos en 30 ml de xileno. En algunas realizaciones, la bomba (614) de inyección puede inyectar la disolución a una velocidad de 5 ml/h. En otras realizaciones, la bomba (614) de inyección puede inyectar la disolución a una velocidad de 30 ml/h. En una realización más, la bomba (614) de inyección puede inyectar la disolución a una velocidad que oscila desde 1 ml/h a 500 ml/h.

45 El precalentador (602) puede estar fijado a una temperatura que oscila de aproximadamente 60°C a aproximadamente 250°C mientras que la estufa (604) de crecimiento puede estar fijada a una temperatura que oscila de aproximadamente 600°C a aproximadamente 900°C. En algunas realizaciones, el precalentador (602) puede estar fijado a una temperatura que oscila de 160°C a 190°C y la estufa (604) de crecimiento puede estar fijada a una temperatura que oscila de aproximadamente 800°C a aproximadamente 900°C.

Con el gas (612) portador fluyendo a una velocidad deseada, la bomba (614) de inyección inyecta la cantidad

deseada de disolución en el tubo (606) de cuarzo. La disolución se vaporiza en el precalentador y se lleva a posterioridad a la estufa de crecimiento por el gas portador para descomposición pirolítica para producir nanotubos de carbono o microtubos de carbono sobre el sustrato (608).

5 En algunas realizaciones, la modulación de la velocidad de inyección de una disolución que comprende una fuente de carbono y una fuente de hierro puede variar los intervalos en los que se incorpora el hierro a los nanotubos de carbono y/o los microtubos de carbono de la presente invención. En otras realizaciones, la modulación del caudal del gas portador que transporta una disolución vaporizada que comprende una fuente de carbono y una fuente de hierro puede variar los intervalos a los que se incorpora el hierro a los nanotubos de carbono y/o los microtubos de carbono de la presente invención. En una realización más, modular simultáneamente la velocidad de inyección de una disolución que comprende una fuente de carbono y una fuente de hierro y el caudal de un gas portador que transporta la disolución vaporizada puede variar los intervalos a los que se incorpora hierro en nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono de la presente invención. Como resultado, se puede incorporar hierro a los nanotubos de carbono y los microtubos de carbono de la presente invención a intervalos periódicos o no periódicos.

15 En algunas realizaciones, se puede incorporar hierro a los nanotubos de carbono y los microtubos de carbono a intervalos de aproximadamente 25 nm. En otras realizaciones, se puede incorporar hierro a los nanotubos de carbono y los microtubos de carbono a intervalos de aproximadamente 50 nm. En otra realización, se puede incorporar hierro a los nanotubos de carbono y los microtubos de carbono a intervalos de aproximadamente 100 nm. En más realizaciones, se puede incorporar hierro a los nanotubos de carbono así como a los microtubos de carbono a intervalos de aproximadamente 200 nm o aproximadamente 500 nm.

20 En algunas realizaciones de nanotubos de carbono o microtubos de carbono dopados con boro y/o nitrógeno, se puede añadir una fuente de boro y/o nitrógeno a la disolución que comprende ferrocina. En una realización, por ejemplo, se puede poner piridina en disolución con ferrocina para producir nanotubos de carbono dopados con nitrógeno así como microtubos de carbono dopados con nitrógeno. En otras realizaciones, una fuente de nitrógeno puede comprender nitrógeno usado para diagnóstico por imágenes mediante tomografía de emisión de positrones, tal como ^{15}N . En algunas realizaciones, las fuentes de boro comprenden boro puro, óxido de boro y nitruros de boro. Alternativamente, las técnicas de crecimiento de nanotubos de destrucción láser usan dianas con diversos contenidos en boro y nitrógeno. En algunas realizaciones, el grado de dopado con boro y nitrógeno en un nanotubo o microtubo de carbono se puede adaptar al menos parcialmente variando la concentración de la fuente de boro o nitrógeno en la disolución de ferrocina.

30 Los nanotubos de carbono y microtubos de carbono, según realizaciones de la presente invención, están operables para absorber energía electromagnética y disipar con posterioridad la energía electromagnética absorbida como calor al entorno que rodea a los nanotubos o microtubos. Como resultado, los nanotubos de carbono y microtubos de carbono están operables para usarse como agentes de inducción térmica.

35 En algunas realizaciones, los nanotubos de carbono y los microtubos de carbono se pueden destruir cuando se irradian con una cantidad suficiente de radiación electromagnética. La destrucción de los nanotubos de carbono o microtubos de carbono puede tener lugar cuando la disipación de radiación electromagnética como calor llega a ser tan grande que la red de carbono se disocia.

40 La presente invención, según algunas realizaciones, proporciona métodos para modular las propiedades de inducción térmica y destrucción de nanotubos de carbono así como microtubos de carbono. En una realización, un método para modular la inducción térmica de nanotubos de carbono o microtubos de carbono comprende dopar nanotubos de carbono o microtubos de carbono con boro, nitrógeno o combinaciones de los mismos. En otra realización, un método para modular el umbral de destrucción de nanotubos de carbono o microtubos de carbono comprende dopar nanotubos de carbono o microtubos de carbono con boro, nitrógeno o combinaciones de los mismos.

45 La Figura 7 ilustra las propiedades de inducción térmica de nanotubos de carbono dopados con diversas cantidades de boro y nitrógeno. Como se indica en la Figura 7, la cantidad de calor producido por nanotubos de carbono cuando se exponen a radiación electromagnética aumenta con niveles mayores de dopaje con boro y nitrógeno.

50 La Figura 8 ilustra umbrales de destrucción para nanotubos de carbono dopados con diversas cantidades de boro y nitrógeno. Como se indica en la Figura 8, el umbral de destrucción puede aumentar inicialmente con niveles bajos de dopaje con boro y nitrógeno. A mayores niveles de dopaje, sin embargo, la red de nanotubos de carbono llega a debilitarse con defectos producidos por los átomos de boro y/o nitrógeno dando como resultado umbrales de destrucción inferiores.

A la vista de estos defectos en el umbral de inducción térmica y destrucción, la cantidad de calor proporcionada por un nanotubo de carbono o microtubo de carbono a un entorno se puede adaptar para una aplicación específica.

55 La presente invención proporciona adicionalmente métodos para producir nanotubos de carbono ramificados. En una realización, un método para producir nanotubos ramificados comprende proporcionar un patrón anodizado que comprende estructuras de poro ramificadas y sintetizar nanotubos de carbono dentro de las estructuras de poro ramificadas. Las estructuras ramificadas, como se proporciona en la presente memoria, comprenden múltiples

ramificaciones, múltiples ramificaciones con múltiples ramificaciones, ramificaciones Y, ramificaciones Y con múltiples ramificaciones y ramificaciones Y multiniveles.

5 En algunas realizaciones, un método para producir nanotubos ramificados comprende además electrodepositar al menos un metal en el interior de los nanotubos de carbono. Al menos un metal, según algunas realizaciones, comprende un metal de transición, tal como hierro, níquel, cobalto, cobre o gadolinio.

10 Proporcionar un patrón anodizado que comprende estructuras de poro ramificadas, en una realización, comprende un proceso en dos etapas. En la primera etapa, se pueden ionizar láminas de aluminio de alta pureza en disolución de ácido oxálico 0,3 M a 8-10°C bajo voltaje constante (en el intervalo de 40-72 V_{cc}) durante 8 horas. Se puede retirar con posterioridad el aluminio anódico formado. En la segunda etapa, la anodización puede transcurrir bajo las mismas condiciones que la primera etapa para producir poros del tronco primario en el patrón de óxido de aluminio anódico (AAO, por sus siglas en inglés). Después de la producción de los poros del tronco, se puede reducir el voltaje de anodización por un factor de $1/(n)^{0.5}$ para crear poros de ramificaciones multiplicadas (n ramificaciones).

15 En una realización más, el voltaje de anodización se puede reducir además en una tercera etapa adicional por un factor de $1/(m)^{0.5}$ para generar poros multiramificados de segunda generación que crecen a partir de los poros de la primera generación (n ramificaciones).

20 La síntesis de nanotubos de carbono dentro de las estructuras de poros ramificados, según algunas realizaciones, puede comprender hacer crecer los nanotubos de carbono por deposición química de vapor. El crecimiento de nanotubos de carbono en el interior de estructuras de poro ramificadas de patrones por deposición química de vapor, en algunas realizaciones, puede comprender la pirólisis de acetileno. En una realización, por ejemplo, se puede pirolizar una mezcla gaseosa de argón (85%) y acetileno (15%) con un caudal de 35 ml/min en el interior de los poros de un patrón de aluminio a 650°C durante un periodo de 1-2 horas para producir nanotubos de carbono ramificados.

25 La síntesis de nanotubos de carbono en un patrón poroso puede obviar el uso de ferrocina en el proceso de deposición química de vapor. El hierro y otras partículas de metal, incluyendo otros metales de transición, se pueden disponer con posterioridad en el interior de los nanotubos de carbono creciendo en los poros de un patrón por procedimientos de electrodeposición.

30 En una realización, un proceso de electrodeposición puede comprender disponer una capa de adhesión de titanio con un espesor de aproximadamente 10 nm para el lado del poro del tronco del patrón poroso. Una película de cobre con un espesor de aproximadamente 1 μm se puede disponer con posterioridad sobre la capa de adhesión de titanio. La capa de adhesión y la película de cobre pueden cubrir los poros completamente y servir como electrodo de trabajo en el proceso de electrodeposición. La capa de adhesión y la película de cobre se pueden depositar sobre el patrón poroso por evaporación de haz electrónico. Después de la formación del electrodo de trabajo, las partículas de metal y/o nanocables de metal se pueden disponer en nanotubos de carbono del patrón poroso usando procedimiento estándar tal como los explicados en (1.993) Science 261, págs. 1.316-1.319 que se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad.

35 En algunas realizaciones, un método para producir nanotubos de carbono ramificados comprende además retirar el patrón anodizado. Los patrones anodizados se pueden retirar, según algunas realizaciones de la presente invención, disolviendo el patrón en ácido hidrofúrico (20%).

40 Los nanotubos de carbono ramificados producidos según métodos de la presente invención se proporcionan en la Figura 9.

45 La presente invención también proporciona sistemas y métodos que incorporan nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono para el tratamiento de enfermedad. En algunas realizaciones, las nanopartículas de carbono incorporadas a los sistemas y métodos para el tratamiento de enfermedad comprenden nanotubos de carbono. En alguna realización, las micropartículas de carbono incorporadas en sistemas y métodos para el tratamiento de enfermedad comprenden microtubos de carbono. En una realización, un microtubo de carbono presenta una estructura doblada, curvada y/o plegada.

50 Se considera que cualquiera de las construcciones de nanotubos de carbono o microtubos de carbono proporcionadas en la presente memoria anteriormente son adecuadas para uso en sistemas y métodos para el tratamiento de enfermedad según diversas realizaciones de la presente invención. Se considera adicionalmente que las propiedades físicas y químicas de los nanotubos de carbono y los microtubos de carbono se pueden adaptar como se proporciona en la presente memoria, para aplicaciones de tratamiento de enfermedad particular.

55 En una realización, la presente invención proporciona un sistema de tratamiento de enfermedad que comprende un agente de inducción térmica y una fuente de radiación, en el que el agente de inducción térmica comprende al menos una nanopartícula de carbono, micropartícula de carbono o combinación de las mismas. En algunas realizaciones, al menos una nanopartícula de carbono comprende un nanotubo de carbono. En algunas realizaciones, al menos una micropartícula de carbono comprende un microtubo de carbono. "Agente de inducción térmica" en realizaciones de la presente invención, se refiere a una especie química operable para transferir energía

por calor a su entorno circundante cuando se expone a radiación electromagnética. En algunas realizaciones, la fuente de radiación comprende una fuente de radiación infrarroja. Una fuente de radiación infrarroja, en una realización, puede comprender láser Nd:YAG. En otras realizaciones, una fuente de radiación comprende una fuente de radiación de microondas.

5 En otra realización, la presente invención proporciona un diagnóstico de la enfermedad y un sistema de tratamiento que comprende una fuente de campo magnético, una fuente de radiación y un agente de contraste inductor térmicamente que comprende al menos una nanopartícula de carbono o al menos una micropartícula de carbono, en el que la nanopartícula de carbono y/o la micropartícula de carbono comprende hierro. Un agente de contraste, como se usa en la presente memoria, se refiere a una especie química operable para modificar las velocidades de relajación de espín del núcleo que rodea a la especie química, produciendo de ese modo contraste en una resonancia magnética nuclear (MRI, por sus siglas en inglés). Al menos una nanopartícula de carbono, en algunas realizaciones, comprende un nanotubo de carbono como se proporciona en la presente memoria. En algunas realizaciones, los nanotubos de carbono que comprenden ¹⁵N se pueden usar en tomografía de emisión de positrones y resonancia magnética nuclear. Al menos una micropartícula de carbono puede comprender un microtubo de carbono. En una realización, un microtubo de carbono presenta una estructura doblada, curvada y/o plegada.

En algunas realizaciones, una fuente de campo magnético comprende fuentes de campo magnético usadas en aplicaciones de resonancia magnética nuclear. Por otra parte, una fuente de radiación, según algunas realizaciones, comprende una primera fuente de radiación y una segunda fuente de radiación. Una primera fuente de radiación puede comprender una fuente de radiofrecuencias mientras que una segunda fuente de radiación puede comprender una fuente de radiación infrarroja o una fuente de radiación de microondas.

La presente invención también proporciona métodos para tratar la enfermedad. En una realización, un método para tratar la enfermedad comprende disponer al menos una nanopartícula de carbono y/o micropartícula de carbono en un entorno biológico y calentar el entorno biológico usando la nanopartícula o micropartícula. En algunas realizaciones, al menos la nanopartícula de carbono comprende un nanotubo de carbono como se proporciona en la presente memoria. Una micropartícula de carbono, en algunas realizaciones, comprende un microtubo de carbono. En una realización, un microtubo de carbono presenta una estructura doblada, curvada y/o plegada.

Un entorno biológico, según algunas realizaciones, comprende tejido humano o de animal enfermo. En algunas realizaciones, los tejidos humanos o de animales enfermos comprenden tejidos cancerosos tales como tumores o tejidos que comprenden de otro modo células cancerosas. Los tumores, en algunas realizaciones, pueden comprender "tumores superficiales". Los "tumores superficiales" como se usa en la presente memoria, son tumores localizados en un ser humano u otro animal a una profundidad menor que o igual a aproximadamente 4 cm. Ejemplos no limitantes de tumores superficiales incluyen tumores cutáneos, neoplasma de tejidos blandos y óseos (primarios y metastásicos), tumores de riñón y tumores de próstata. En otras realizaciones, los tumores pueden estar situados a una profundidad mayor que aproximadamente 4 cm.

La disposición de nanopartículas y/o micropartículas en un entorno biológico, en algunas realizaciones, comprende dispersar nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono en un portador fisiológicamente aceptable e introducir el portador en el entorno biológico.

Portadores fisiológicamente aceptables, según algunas realizaciones, comprenden disoluciones o geles compatibles con tejido humano y/o de animal. En algunas realizaciones, las disoluciones fisiológicamente aceptables comprenden agua, disoluciones salinas y/o disoluciones tampón. Las disoluciones tampón, en algunas realizaciones, comprenden carbonatos, fosfatos (por ejemplo, disolución salina tamponada con fosfato), acetatos o tampones orgánicos tales como tris(hidroxiometil)amioetano (Tris), ácido N-2-hidroxiethylpiperazina-N'-2-etanosulfónico (HEPES) o ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS). En algunas realizaciones, los geles comprenden hidrogeles, tales como los construidos a partir de alcohol polivinílico o dextrano tal como carboximetildextrano. En otras realizaciones, los geles comprenden ácido hialurónico.

En algunas realizaciones, un portador fisiológicamente aceptable comprende copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno tales como los disponibles en BASF de Florham Park, Nueva Jersey bajo el nombre comercial PLURONIC®. En otras realizaciones, un portador fisiológicamente aceptable comprende colágeno, quitosán, alginatos o combinaciones de los mismos. Por otra parte, los portadores fisiológicamente aceptables, en algunas realizaciones, comprenden dispersantes tales como poli(cloruro de dialildimetilamonio) (PDDA), tensioactivos o combinaciones de los mismos. En una realización más, un portador fisiológicamente aceptable comprende ácido poli(lactico)-co-glicólico, fibrinógeno, condroitina o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, se disponen nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono en un portador fisiológicamente aceptable en una cantidad terapéuticamente eficaz. Una cantidad terapéuticamente eficaz de nanopartículas y/o micropartículas de carbono puede depender de diversos factores incluyendo el volumen del tejido enfermo que se va a tratar y el tipo de tejido enfermo que se va a tratar. En algunas realizaciones, se disponen nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono en un portador fisiológicamente aceptable en una concentración que oscila de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 5 mg/ml. En otra realización, se

5 disponen nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono en un portador fisiológicamente aceptable en una concentración que oscila de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 2 mg/ml, de aproximadamente 10 µg/ml a aproximadamente 500 µg/ml, de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 300 µg/ml o de aproximadamente 100 µg/ml a aproximadamente 200 µg/ml. En una realización más, las nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono están dispuestas en un portador fisiológicamente aceptable en una concentración mayor que aproximadamente 1 mg/ml o menor que aproximadamente 0,1 µg/ml. En una realización, se disponen nanopartículas de carbono y/o micropartículas en un portador fisiológico en una concentración que oscila de aproximadamente 0,5 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml.

10 En algunas realizaciones, disponer nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono en un entorno biológico comprende inyectar las nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono directamente en el entorno biológico. En una realización, por ejemplo, una composición que comprende nanotubos de carbono, microtubos de carbono o mezclas de los mismos, dispersados en un portador fisiológicamente aceptable se inyecta directamente en un tumor. En algunas realizaciones, la composición se inyecta en la vasculatura del tumor y los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono no entran en las células cancerígenas. En algunas realizaciones, la composición se inyecta en la vasculatura del tumor y los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono no entran sustancialmente en las células cancerígenas. La disposición de nanopartículas de carbono, micropartículas de carbono o mezclas de los mismos en la vasculatura de tejido enfermo tal como tejido canceroso o un tumor, en algunas realizaciones, no limita, sustancialmente inhibe, sustancialmente restringe o coagula el suministro de sangre al tejido enfermo.

20 En otras realizaciones, la disposición de nanopartículas y/o micropartículas de carbono en un entorno biológico puede comprender administrar las nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono en un sitio remoto desde el entorno biológico que se vaya a tratar. En dicha realización, se pueden inyectar nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono o administrar de otro modo a un ser humano o animal en una posición lejos de las células o tejidos enfermos. Se puede administrar una disolución de nanopartículas de carbono, micropartículas de carbono o mezclas de las mismas, por ejemplo, por vía intravenosa o por vía intra-arterial. Una vez administradas, las nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono se pueden transportar a través del cuerpo humano o del animal al sitio del tejido o de las células enfermas. En algunas realizaciones, una vez que las nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono alcanzan el tejido enfermo, tal como tejido canceroso, las nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono no entran en las células del tejido enfermo y quedan en la vasculatura del tejido enfermo.

35 En las realizaciones en las que las nanopartículas de carbono comprenden nanotubos de carbono, los nanotubos de carbono pueden tener al menos una superficie funcionalizada con un ligando objetivo. Por otra parte, en realizaciones en las que las micropartículas de carbono comprenden microtubos de carbono, los microtubos de carbono presentan al menos una superficie funcionalizada con un ligando objetivo. Los ligandos objetivo, según realizaciones de la presente invención, pueden permitir que un nanotubo de carbono o un microtubo de carbono diferencie entre tejidos o células sanas y no sanas cuando se localizan en un entorno biológico enfermo. En algunas realizaciones, un ligando objetivo puede permitir que un nanotubo o microtubo se una a la superficie de una célula enferma por interacciones anticuerpo/antígeno o ligando/receptor.

40 Una vez dispuestas en el entorno biológico deseado, las nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono se pueden usar para calentar el entorno biológico. Calentar un entorno biológico con nanopartículas y/o micropartículas de carbono, según algunas realizaciones, puede comprender irradiar las nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono con una fuente de radiación. En realizaciones en las que las nanopartículas de carbono comprenden nanotubos de carbono, los nanotubos de carbono se pueden irradiar con una fuente de radiación infrarroja. Una fuente de radiación infrarroja, en algunas realizaciones, puede producir radiación que oscila de aproximadamente 700 nm a aproximadamente 1.100 nm. En otras realizaciones, una fuente de radiación infrarroja puede producir radiación que oscila de aproximadamente 1.000 nm a aproximadamente 1.064 nm o de aproximadamente 1.064 nm a aproximadamente 1.100 nm. En realizaciones en las que las micropartículas de carbono comprenden microtubos de carbono, los microtubos de carbono se pueden irradiar con una fuente de radiación infrarroja o una fuente de radiación de microondas.

50 En una realización, calentar un entorno biológico con nanopartículas de carbono, micropartículas de carbono o mezclas de las mismas induce hipertermia en las células en el entorno biológico. En una realización, por ejemplo, se disponen nanotubos de carbono, microtubos de carbono o mezclas de los mismos en la vasculatura de un tumor. Los nanotubos, microtubos o mezclas de los mismos se irradian con posterioridad con radiación infrarroja, radiación de microondas o combinaciones de las mismas para calentar las células del tumor, induciendo de ese modo hipertermia en las células del tumor. La inducción de hipertermia en las células del tumor da como resultado la muerte de las células del tumor.

60 En algunas realizaciones, un método de la presente invención que comprende calentar un entorno biológico que comprende tejido enfermo con una o una pluralidad de nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono da como resultado al menos una reducción del 10% en el volumen del tejido enfermo. En otras realizaciones, un método de la presente invención que comprende calentar un entorno biológico con una nanopartícula o una pluralidad de nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono da como resultado al menos una reducción

del 25%, al menos una reducción del 50%, al menos una reducción del 80% o al menos una reducción del 90% en el volumen del tejido enfermo. En una realización más, un método de la presente invención que comprende calentar un entorno biológico que comprende tejido enfermo con una nanopartícula o una pluralidad de nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono da como resultado una destrucción o eliminación sustancialmente completa o completa del tejido enfermo. En una realización, un método de la presente invención que comprende calentar un entorno biológico que comprende tejido enfermo con una nanopartícula o una pluralidad de nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono da como resultado impedir más crecimiento del tejido enfermo o da como resultado el retardo del crecimiento del tejido enfermo.

En algunas realizaciones, las anteriores reducciones en el volumen de tejido enfermo se consiguen por aplicación de una única composición de nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono al tejido enfermo seguido por una única aplicación de radiación electromagnética a la composición. En otras realizaciones, las reducciones anteriores en el volumen de tejido enfermo se consiguen mediante una pluralidad de aplicaciones de radiación electromagnética para la única composición de nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono. En una realización más, las reducciones anteriores en el volumen de tejido enfermo se consiguen por aplicación de una pluralidad de composiciones de nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono al tejido enfermo seguido por una única aplicación o una pluralidad de aplicaciones de radiación electromagnética a las composiciones.

En algunas realizaciones, los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono son destruidos por la irradiación. Los fragmentos de nanotubo y/o microtubo se eliminan con posterioridad del tejido circundante.

Cuando el entorno biológico comprende un tumor superficial, por ejemplo, el tumor superficial se puede calentar por irradiación de los nanotubos de carbono y/o los microtubos de carbono dispuestos en el mismo con una fuente de radiación externa. La estrecha proximidad del tumor superficial a la superficie de la piel de un ser humano o un animal puede impedir o minimizar cantidades sustanciales de absorción de radiación por tejido suprayacente y/o circundante, permitiendo de ese modo el uso de una fuente de radiación externa.

En algunas realizaciones en las que está situado un tumor u otro tejido enfermo a una profundidad mayor se pueden usar fibras ópticas o dispositivos similares endoscópicamente para penetrar en el tejido circundante y suministrar radiación a los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono dispersados en los alrededores del tejido enfermo. En otras realizaciones, muchos haces de radiación externos con diferentes ángulos de incidencia se pueden enfocar en un tumor o tejido enfermo con una profundidad mayor que la de un tumor superficial. El gran número de haces centrados en la misma región pueden compensar la absorción de radiación por tejido suprayacente y/o circundante. El aparato para proporcionar numerosos haces de radiación pueden comprender aparatos GAMMA KNIFE® disponibles en Elekta Corporation de Estocolmo, Suecia, o dispositivos de enfoque de haces múltiples similares.

Como se proporciona en la presente memoria, una característica de la presente invención es que los nanotubos de carbono, microtubos de carbono o mezclas de los mismos, según algunas realizaciones, se pueden utilizar en un método de diagnóstico terapéutico, irradiación y/o destrucción de una localización fuera de la pared celular de la célula objetivo. En algunas realizaciones, un nanotubo de carbono estará situado próximo a la pared celular en un método terapéutico.

Los nanotubos de carbono, según algunas realizaciones de la presente invención, pueden absorber radiación infrarroja que oscila de aproximadamente 700 nm a aproximadamente 1.100 nm, de aproximadamente 3 µm a aproximadamente 5 µm o de aproximadamente 10 µm a aproximadamente 12 µm. Después de absorber radiación infrarroja, los nanotubos de carbono pueden disipar la energía electromagnética absorbida en la forma de energía por calor. El calor producido se puede transferir al entorno biológico que rodea a los nanotubos de carbono.

Los microtubos de carbono, según algunas realizaciones de la presente invención, pueden absorber radiación infrarroja que oscila de aproximadamente 700 nm a aproximadamente 1.100 nm, de aproximadamente 3 µm a aproximadamente 5 µm, de aproximadamente 10 µm a aproximadamente 12 µm o radiación de microondas. En algunas realizaciones, la radiación de microondas tiene una longitud de onda que oscila de aproximadamente 1 cm a aproximadamente 15 cm. Después de absorber radiación electromagnética, los nanotubos de carbono y microtubos de carbono pueden disipar la energía electromagnética absorbida en forma de energía por calor. El calor producido se puede transferir al entorno biológico que rodea a los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono.

En algunas realizaciones, las nanopartículas de carbono y micropartículas de carbono se destruyen cuando se irradian. En realizaciones en las que las nanopartículas de carbono comprenden nanotubos de carbono, los nanotubos de carbono se pueden destruir cuando se irradian con una cantidad suficiente de radiación infrarroja. Puede tener lugar destrucción de nanotubos de carbono cuando la disipación de energía electromagnética como calor llega a ser tan grande que se disocia la red de carbono. En algunas realizaciones, una red de nanotubos de carbono se disocia en segmentos o fragmentos más pequeños facilitando la eliminación del nanotubo destruido de un entorno biológico. Los microtubos de carbono, en algunas realizaciones, se pueden destruir cuando se irradian con cantidades suficientes de radiación infrarroja y/o de microondas.

En algunas realizaciones, el calor producido por nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono es suficiente para destruir las células en entornos biológicos que rodeen las nanopartículas y/o micropartículas. En una

realización, el calor producido en la irradiación de nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono con radiación es suficiente para destruir las células cancerosas. En otras realizaciones, el calor producido a partir de los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono irradiados es suficiente para destruir a otras células enfermas, tales como las células infectadas con virus como VIH.

5 Por otra parte, los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono que tienen al menos una superficie funcionalizada con un ligando objetivo, en algunas realizaciones, puede proporcionar diferenciación entre células y tejidos enfermos y células y tejidos sanos. La diferenciación proporcionada por ligandos diana proporciona métodos para la destrucción selectiva de células y tejidos enfermos. En algunas realizaciones, un ligando objetivo puede permitir que un nanotubo de carbono o un microtubo de carbono se una a la superficie de una célula enferma a
10 través de interacciones anticuerpo/antígeno o ligando/receptor.

En otra realización, la presente invención proporciona un método para diagnosticar y tratar una enfermedad que comprende disponer al menos de una nanopartícula de carbono que comprende hierro o al menos una micropartícula de carbono que comprende hierro en un entorno biológico, formar imágenes del entorno biológico con la nanopartícula de carbono o la micropartícula de carbono que comprende hierro y calentar el entorno biológico con la nanopartícula de carbono o la micropartícula de carbono. En algunas realizaciones, la nanopartícula de carbono comprende un nanotubo de carbono como se proporciona en la presente memoria. Por otra parte, en algunas realizaciones, la micropartícula de carbono comprende un microtubo de carbono como se proporciona en la presente memoria.

Disponer de al menos una nanopartícula de carbono o al menos una micropartícula de carbono en un entorno biológico y calentar el entorno biológico con la nanopartícula de carbono o la micropartícula de carbono se puede llevar a cabo según las realizaciones explicadas anteriormente.

El diagnóstico de un entorno biológico usando una nanopartícula de carbono que comprende hierro o una micropartícula de carbono que comprende hierro, en algunas realizaciones, puede comprender inducir un campo magnético, disponer del entorno biológico que comprende la nanopartícula de carbono o la micropartícula de carbono en el campo magnético inducido e irradiar el entorno biológico con una radiofrecuencia.

Los campos magnéticos, según algunas realizaciones de la presente invención, pueden ser inducidos con aparatos usados típicamente en aplicaciones de resonancia magnética nuclear (MRI). Por otra parte, las fuentes de radiofrecuencias usadas típicamente en aplicaciones de MRI, en algunas realizaciones, se pueden usar para irradiar el entorno biológico que comprende al menos una nanopartícula de carbono.

Las nanopartículas de carbono, incluyendo nanotubos de carbono, que comprenden hierro pueden actuar como agentes de contraste en aplicaciones de diagnóstico MRI según algunas realizaciones. Una nanopartícula de carbono que comprende hierro puede modificar los índices de relajación de espín de los núcleos que rodean la nanopartícula proporcionando de ese modo contraste por resonancia magnética nuclear.

Las micropartículas de carbono, incluyendo microtubos de carbono, que comprenden hierro pueden actuar como agentes de contraste en aplicaciones de resonancia magnética nuclear según algunas realizaciones. Una micropartícula de carbono que comprende hierro puede modificar los índices de relajación del espín de los núcleos que rodean a la micropartícula proporcionando de ese modo contraste en una resonancia magnética nuclear.

En algunas realizaciones, una superficie de un nanotubo de carbono o un microtubo de carbono que comprende hierro se puede funcionalizar con un quelato que comprende un metal de transición. Los quelatos de metal de transición, en algunas realizaciones, pueden mejorar las propiedades de contraste de nanotubos de carbono y microtubos de carbono en aplicaciones de resonancia magnética nuclear.

En una realización, un quelato de metal comprende manganeso, hierro, cobalto, níquel o gadolinio. Los quelatos de metal, en realizaciones de la presente invención, comprenden al menos un ligando orgánico. Ligandos orgánicos quelantes, según algunas realizaciones, pueden comprender 1,4,7-triaacilonona-N-N'-N'-triacetato, 1,4,7,10-tetrazaciclododecano-N,N', N'', N''-tertraacetato o 1,5,9-triazaciclododecano-N,N',N''-triacetato.

En algunas realizaciones, los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono que comprenden hierro pueden tener una superficie funcionalizada con al menos un ligando objetivo. Los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono que comprenden hierro y que tienen una superficie funcionalizada con al menos un ligando objetivo, en algunas realizaciones, se pueden usar para identificar y diagnosticar células o tejidos específicos. En algunas realizaciones, las células o tejidos diagnosticados comprenden células y tejidos enfermos. Las células y tejidos enfermos, en algunas realizaciones, pueden comprender células cancerígenas y tejidos cancerosos, tales como tumores. Por otra parte, una vez diagnosticado, los nanotubos de carbono y/o microtubos de carbono se pueden irradiar con radiación infrarroja para destruir selectivamente las células y tejidos enfermos.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas y métodos de administración de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de una enfermedad. En una realización, la presente invención proporciona una composición que comprende una composición farmacéutica dispuesta en un revestimiento, comprendiendo el revestimiento un material compuesto. En algunas realizaciones, el material de revestimiento de

material compuesto comprende una pluralidad de nanopartículas de carbono y/o micropartículas de carbono para destruir de ese modo con ruptura el revestimiento para liberar al menos parcialmente la composición farmacéutica dispuesta en el mismo. Las composiciones farmacéuticas para uso en composiciones y métodos descritos en la presente memoria pueden comprender especies químicas útiles para el tratamiento del cáncer y otras enfermedades, tales como VIH/SIDA.

La presente invención se ilustrará ahora mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

EJEMPLO 1

Síntesis de Nanotubos de Carbono que Comprenden Hierro

Se sintetizaron nanotubos de carbono de paredes múltiples dopados con nitrógeno a gran escala usando deposición química de vapor (CVD) basada en inyección de ferrocina en piridina. La síntesis de los nanotubos de carbono de paredes múltiples se realizó en un horno de cuarzo de dos fases (diámetro -45 mm, longitud de trabajo -450 mm) similar al ilustrado en la Figura 6. Se usó hidrógeno como gas portador con un caudal de 320 sscm y se mantuvo el precalentador del horno de dos fases a 160°C. Aproximadamente 2,7 por ciento de ferrocina, en peso se disolvió en piridina y se inyectó la disolución resultante en el precalentador a una velocidad de 5 ml/h. La temperatura del horno osciló de 600°C a 900°C y se fijó el tiempo de crecimiento en una hora.

El análisis del producto por espectroscopía de transmisión electrónica (TEM, por sus siglas en inglés) y espectroscopía de efecto túnel (STS, por sus siglas en inglés) revelaron nanotubos de carbono de paredes múltiples uniformes, altamente alineados con un diámetro medio de 20 nm. La Figura 10 es una imagen TEM de nanotubos de carbono sintetizados a 700°C según los parámetros explicados en el presente ejemplo. Por otra parte, había hierro en los nanotubos de carbono de paredes múltiples como se muestra en la imagen TEM de la Figura 11.

EJEMPLO 2

Nanotubos de Carbono como Agentes de Contraste de Resonancia Magnética Nuclear (MRI)

Para ensayar las capacidades de contraste de MRI de los nanotubos de carbono que comprenden hierro, según realizaciones de la presente invención, los nanotubos de carbono como se produjeron en el EJEMPLO 1 se mezclaron con células de cáncer de riñón cultivadas 5E⁶ CRL1932 y se formaron imágenes usando un Escaneador de Señal General Electric (GE) 1.5T con Dos Gradientes de Velocidad (General Electric Healthcare Systems, Milwaukee, WI) con el serpentín de cabeza de cuadratura. Se modificó una secuencia de pulso en eco de espín de recuperación de la inversión para adquirir una imagen unidimensional de las células en un intervalo de tiempos de inversión que oscila de 50 milisegundos (ms) a 10 segundos en incrementos igualmente espaciados. Se usó un tiempo de repetición de 30 segundos para permitir que los espines volvieran al equilibrio térmico antes de cada excitación. Las células de cáncer de riñón cultivadas en una disolución sin nanotubos de carbono se usaron como un control.

Los datos de resonancia magnética brutos del tiempo de inversión más largo (T1= 10 segundos) se substrajeron de otros datos de resonancia magnética brutos para justificar el cambio en la señal de los datos. Esta sustracción permitió que se midiera T1 por ajuste de los datos a un modelo exponencial de decaimiento de tres parámetros. El T1 de las células de control fue 1.747 ms mientras el T1 de las células mezcladas con nanotubos de carbono que comprendían hierro fue 730 ms. La reducción en T1 ilustra las capacidades de contraste de la resonancia magnética de los nanotubos de carbono que comprenden hierro.

EJEMPLO 3

Inducción de Muerte Celular con Microtubos de Carbono

Para ensayar la capacidad para inducir muerte de células enfermas, se suspendieron microtubos de carbono de paredes múltiples con un diámetro que oscila de aproximadamente 20-30 nm y una longitud de aproximadamente 1,2 µm en disolución salina tamponada con HEPES y se sometieron a ultrasonidos. Se añadieron 50 µl de la suspensión a una cámara de un portaobjetos de cubierta de vidrio de doble cámara que contenía células cancerígenas de riñón 3 x 10⁵ CRL 1932. La otra cámara contenía células cancerígenas sin adición de la disolución de microtubos de carbono. Se dejó que las células se incubaran durante 6 horas a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía CO₂ al 5%.

Se expusieron las células con posterioridad a 3 vatios de radiación de 1.024 nm de un láser YAG durante intervalos crecientes de tiempo que oscilaban de 30 segundos a 240 segundos. Se lavaron inmediatamente las células irradiadas con PBS y se tiñeron con calceína AM a 37°C durante 5 minutos. El tinte vital mancha las células vivas y no es retenido en células muertas. Se visualizaron las células usando un Microscopio Confocal Zeiss LSM 510 y excitación con un láser de argón.

Como se muestra en la Figura 12, la muerte de las células cancerígenas inducida en los microtubos de carbono cuando se irradiaron con radiación infrarroja, un periodo de tiempo de irradiación de 240 segundos indujo la muerte

en un número significativo de las células cancerígenas. Los periodos de tiempo de irradiación se pueden adaptar, según realizaciones de la presente invención, para maximizar el número de células enfermas destruidas.

La viabilidad previa al tratamiento con luz fue idéntica en ambas cámaras indicando que la simple coincubación de células con microtubos no afectaba a la supervivencia celular.

5 EJEMPLO 4

Síntesis de Microtubos de Carbono Con una Longitud Media de 1,1 μ m

Se sintetizaron microtubos de carbono de paredes múltiples según el procedimiento explicado en el Ejemplo 1. Se usó espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS, por sus siglas en inglés) para determinar la concentración total de nitrógeno de los microtubos de carbono de paredes múltiples, que se midió que era de aproximadamente 1% a aproximadamente 2% por ciento en peso. Posteriormente a la formación, se sometieron a ultrasonidos los microtubos de carbono de paredes múltiples en una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y ácido nítrico (3:1) durante un periodo de 7 horas. Después de extenso lavado y secado, se examinó la pureza y la extensión de los microtubos de carbono de paredes múltiples usando un microscopio de transmisión electrónica (TEM) Phillips 400 que funcionaba a 80 keV. El examen proporcionó pruebas de microtubos de carbono de paredes múltiples de alta pureza sin casi partículas catalíticas o carbonosas en las superficies de los nanotubos de carbono. La Figura 13 ilustra una imagen TEM de los microtubos de carbono de paredes múltiples producidos. Por otra parte, los microtubos de carbono de paredes múltiples mostraron una longitud media de 1,1 μ m. la distribución de la longitud de los microtubos de carbono se ilustra en la Figura 14. Los microtubos de carbono de paredes múltiples indicaron un diámetro de aproximadamente 15 nm.

20 EJEMPLO 5

Síntesis de Nanotubos de Carbono Con una Longitud Media de 700 nm

Se sintetizaron nanotubos de carbono de paredes múltiples según el procedimiento explicado en el Ejemplo 1. Se usó espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) para determinar la concentración total de nitrógeno de los nanotubos de carbono de paredes múltiples, que se midió que era aproximadamente 1% a aproximadamente 2% por ciento en peso. Con posterioridad a la formación, los nanotubos de carbono de paredes múltiples se sometieron a ultrasonidos en una mezcla de ácido sulfúrico concentrado y ácido nítrico (3:1) durante un periodo de 24 horas. Después de extenso lavado y secado, la pureza y la longitud de los nanotubos de carbono de paredes múltiples se examinaron usando un microscopio de transmisión electrónica (TEM) Phillips 400 que operaba a 80 keV. El examen proporcionó pruebas de nanotubos de carbono de paredes múltiples de alta pureza sin casi partículas catalíticas o carbonosas sobre las superficies de los nanotubos de carbono. La Figura 15 ilustra una imagen TEM de los nanotubos de carbono de paredes múltiples producidos. Por otra parte, los nanotubos de carbono de paredes múltiples indicaron una longitud media de 700 nm. La distribución de la longitud de los nanotubos de carbono se ilustra en la Figura 16. Los nanotubos de carbono de paredes múltiples indicaron un diámetro de aproximadamente 15 nm.

35 EJEMPLO 6

Estudio de Citotoxicidad Celular de Microtubos de Carbono de paredes Múltiples

Se produjeron microtubos de carbono de paredes múltiples con una longitud media de 1,1 μ m según el procedimiento descrito con el procedimiento descrito en el Ejemplo 4. Se obtuvieron células cancerígenas CRL 1932 de la Colección de Cultivos de Tipo Americano y se cultivaron a 37°C en una cámara humidificadora que contenía CO₂ al 5% en medio 5A de McCoy enriquecido con suero fetal bovino al 10% (FBS) y penicilina-estreptomina al 1%. Se sembraron las células a 1,5 x 10⁴ células/ pozo en placas de cultivo de 48 pozos. Se mezclaron 0,1 ml de nanotubos de carbono de paredes múltiples suspendidos en HBS con 0,8 ml de células cancerígenas CRL 1932 en medio modificado 5A de McCoy. La relación de microtubos de carbono de paredes múltiples a células fue 1.000:1. Como se demuestra en la Figura 17, los microtubos no produjeron un efecto discernible sobre la viabilidad celular valorada sobre 48 horas, conduciendo a la conclusión de que los microtubos de carbono de paredes múltiples no son inherentemente tóxicos.

EJEMPLO 7

Efecto de la Concentración de Nanotubos sobre el Calentamiento del Entorno

Se produjeron nanotubos de carbono de paredes múltiples con una longitud media de 700 nm según el procedimiento descrito en el Ejemplo 5. Una concentración de 1.000x10⁵ nanotubos de paredes múltiples/unidad de volumen se designó como concentración de la disolución acuosa de 100%. Esta concentración se diluyó con posterioridad para producir disoluciones acuosas adicionales de 500 x 10⁵, 250 x 10⁵ y 10 x 10⁵, nanotubos/unidad de volumen que representan concentraciones de 50%, 25% y 10%, respectivamente. Cada concentración de disolución acuosa se irradió con un láser NIR CW-YAG que funcionaba a una longitud de onda de 1.064 nm y una potencia del láser de 3 w/cm² para un periodo de tiempo de hasta 4 minutos. Como se demostró en la Figura 18, se

registró un aumento en la temperatura de cada disolución acuosa en la irradiación. La concentración de 100% (1.000×10^5 nanotubos de paredes múltiples/unidad de volumen) consiguió el aumento de temperatura más alto con cada caída de concentración sucesiva siguiendo el orden.

EJEMPLO 8

5 *Viabilidad Celular Después de Hipertermia Inducida en Microtubos de Carbono*

Se produjeron microtubos de carbono de paredes múltiples con una longitud media de $1,1 \mu\text{m}$ según el Ejemplo 4. Se obtuvieron células cancerígenas CRL 1932 de la Colección de Cultivos de Tipo Americano y se cultivaron a 37°C en una cámara humidificadora que contenía CO_2 al 5% en medio 5A de McCoy enriquecido con suero fetal bovino (FBS) al 10% y penicilina-estreptomina al 1%. Se incubaron con las células cancerígenas diversas concentraciones de los microtubos de carbono de paredes múltiples de $1, 1 \mu\text{m}$ suspendidos en HBS. Se incubaron células cancerígenas en relaciones de microtubo:célula de 1:1, 100:1 y 1.000:1. Los cultivos que comprendían diversas relaciones microtubo de carbono:célula se irradiaron con un láser NIR CW-YAG que operaba a una longitud de onda de 1.064 nm y una potencia de láser de 3 w/cm^2 durante un periodo de tiempo de 4 minutos. Se incubaron células de control con los microtubos de carbono de paredes múltiples pero no se irradiaron con el láser NIR o se irradiaron con el láser en ausencia de microtubos.

Se evaluó la viabilidad en todos los cultivos. Como se ilustró en la Figura 19, en ausencia de los microtubos de carbono de paredes múltiples de $1,1 \mu\text{m}$, el tratamiento con laser NIR no tuvo efecto sobre la viabilidad celular. Como resultado, las células indican una alta transparencia a la luz NIR y ni exposición a NIR sola ni exposición a microtubos sólo es suficiente para inducir muerte celular. Las células incubadas con los microtubos de carbono de paredes múltiples DE $1,1 \mu\text{m}$ y expuestas con posterioridad a NIR demostraron una espectacular dependencia de la dosis disminuyó la viabilidad, con más de 90% de muerte celular a la dosis más alta ensayada (por ejemplo, 1.00:1). Por otra parte, la mayor disminución en viabilidad estuvo asociada con el mayor aumento en la temperatura. El número medio de células en la muestra de microtubos/célula 1.000:1 disminuyó por $4,62 \times 10^5 \pm 0,47 \times 10^5$ después de exposición al láser en la que se alcanzó una temperatura de $57,7 \pm 1,5^\circ\text{C}$. La Figura 20 ilustra que el mayor incremento de la temperatura tuvo lugar a una relación microtubo/célula de 1.000:1.

EJEMPLO 9

Viabilidad Celular Después de Hipertermia Inducida en Nanotubos de Carbono

Se produjeron nanotubos de carbono de paredes múltiples con una longitud media de 700 nm según el Ejemplo 5. Se obtuvieron células cancerígenas CRL 1932 de la Colección de Cultivos de Tipo Americano y se cultivaron a 37°C en una cámara humidificadora que contenía CO_2 al 5% en medio 5A de McCoy enriquecido con suero fetal bovino (FBS) al 10% y penicilina-estreptomina al 1%. Se incubaron con las células cancerígenas diversas concentraciones de los nanotubos de carbono de paredes múltiples de 700 nm suspendidos en HBS. Se incubaron células cancerígenas en relaciones de nanotubo:célula de 1:1, 1:100 y 1:1.000. Los cultivos que comprendían relaciones nanotubo de carbono:célula se irradiaron con un láser NIR CW-YAG que operaba a una longitud de onda de 1.064 nm y una potencia de láser de 3 w/cm^2 durante un periodo de tiempo de 4 minutos. Se incubaron células de control con los nanotubos de carbono de paredes múltiples pero no se trataron con el láser NIR o se trataron con el láser en ausencia de nanotubos.

Se evaluó la viabilidad en todos los cultivos. Como se ilustró en la Figura 21, en ausencia de los nanotubos de carbono de paredes múltiples de 700 nm , el tratamiento con laser NIR no tuvo efecto sobre la viabilidad celular. Como resultado, las células indican una alta transparencia a la luz NIR y ni exposición a NIR sola ni exposición a nanotubos sólo es suficiente para inducir muerte celular. Las células incubadas con los nanotubos de carbono de paredes múltiples de 700 nm y expuestas con posterioridad a NIR demostraron que una espectacular dependencia de la dosis disminuyó la viabilidad, con más de 90% de muerte celular a la dosis más alta ensayada (por ejemplo, 1.000:1). Por otra parte, la mayor disminución en viabilidad estuvo asociada con el mayor aumento en la temperatura. El número medio de células en la muestra de nanotubos/célula 1.000:1 disminuyó por $3,31 \times 10^5 \pm 0,53 \times 10^5$ después de exposición al láser en la que se alcanzó una temperatura de $50,7 \pm 5,7^\circ\text{C}$. La Figura 22 ilustra que el mayor incremento de la temperatura tuvo lugar a una relación nanotubo/célula de 1.000:1.

EJEMPLO 10

Regresión de Tejido Enfermo Tratado con Composiciones de Nanotubos

Cada costado de un ratón atímico desnudo macho de 8 semanas (NCR-nu/nu; NCI, Bethesda, MD) se inoculó s.c. con $3,0 \times 10^6$ células de cáncer de próstata PC3 en $0,1 \text{ ml}$ de medio sin suero (SFM) en una relación 1:1 con Matrigel de Alta Concentración reducida en Factor de Crecimiento (BD Biosciences, San Jose, CA). Se dejó que los tumores crecieran hasta que fue palpable ($\geq \text{ca } 20 \text{ mm}^3$). Se suspendieron nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWNT, por sus siglas en inglés) que contenían hierro sometiendo a ultrasonidos en tensioactivo pluronic PC127 a una concentración de 0,1% p/p. los nanotubos de carbono de paredes múltiples tuvieron una longitud media de aproximadamente 1.200 nm y un diámetro medio de aproximadamente 20 nm . Se ajustó el pH a 7,3 y se añadió NaCl a concentración final 0,9%. Un volumen total de $0,1 \text{ ml}$ de una suspensión de MWNT, $200 \mu\text{g/ml}$ se

inyectó directamente en el flanco izquierdo del tumor usando una aguja de 26 g estéril. La cantidad equivalente de disolución salina se inyectó al flanco derecho del tumor para el control. Se administró un único pulso láser de 60 segundos usando un láser YAG a una potencia de 3 w/cm^2 a los tumores de ambos flancos 24 horas después de inyección del MWNT. Se midió el aumento de temperatura inmediatamente después de la exposición al láser usando un termopar y fue $7,7^\circ\text{C}$ en el tumor de control y $15,8^\circ\text{C}$ en el tumor tratado. Se midieron los volúmenes de tumor en los tiempos indicados después de tratamiento usando soportes. Los tumores fueron de tamaño desigual el día 0 (día 0 es el día de inyección de nanotubo), por el día 24, el tumor de control apenas había doblado el volumen (de $22,7 \text{ mm}^3$ a $51,6 \text{ mm}^3$) mientras que el tumor tratado había descendido a apenas 2% de su volumen original (de 112 mm^3 a $2,9 \text{ mm}^3$). La Figura 23 ilustra el crecimiento del tumor no tratado y la regresión del tumor tratado con la composición de los nanotubos de paredes múltiples según el presente ejemplo.

EJEMPLO 11

Formación de Imágenes In Vivo de una Composición de Nanotubos de Paredes Múltiples que Comprende un Agente de Contraste

Se produjeron nanotubos de carbono de paredes múltiples según el procedimiento explicado en el Ejemplo 1. Se atacaron los nanotubos de carbono de paredes múltiples en una mezcla de ácido sulfúrico y nítrico ($\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HNO}_3 = 2:1$) como sigue. Se mezclaron 60 ml de ácido sulfúrico y 30 ml de ácido nítrico en un matraz redondo al que se añadieron 30 mg de nanotubos de paredes múltiples. Para dispersar los nanotubos de paredes múltiples en el ácido, se sometió la mezcla a ultrasonidos con un baño de ultrasonidos de bocina a alta potencia hasta que se obtuvo una suspensión negra (normalmente 20-40 segundos). Se tapó el matraz con posterioridad con un tapón de vidrio, y se sometió la mezcla a ultrasonidos en un baño de ultrasonidos durante 24 horas a temperatura constante. Se abrieron los extremos de los nanotubos con los ultrasonidos.

Después de la abertura, se mezclaron los nanotubos con una disolución acuosa sobresaturada de GdCl_3 . Se disolvieron 222,5 g de GdCl_3 en 0,9 ml de agua desionizada caliente. Se añadieron 5 mg de nanotubos de paredes múltiples a la disolución de GdCl_3 . Para dispersar de manera homogénea los nanotubos, se sometió a ultrasonidos la disolución resultante con un baño de ultrasonidos de bocina durante unos segundos. Se sometió a ultrasonidos la disolución con posterioridad en un baño de ultrasonidos durante 60 minutos. Cada 15 minutos se retiró la disolución del baño y se calentó para disolver el precipitado de GdCl_3 . Después de ultrasonidos, se agitó la disolución de nanotubos de paredes múltiples de GdCl_3 a temperatura ambiente durante cinco días. Después de agitación, se diluyó la disolución con 15 ml de agua desionizada y se centrifugaron los nanotubos de paredes múltiples a 1.000 g. se eliminó el sobrenadante y se añadieron 15 ml de agua desionizada. El procedimiento de dilución y centrifugación se repitió cuatro veces. Se filtró el producto de los nanotubos de paredes múltiples final por un filtro de $0,2 \mu\text{m}$ y se secó. El análisis elemental ICP y EDX confirmaron la presencia de Gd en la muestra de nanotubos de paredes múltiples.

Se preparó una disolución del nanotubo de paredes múltiples lleno de gadolinio como sigue. Se preparó una disolución acuosa al 1% en peso de tensioactivo. El tensioactivo usado fue PLURONIC® F127 disponible en BASF de Florham Park, Nueva Jersey. Se añadieron nanotubos de paredes múltiples que comprendían gadolinio, como se preparó anteriormente, a la disolución de tensioactivo en una concentración de 1 mg/ml. Usando un baño de ultrasonidos de bocina de alta potencia, se sometió a ultrasonidos la disolución de nanotubos de paredes múltiples-tensioactivo durante 15 minutos.

Se inyectó la disolución de nanotubos de paredes múltiples de tensioactivo resultante en un ratón que soportaba un tumor en el flanco trasero izquierdo. Para demostrar las capacidades de contraste MRI de los nanotubos de paredes múltiples que comprendían gadolinio, se sometió el ratón a formación de imágenes previamente a recibir la inyección y posterior a recibir la inyección de nanotubos de paredes múltiples. La Figura 24 ilustra una imagen que pesa T2 del ratón (a) antes de inyección del nanotubo de paredes múltiples que comprende gadolinio y (b) después de inyección del nanotubo de paredes múltiples que comprende gadolinio. Como se ilustra en la Figura 24, la composición de nanotubos de paredes múltiples que comprenden gadolinio en los nanotubos proporcionó contraste del tumor.

Se han descrito diversas realizaciones de la invención en el cumplimiento de los diversos objetos de la invención. Se debería reconocer que estas realizaciones son simplemente ilustrativas de los principios de la presente invención. Numerosas modificaciones y adaptaciones de la misma serán evidentes fácilmente para los expertos en la materia.

REIVINDICACIONES

1. Un sistema de tratamiento de enfermedad que comprende:
 un agente de inducción térmica y
 una fuente de radiación,
 caracterizado por que el agente de inducción térmica comprende una pluralidad de nanotubos de carbono dopados con boro y/o nitrógeno, una pluralidad de microtubos de carbono dopados con boro y/o nitrógeno o una mezcla de los mismos.
2. Un sistema de tratamiento de enfermedad según la reivindicación 1, en el que el nanotubo de carbono o los microtubos de carbono comprenden de 0,01 por ciento en peso de nitrógeno a 30 por ciento en peso de nitrógeno, preferiblemente 5 por ciento en peso de nitrógeno a 10 por ciento en peso de nitrógeno.
3. Un sistema de tratamiento de enfermedad según la reivindicación 1, en el que la pluralidad de nanotubos de carbono o la pluralidad de microtubos de carbono comprenden además hierro.
4. Un sistema de tratamiento de enfermedad según la reivindicación 1, en el que la fuente de radiación comprende una fuente de radiación infrarroja, una fuente de radiación de microondas o una combinación de los mismos.
5. Un sistema de tratamiento de enfermedad según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende además una fuente de campo magnético según la cual el agente de inducción térmica comprende al menos un nanotubo de carbono que comprende hierro, al menos un microtubo de carbono que comprende hierro o una mezcla de los mismos y funciona como un agente de contraste y el sistema de tratamiento de la enfermedad funciona como un sistema de formación de imágenes.
6. Un método para formación de imágenes que comprende: disponer de un agente de inducción térmica como se describe en la reivindicación 5 en un entorno biológico y usar el sistema de tratamiento de la enfermedad según la reivindicación 5.
7. Un método según la reivindicación 6, en que el agente de inducción térmica se dispersa en un portador fisiológicamente aceptable.
8. Un sistema de tratamiento de enfermedad según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en que la pluralidad de nanotubos de carbono, la pluralidad de microtubos de carbono o la mezcla de los mismos, se dispersa en un portador fisiológicamente aceptable.
9. Una composición que comprende: una disolución, comprendiendo la disolución: un portador fisiológicamente aceptable y una pluralidad de nanotubos de carbono dopados con boro y/o nitrógeno, una pluralidad de microtubos de carbono dopados con boro y/o nitrógeno o una mezcla de los mismos, dispuesta en un portador fisiológicamente aceptable en una concentración que oscila de:
 0,1 µg/ml a 5 mg/ml.
10. La composición según la reivindicación 9, en la que la concentración oscila de 10 µg/ml a 500 µg/ml.
11. La composición según la reivindicación 10, en la que la concentración oscila de 100 µg/ml a 200 µg/ml.
12. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en que la pluralidad de nanotubos de carbono, la pluralidad de microtubos de carbono o la mezcla de los mismos comprende además hierro.
13. Uso de una pluralidad de nanotubos de carbono dopados con boro y/o nitrógeno, una pluralidad de microtubos de carbono dopados con boro y/o nitrógeno o una mezcla de los mismos, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de tejido enfermo.
14. El uso según la reivindicación 13, en que la pluralidad de nanotubos de carbono o la pluralidad de microtubos de carbono comprende de 0,01 por ciento en peso de nitrógeno a 30 por ciento en peso de nitrógeno, preferiblemente 5 por ciento en peso de nitrógeno a 10 por ciento en peso de nitrógeno.
15. El uso según la reivindicación 13 ó 14, en el que el medicamento se adapta para suministro a la vasculatura del tejido enfermo de manera que los nanotubos de carbono o microtubos de carbono del medicamento no entren en las células del tejido enfermo sino que queden en la vasculatura del tejido enfermo.

b

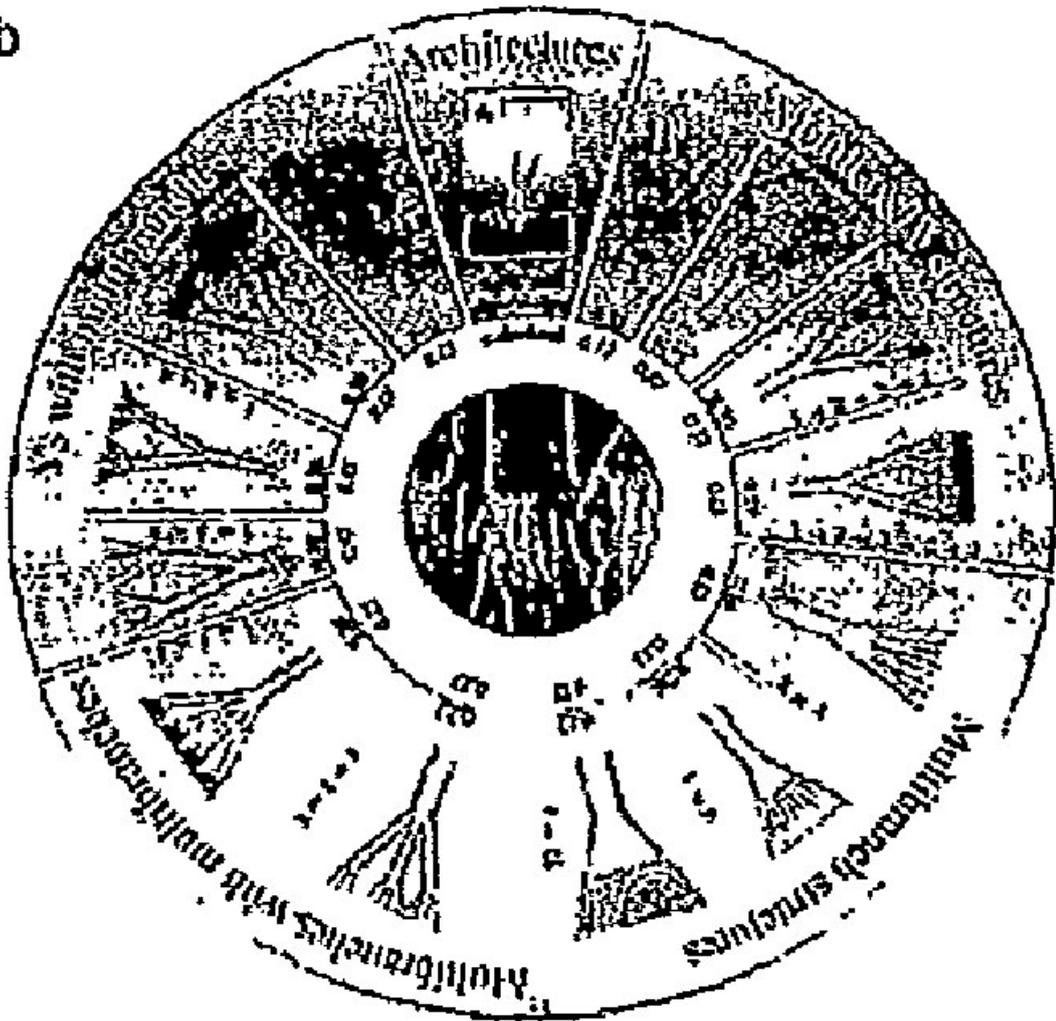


FIGURA 1

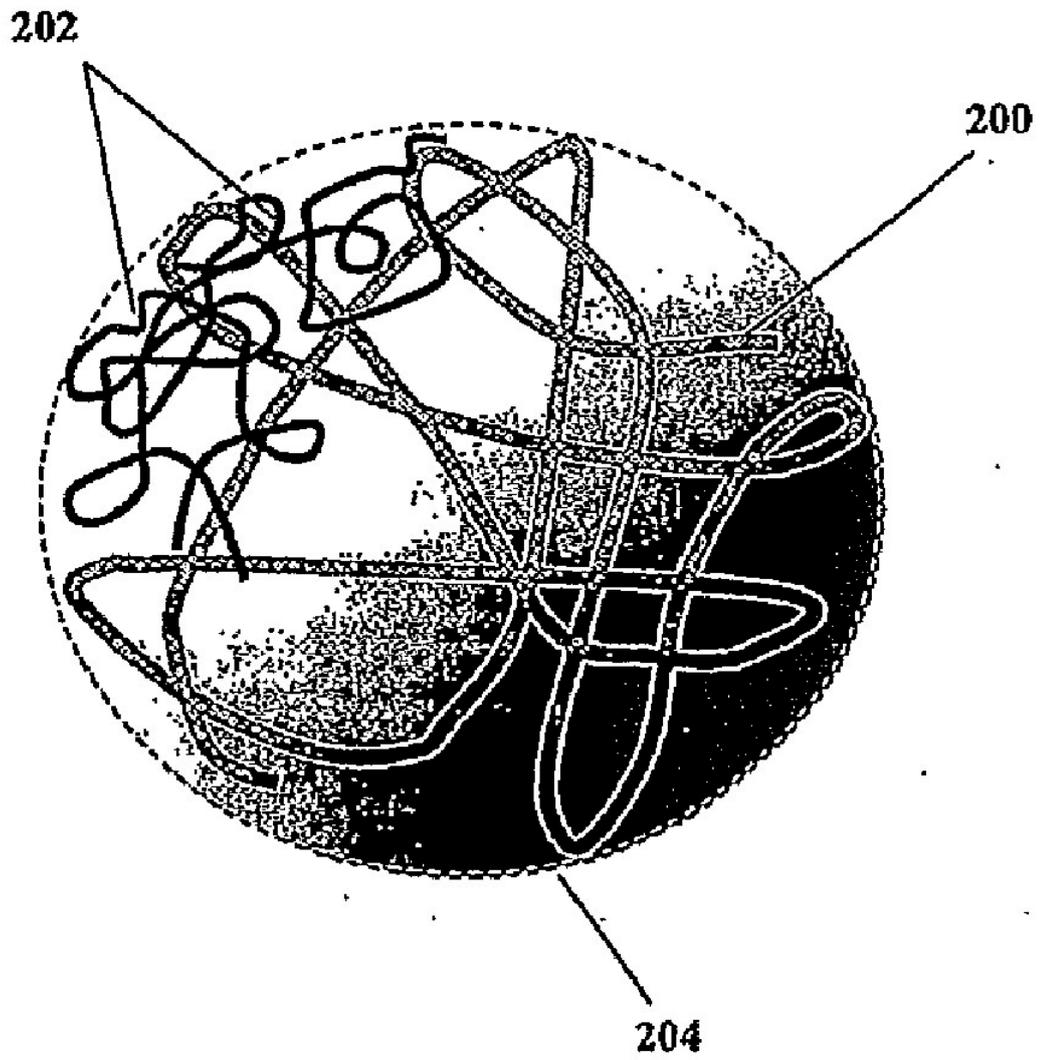


FIGURA 2



FIGURA 3

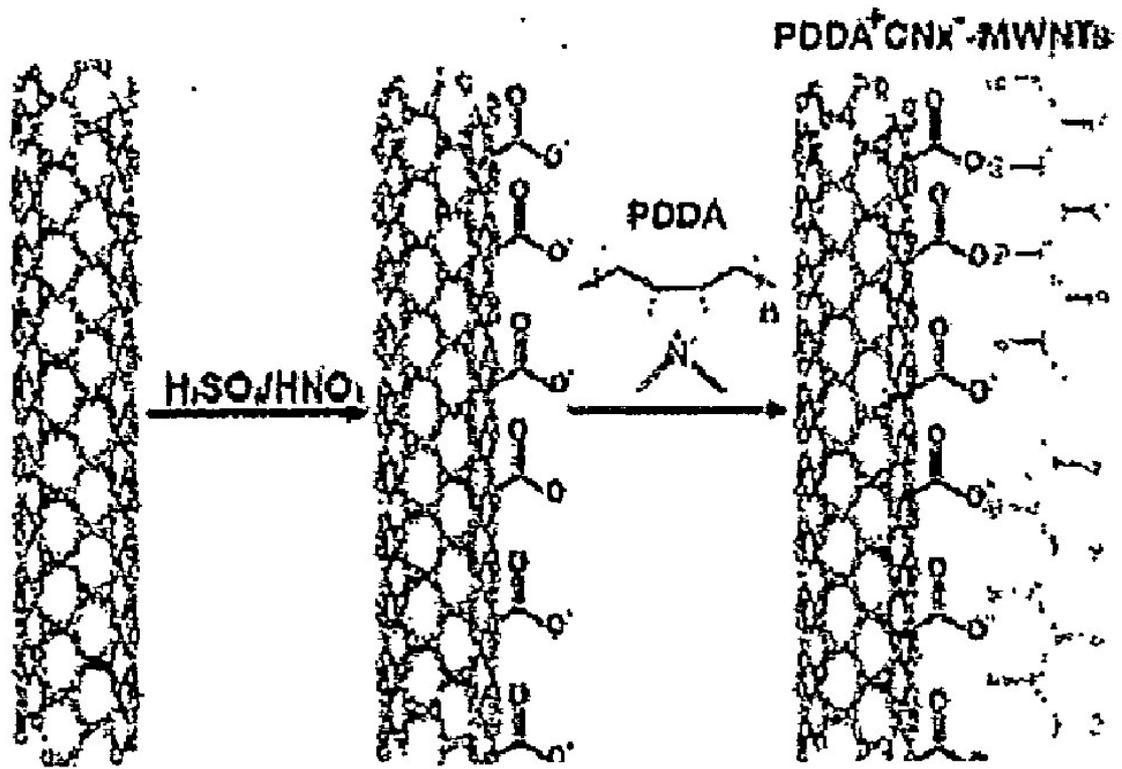


FIGURA 4

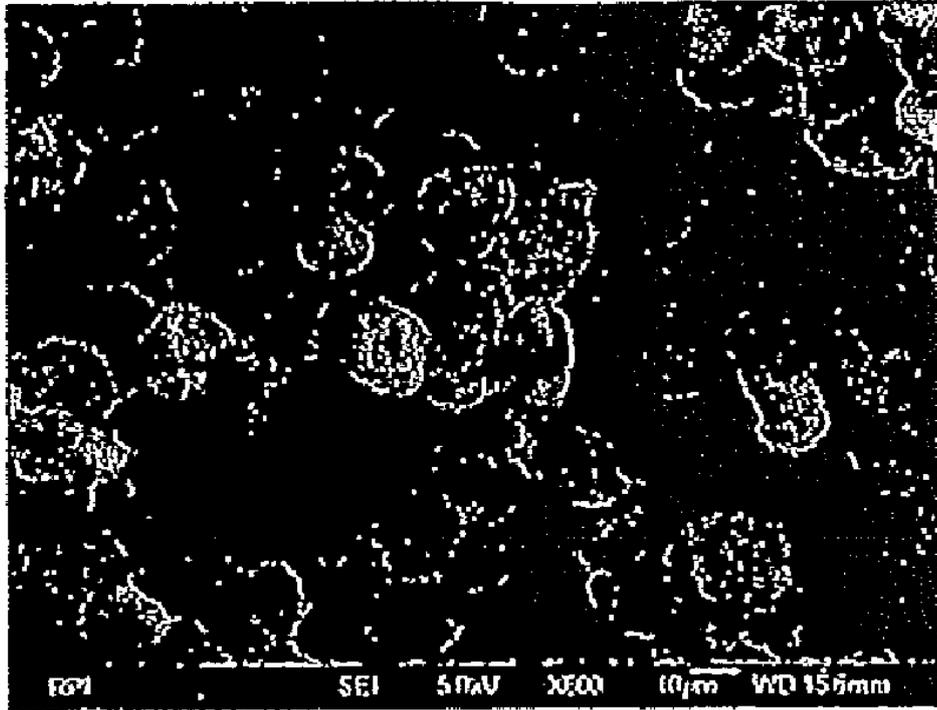


FIGURA 5

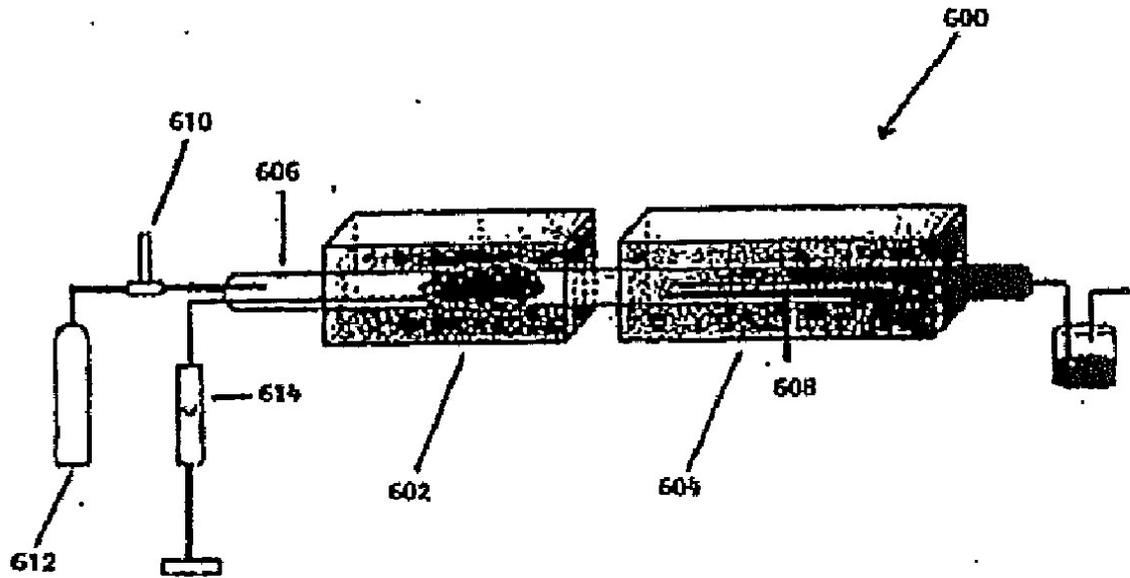


FIGURA 6

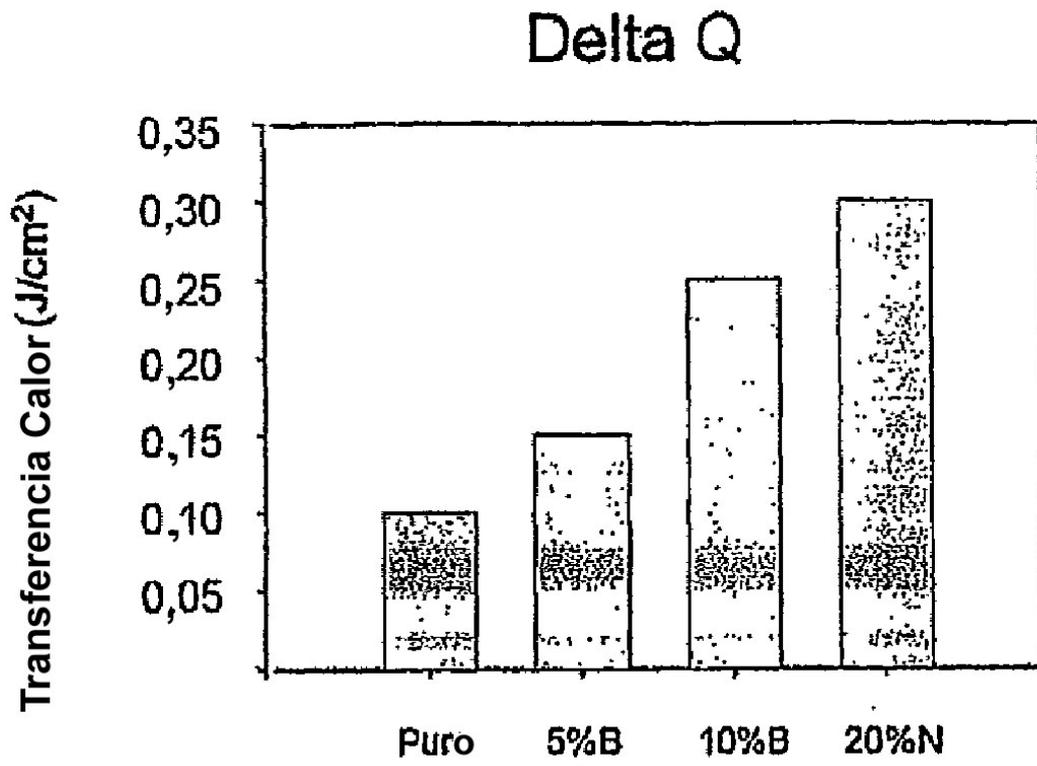


FIGURA 7

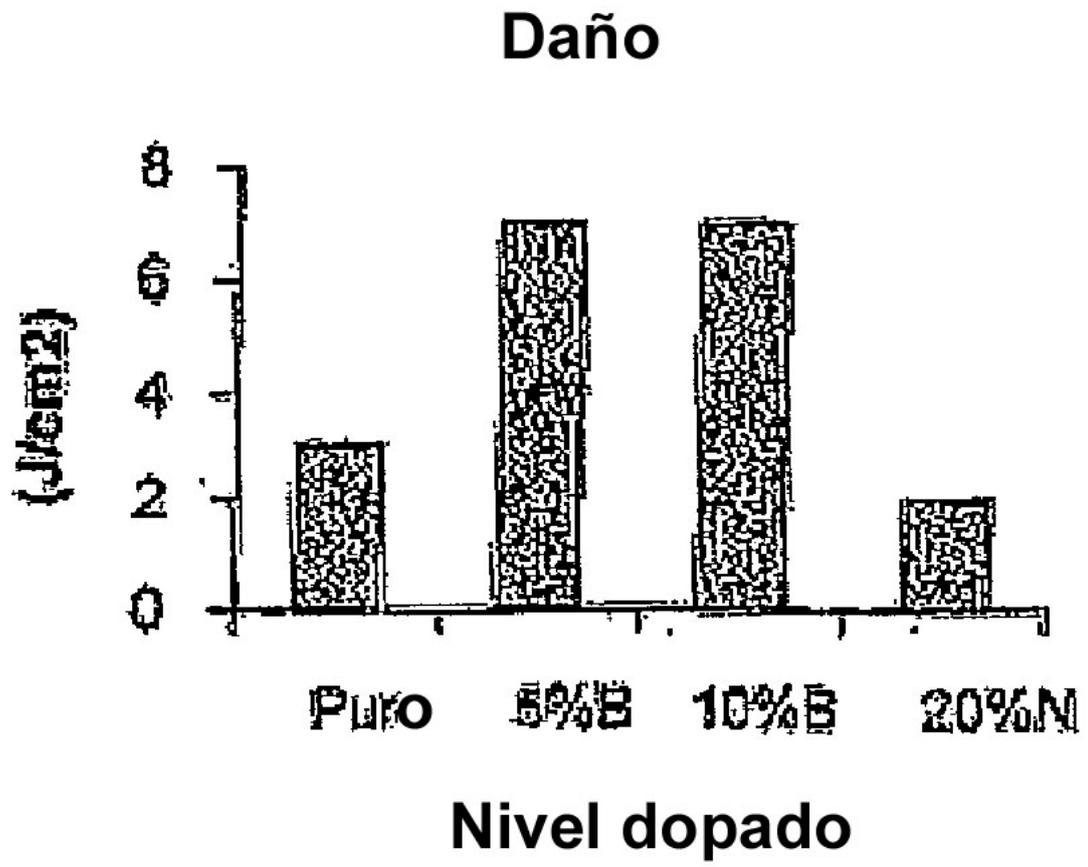


FIGURA 8

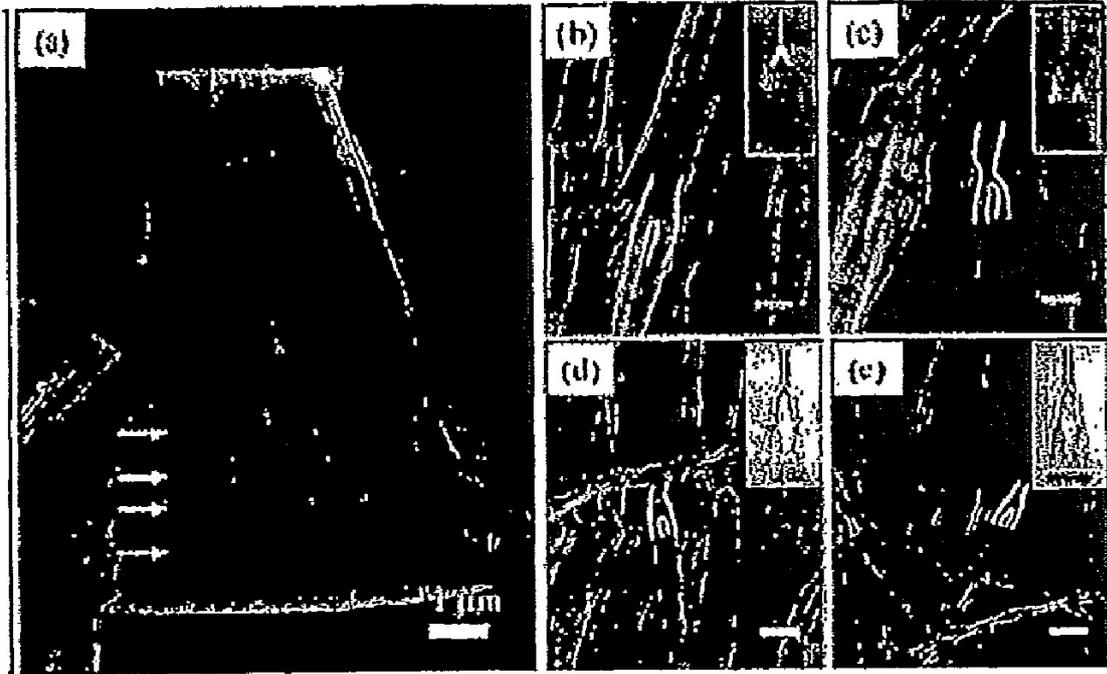


FIGURA 9

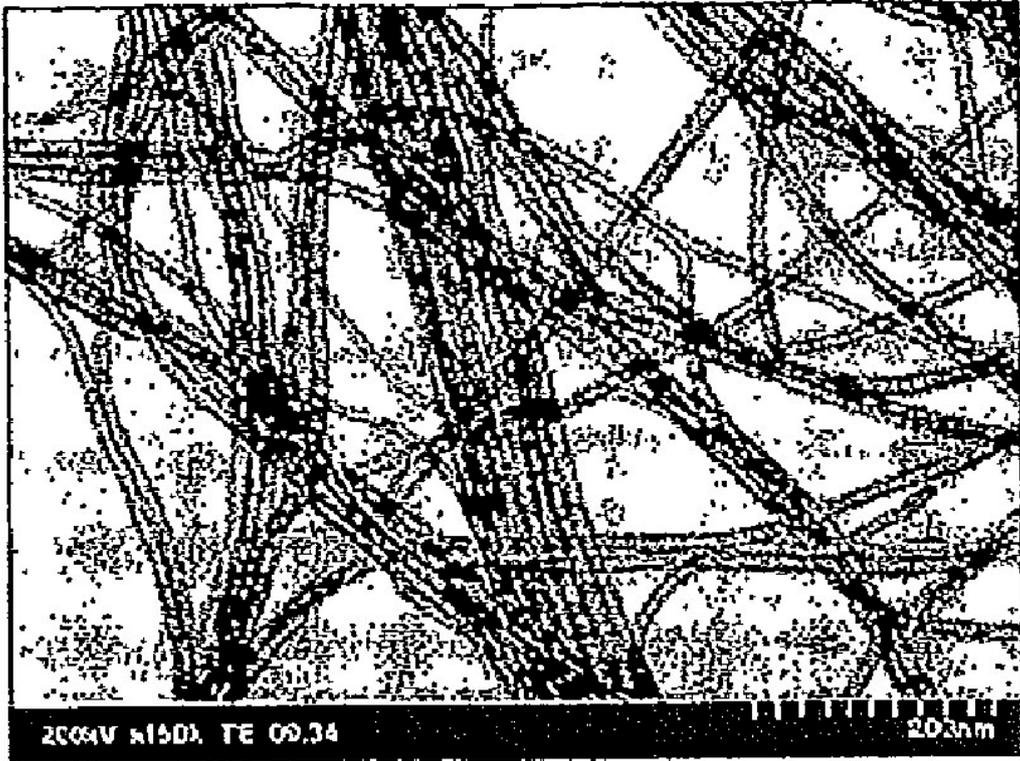


FIGURA 10

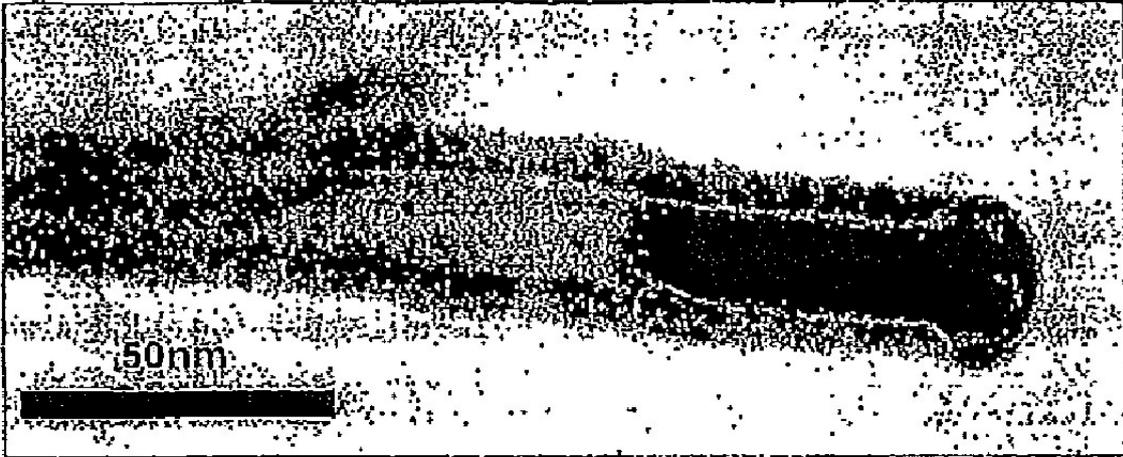


FIGURA 11

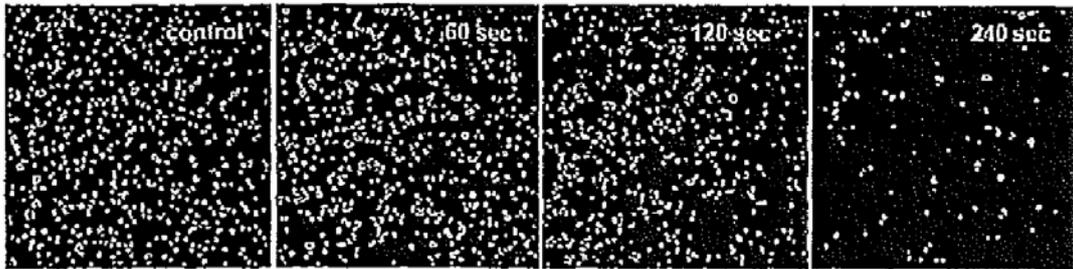


FIGURA12

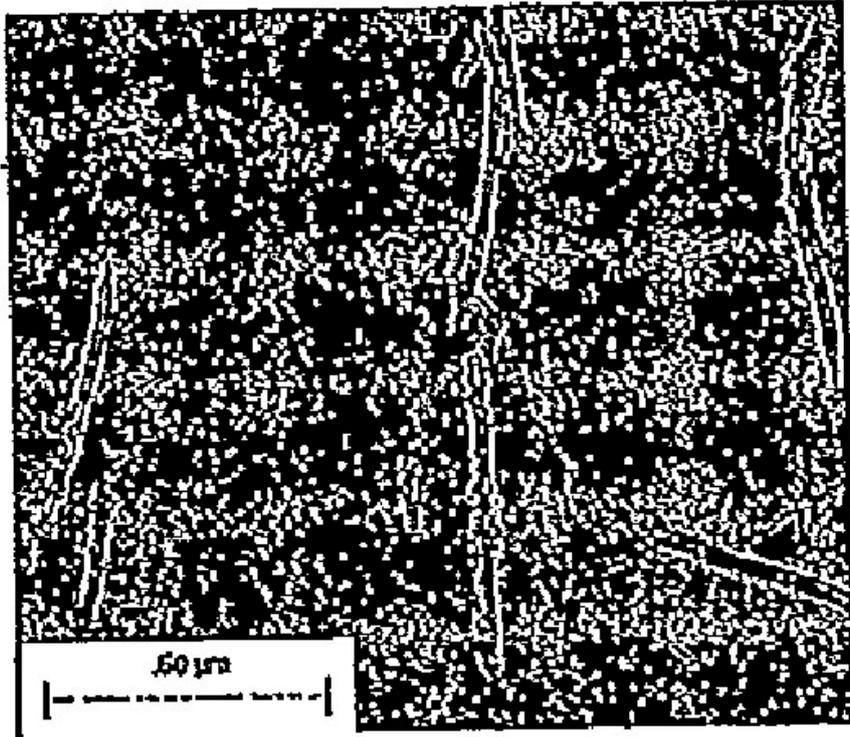


FIGURA 13

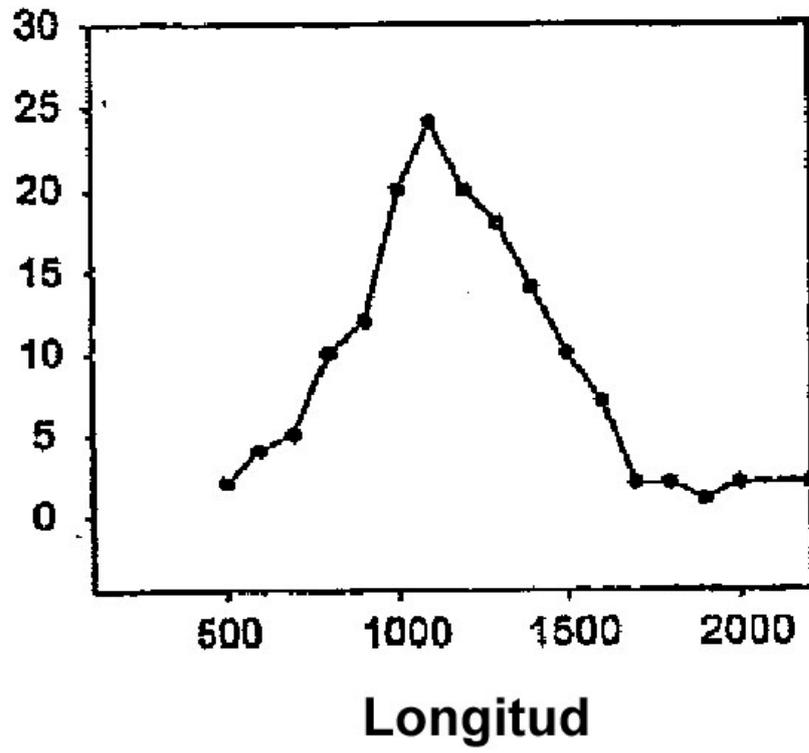


FIGURA 14

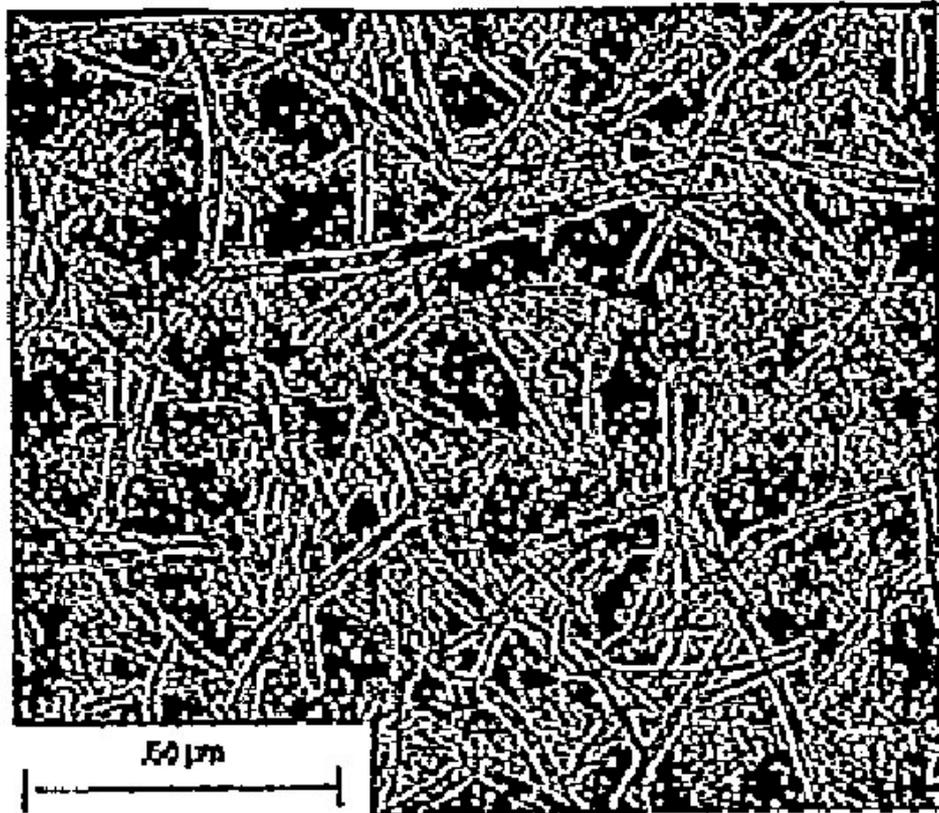


FIGURA 15

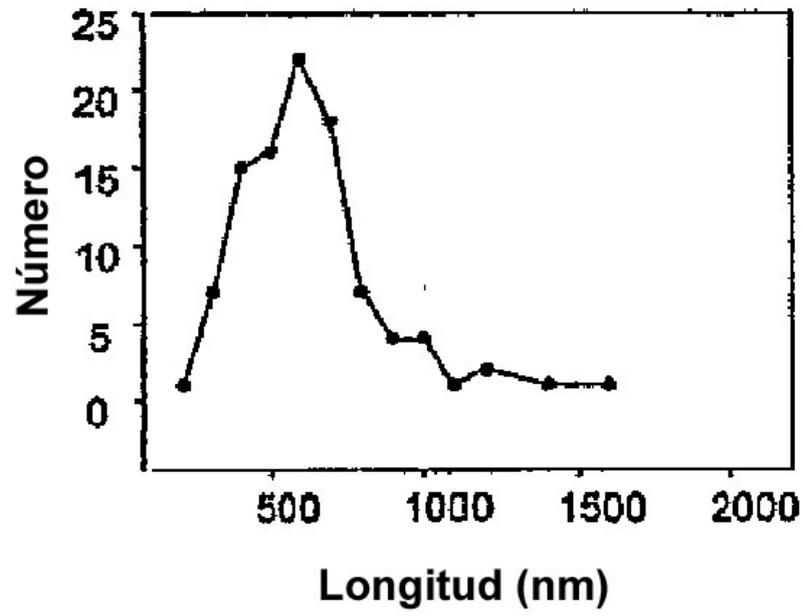


FIGURA 16

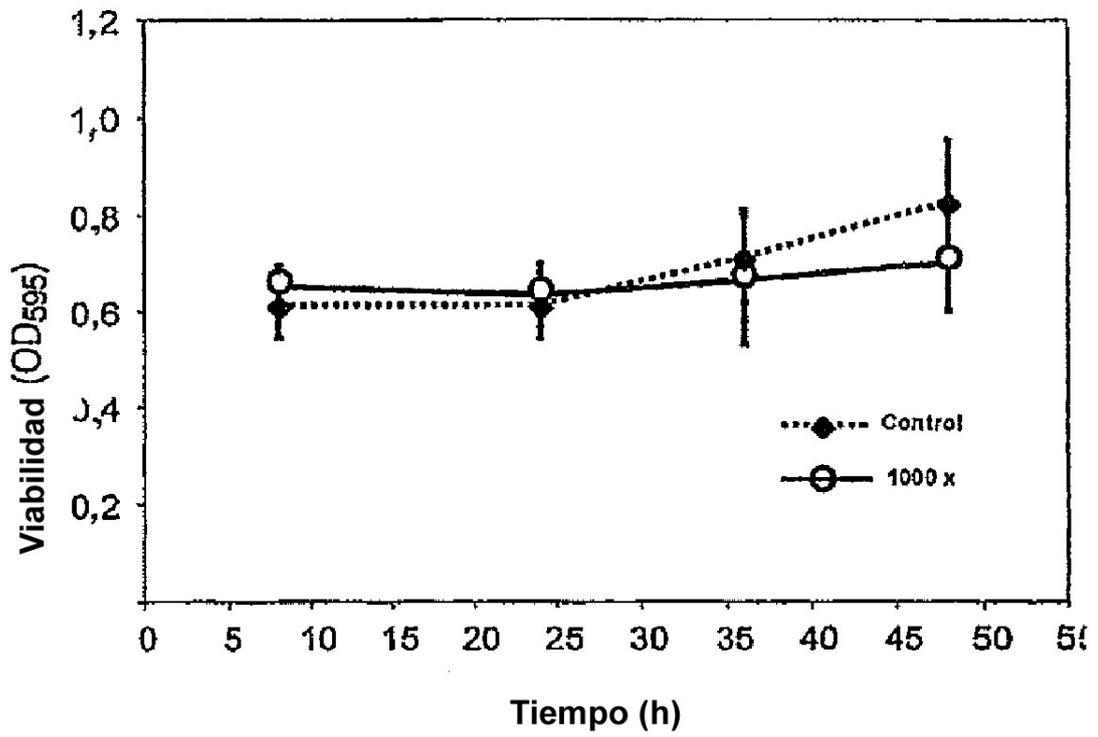


FIGURA 17

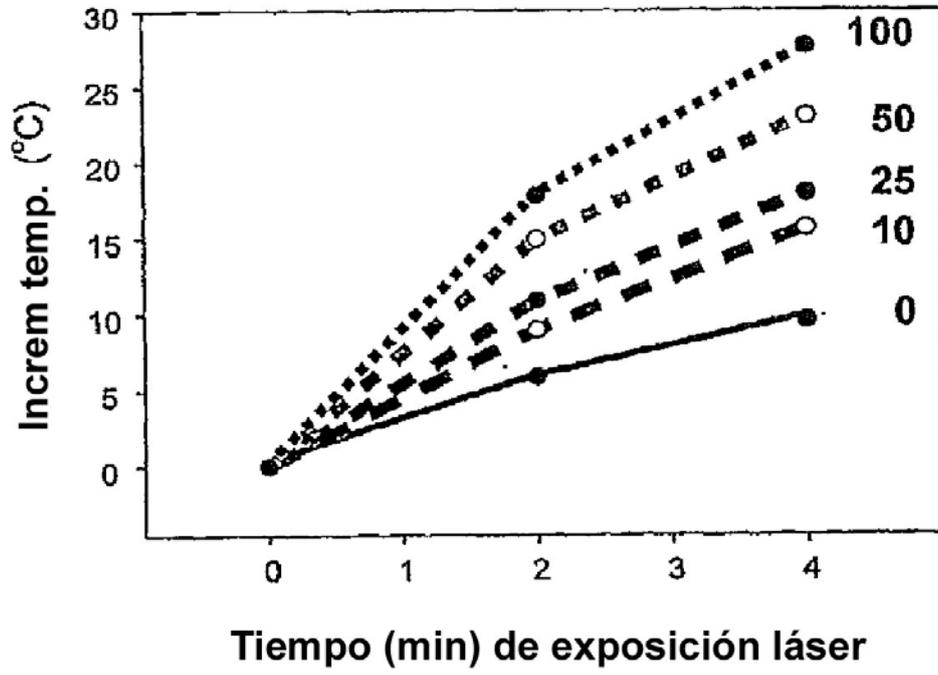


FIGURA 18

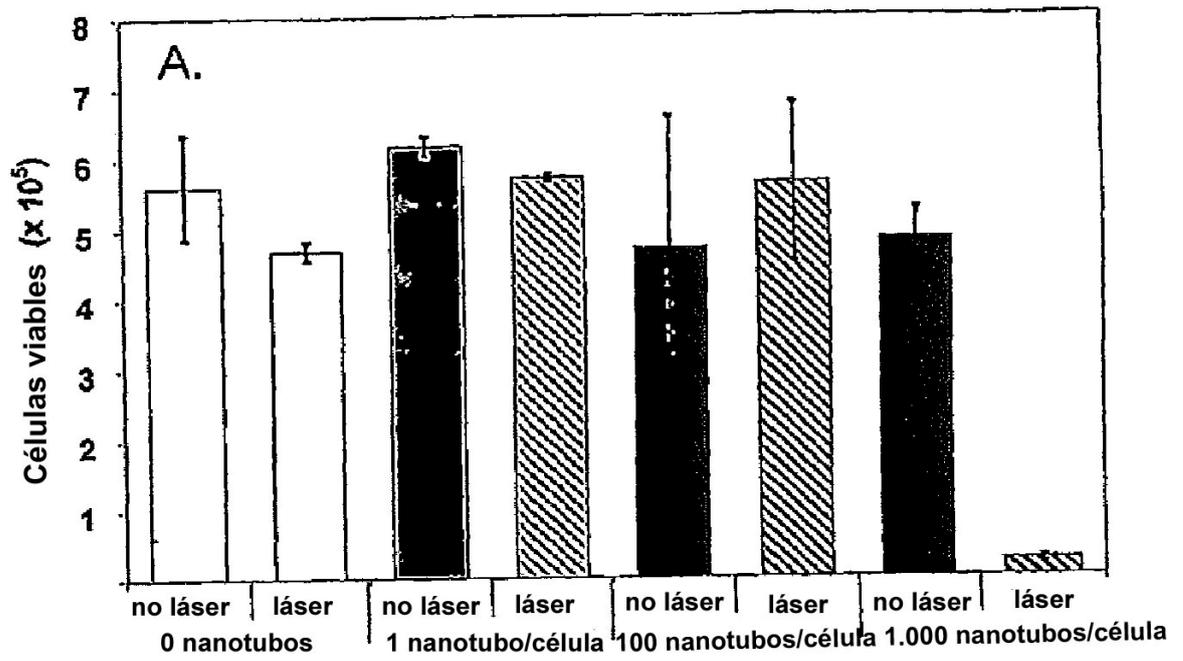


FIGURA 19

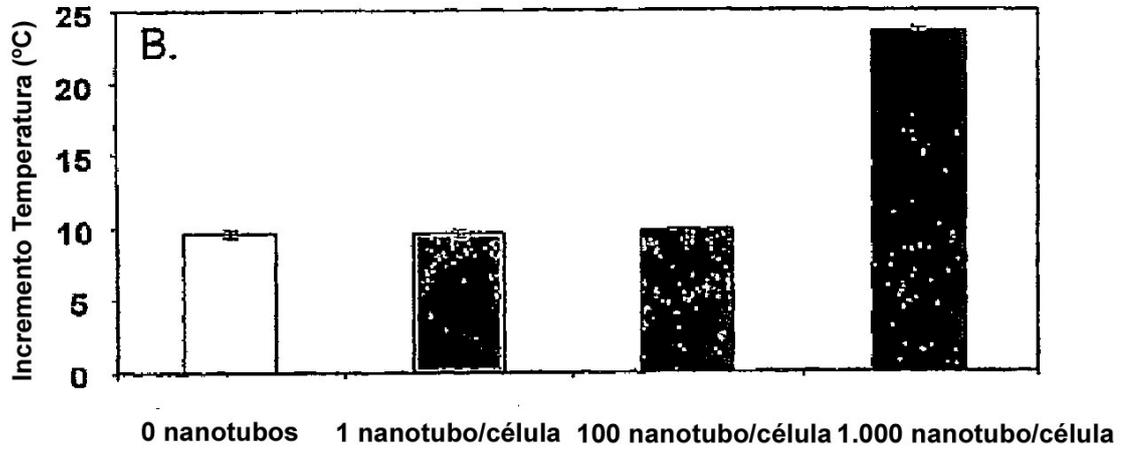


FIGURA 20

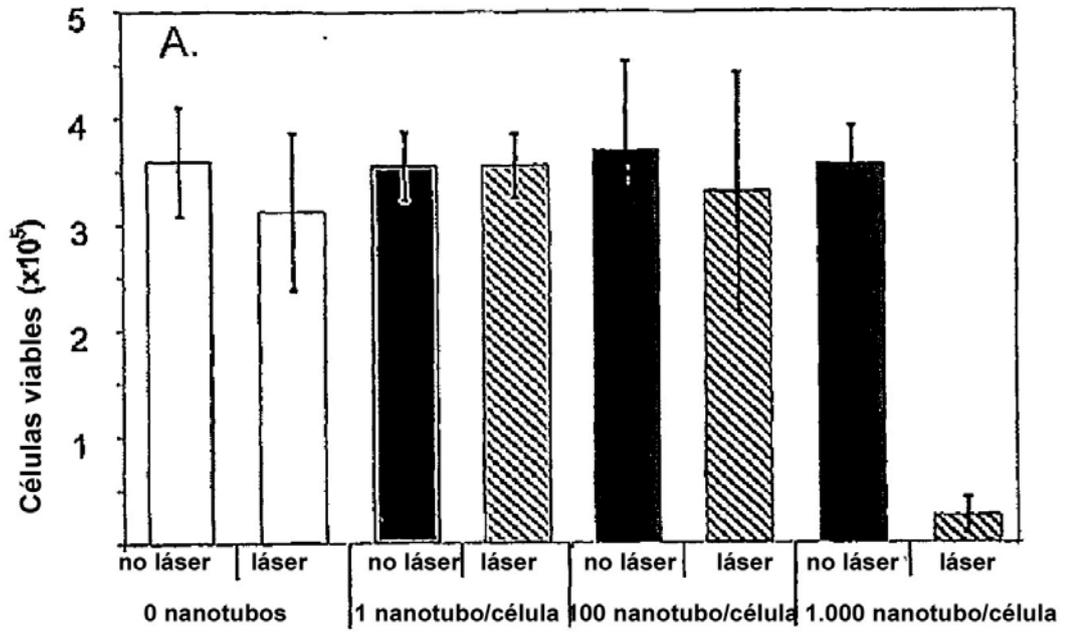


FIGURA 21

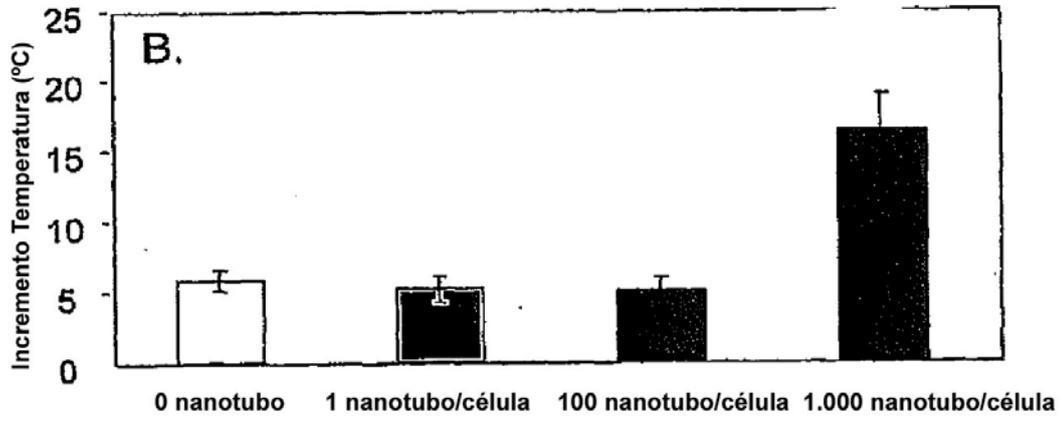


FIGURA 22

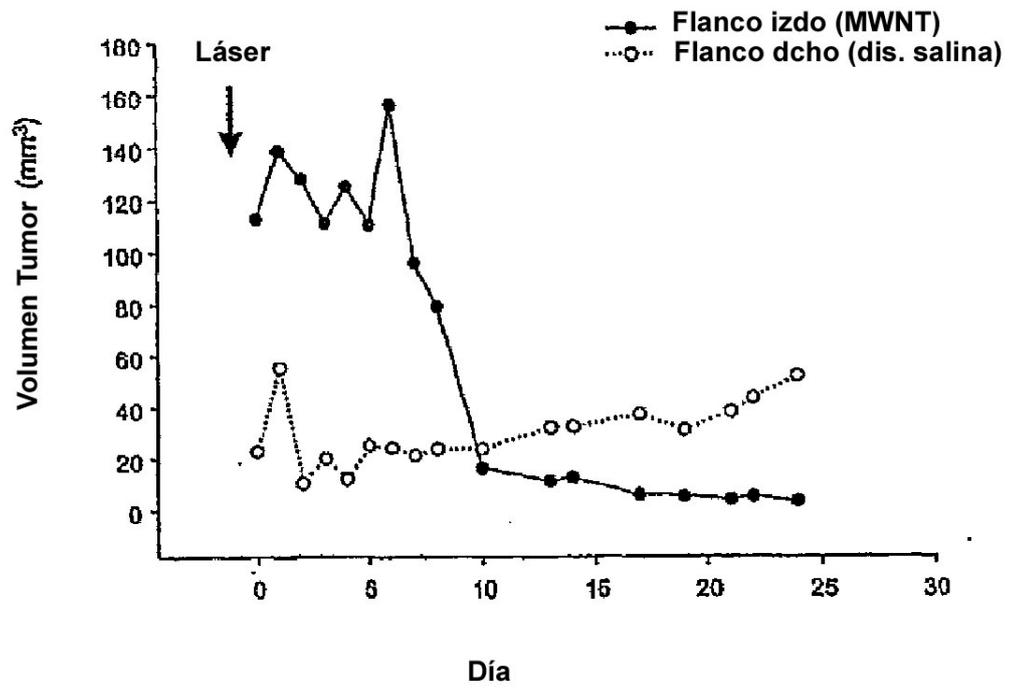


FIGURA23

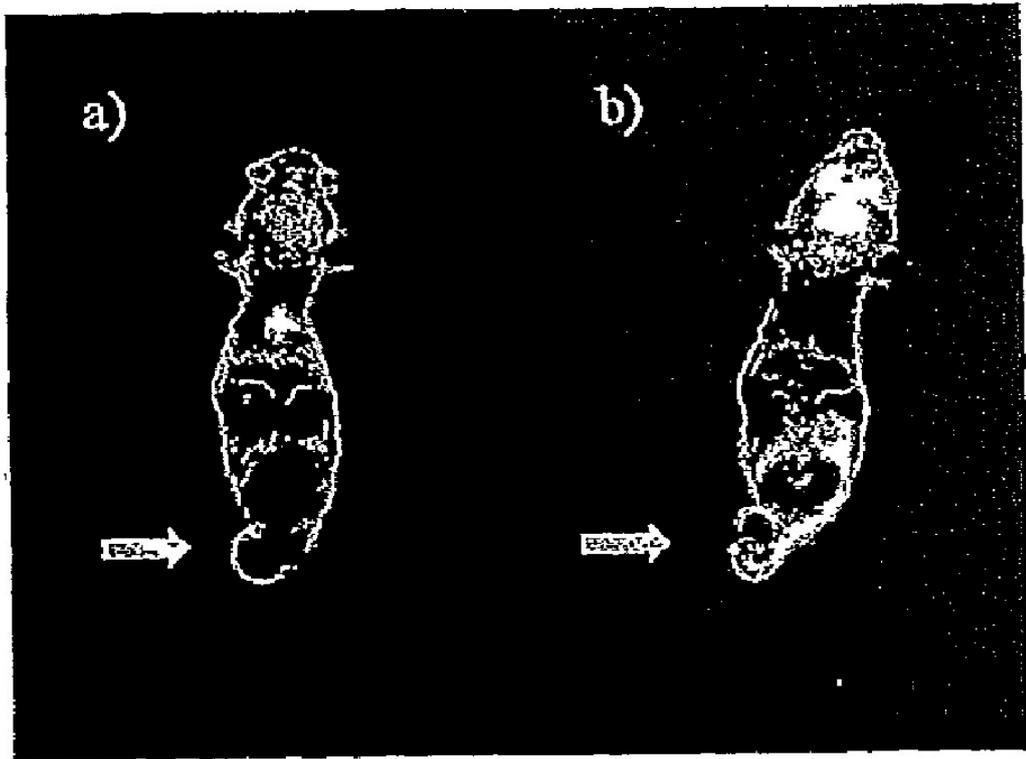


FIGURA 24.