

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 448 499**

51 Int. Cl.:

**C07C 49/92** (2006.01)

**A61K 49/00** (2006.01)

**A61K 51/12** (2006.01)

**A61K 41/00** (2006.01)

**C07C 45/77** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2008 E 08779042 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2013 EP 2178817**

54 Título: **Microesfera que comprende un complejo de metal lantánido orgánico**

30 Prioridad:

**19.07.2007 EP 07112807**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**14.03.2014**

73 Titular/es:

**UMC UTRECHT HOLDING B.V. (50.0%)**

**Yalelaan 40**

**3584 CM Utrecht, NL y**

**STICHTING VOOR DE TECHNISCHE**

**WETENSCHAPPEN (50.0%)**

72 Inventor/es:

**NIJSEN, JOHANNES FRANCISCUS WILHELMUS;**

**BULT, WOUTER y**

**VAN HET SCHIP, ALFRED DIRK**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 448 499 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

Microesfera que comprende un complejo de metal lantánido orgánico

- 5 La invención se relaciona con el campo de la radioterapia y adicionalmente con el diagnóstico.
- 10 Las microesferas de ácido poli (L)-láctico (PLLA) cargadas con holmio-166 radiactivo se han propuesto como un nuevo tratamiento prometedor para las malignidades del hígado a inicios de la década de 1990 [1]. Desde entonces estas microesferas se han estudiado extensamente [2-5]. El holmio-166 ( $^{166}\text{Ho}$ ) es un emisor beta y gamma combinado. Estas microesferas radiactivas tienen propiedades físicas y químicas superiores a las microesferas con itrio-90 [6] disponibles en la actualidad. Las microesferas cargadas con holmio pueden, por ejemplo, fotografiarse directamente usando imágenes nucleares, debido a la radiación gamma que emite el  $^{166}\text{Ho}$ , e imágenes de MR, debido al alto valor paramagnético (valor X) del holmio.
- 15 Las microesferas de PLLA (ácido poli (L)-láctico) cargadas con holmio pueden prepararse mediante la incorporación de acetilacetato de holmio al ácido poli (L)-láctico por vía de la evaporación de solvente. Se cree que la estabilidad de las microesferas obtenidas de esta manera es el resultado de la interacción de los grupos carbonilo del ácido poli (L)-láctico con el ion Ho en el complejo de acetilacetato de holmio [3]. El ácido poli (L)-láctico funciona así como un aglutinante o estabilizador para la formación de las microesferas. No hay indicación de que las microesferas sin aglutinante, o con sólo una pequeña cantidad de aglutinante, serían estables.
- 20 Hay, sin embargo, una desventaja en las microesferas de PLLA cargadas con holmio, debido a que la capacidad de carga de estas microesferas es limitada. La carga promedio de holmio de estas microesferas es de alrededor de 17% (p/p) [3,4].
- 25 La disertación de Zielhuis titulada "Lanthanide bearing radioactive particles for cancer therapy and multimodality imaging" (Universidad de Utrecht, NL, 2006) y la de Nijsen titulada "Radioactive holmium poly(L-lactic acid) microspheres for treatment of liver malignancies" (Universidad de Utrecht, NL, 2001) describen ambas las microesferas de ácido poli (L)-láctico<sub>3</sub>-holmio (acetilacetato) que tienen un contenido de holmio menor que 20 %p usando una cantidad relativamente grande de material aglutinante.
- 30 Mumper y otros (J. Phys. Chem. 1992, 96(21), 8626-8631) describe la encapsulación de complejos de lantánido en microesferas de ácido poliláctico. Este documento enseña que se requiere la incorporación de complejos de quelatos de  $\beta$ -dicetona con lantánidos en matrices poliméricas biodegradables tales como ácido poliláctico con el fin de utilizar estos complejos como agentes radioterapéuticos.
- 35 Es un objetivo de la presente invención proporcionar microesferas que tienen un contenido sustancialmente mayor de un metal lantánido y que muestran al mismo tiempo una alta estabilidad. Una carga de lantánido más alta, preferentemente una carga de holmio (p/p), daría como resultado un número de ventajas, tales como el tiempo de activación de neutrones más corto y la actividad específica más alta, que a su vez conduciría a una cantidad reducida de microesferas para administrar a los pacientes. Adicionalmente, una carga de lantánido más alta resultará en señales de MRI más altas y así mejores.
- 40 Sorprendentemente, ahora se ha encontrado que las microesferas altamente estables con un alto contenido de metal lantánido pueden prepararse usando un compuesto orgánico de metal lantánido, mientras que no es necesario usar aglutinante o sólo cantidades muy pequeñas de aglutinante tal como ácido poli (L)-láctico.
- 45 En consecuencia, la presente invención se relaciona con una microesfera que comprende un complejo de metal lantánido orgánico en donde el metal lantánido está presente en una cantidad mayor que 20 %p, basado en la microesfera total, y en donde la cantidad de matriz de polímero en la que puede incorporarse el complejo de metal es menor que 1 %p, basado en la microesfera total.
- 50 La reducción del material aglutinante sorprendentemente no conduce a la desintegración de las microesferas. Por el contrario, las microesferas de acuerdo con la presente invención son altamente estables y contienen una alta cantidad de lantánido, mientras que no se necesita aglutinante o, si alguno, sólo cantidades muy pequeñas de aglutinante.
- 55 En el contexto de la presente invención un aglutinante para una microesfera que comprende un complejo de metal se define como una matriz de polímero en la que puede incorporarse el complejo de metal, por lo que el aglutinante sirve para estabilizar y formar la microesfera.
- 60 Si se usa cualquier ácido poli (L)-láctico como el aglutinante este está de manera adecuada presente en una cantidad menor que 1 %p, basado en la microesfera total.

De manera adecuada, el metal lantánido a usar de acuerdo con la presente invención está presente en una cantidad mayor que 22 %p, basado en la microesfera total.

5 De acuerdo con la presente invención puede usarse cualquiera de los metales lantánidos. De manera adecuada, el metal lantánido comprende holmio, gadolinio, disprosio, lutecio, samario o itrio.

Preferentemente, el metal lantánido comprende holmio, lutecio, gadolinio o itrio.

10 Con mayor preferencia, el metal lantánido es holmio o itrio.

Con la máxima preferencia, el metal lantánido es holmio.

15 De manera adecuada, el metal lantánido está presente en una cantidad menor que 60 %p, basado en la microesfera total.

15 Preferentemente, el metal lantánido está presente en una cantidad en el intervalo de 25-60 %p, basado en la microesfera total.

20 Cuando el metal lantánido es itrio, el lantánido está preferentemente presente en una cantidad en el intervalo de 22-35 %p, con mayor preferencia en el intervalo de 25-30 %p, basado en la microesfera total.

Con mayor preferencia, cuando el metal lantánido no es itrio este está presente en una cantidad en el intervalo de 30-60 %p, basado en la microesfera total.

25 Aún con mayor preferencia, cuando el metal lantánido no es itrio este está presente en una cantidad en el intervalo de 35-55 %p, basado en la microesfera total.

Con la máxima preferencia, cuando el metal lantánido no es itrio este está presente en una cantidad en el intervalo de 40-50 %p, basado en la microesfera total.

30 La diferencia entre las cantidades a ser usadas en caso de que el metal lantánido es itrio o el metal lantánido es otro tipo de metal lantánido se debe a la diferencia entre la masa atómica respectiva del itrio y los otros metales lantánidos respectivos.

35 Tales cantidades altas de metal lantánido son muy sorprendentes porque sobre la base de cálculos químicos en el material de partida a ser usado se esperaría obtener una microesfera que contuviera mucho menos metal lantánido.

El complejo de metal lantánido orgánico de acuerdo con la presente invención comprende un ion lantánido correspondiente y una serie de moléculas orgánicas con la que el ion forma el complejo.

40 De manera adecuada, las moléculas orgánicas pertenecen a los compuestos de betadicarbonilo que exhiben tautomería ceto-enólica.

Preferentemente, las moléculas orgánicas son acetilacetato, 2,4-heptanodiona, y 2 (acetacetoxietil) metacrilato.

45 Con la máxima preferencia, las moléculas orgánicas son acetilacetato.

Las moléculas orgánicas en el complejo de metal lantánido orgánico son preferentemente todas iguales.

50 De manera adecuada, la microesfera no comprende otro compuesto orgánico adicionalmente a las moléculas orgánicas.

Preferentemente, la microesfera de acuerdo con la presente invención es una microesfera.

Preferentemente, la microesfera de acuerdo con la presente invención se ha fabricado radiactiva.

55 La presente invención se relaciona además con un polvo que comprende un número de microesferas de acuerdo con la presente invención.

La microesfera de acuerdo con la presente invención puede usarse muy atractivamente en aplicaciones terapéuticas.

60 De manera adecuada, la microesfera de acuerdo con la invención es una microesfera radiactiva.

- 5 Las microesferas radiactivas contienen un elemento radiactivo que emite radiación adecuada para el diagnóstico y/o terapia. Los radionúclidos se (rápidamente) descomponen (vida media de unos pocos minutos a unas pocas semanas) en, generalmente, un núcleo estable después de emitir radiaciones ionizantes. Los tipos más comunes de radiación ionizante son (1) las partículas alfa, (2) las partículas beta es decir los electrones que se emiten desde el núcleo atómico, y (3) los rayos gamma ( $\gamma$ ) y los rayos X. Para fines terapéuticos, se aplican los radionúclidos que emiten radiación beta ( $\beta$ ) o de electrones, y en algunas aplicaciones excepcionales, radiación alfa ( $\alpha$ ). La radiación  $\beta$  dañará el ADN en la célula lo que resulta en la muerte celular.
- 10 Frecuentemente el radionúclido está unido a un material portador que tiene una función o tamaño específicos que traen al radionúclido a un órgano o tejido específico. El diseño de estos compuestos portadores se basa únicamente en la función fisiológica del tejido u órgano diana. Este material portador es frecuentemente un compuesto endógeno, que está naturalmente presente en el cuerpo humano. Los compuestos portadores de la invención son las moléculas orgánicas en caso de que el aglutinante esté ausente. Las moléculas orgánicas en sí mismas y el metal lantánido forman el complejo de
- 15 metal lantánido orgánico y así la microesfera. Si se añade una pequeña cantidad de aglutinante después este compuesto ayudará en la formación de la microesfera. Las microesferas de la invención se adaptarán en diámetro y composición para su aplicación específica.
- 20 La imagen nuclear es extremadamente sensible a las anomalías en la estructura o la función del órgano. Los compuestos de diagnóstico radiactivos pueden identificar anomalías tempranas en la progresión de una enfermedad, mucho antes de que se pongan de manifiesto los problemas clínicos. Por otra parte, los radiofármacos comprenden la capacidad única de que pueden proporcionar una opción de tratamiento mediante el intercambio del núcleo de diagnóstico por uno terapéutico pero usando el mismo portador. En la mayoría de los lantánidos sólo tiene que aumentarse la radiactividad del radiofármaco ya que estos radionúclidos emiten frecuentemente tanto radiación  $\gamma$  como  $\beta$  para el diagnóstico y la terapia, respectivamente. La distribución y la vida media biológica del compuesto terapéutico específico son entonces en su mayoría muy similares a la del compuesto de diagnóstico. Por ejemplo el uso de microesferas de  $^{166}\text{Ho}$  para aplicación de diagnóstico en una dosis de tamizaje contendrá típicamente 100-500 MBq y para el tratamiento de diferentes tipos de tumores, por ejemplo carcinoma hepatocelular (HCC), metástasis hepáticas, metástasis óseas, una dosis de hasta 16 GBq.
- 25
- 30 La presente invención proporciona además una composición terapéutica que comprende una microesfera radiactiva o un polvo radiactivo de acuerdo con la presente invención. Dicha composición terapéutica adecuada puede presentarse en la forma de una suspensión antes de que se administre a un individuo. Tales composiciones terapéuticas tienen la ventaja de que requieren un tiempo de activación de neutrones más corto y que muestran una mayor actividad específica. Adicionalmente, se necesita una cantidad reducida de microesferas para administrar a los pacientes.
- 35
- 40 Dicha microesfera de la presente invención se puede generar directamente mediante un componente radiactivo, tal como holmio radiactivo. Preferentemente sin embargo, una microesfera no radiactiva de la invención se genera primero, seguido por la irradiación de dicha microesfera que disminuye la exposición innecesaria del personal a la radiación. Esto puede evitar el uso de altas dosis de componentes radiactivos y la necesidad de instalaciones especialmente equipadas (expansivas), tales como instalaciones de celdas calientes y transporte.
- 45
- 50 Dichas microesferas de la presente invención pueden usarse para la visualización de lesiones benignas en la esclerosis tuberosa por MRI. Dichas microesferas se usan sin que se hagan después más radiactivas por medio de irradiación de neutrones.
- 55
- 60 En una modalidad de la presente invención, la composición terapéutica de la presente invención comprende una microesfera de la presente invención donde la microesfera se proporciona con al menos un compuesto terapéuticamente activo, por ejemplo capaz de tratar un tumor. Dicha composición terapéutica es por ejemplo capaz de tratar un tumor de forma simultánea por radioterapia y con una acción terapéutica de dicho compuesto terapéuticamente activo.
- Se describe además una composición terapéutica no radiactiva de la presente invención, que comprende una microesfera no radiactiva de la presente invención que se proporciona con al menos un compuesto terapéuticamente activo, por ejemplo, capaz de tratar un tumor.
- De manera adecuada, la microesfera de acuerdo con la presente invención tiene un diámetro en el intervalo de 20 nm a 300  $\mu\text{m}$ .
- En una modalidad particular de la presente invención, la microesfera tiene un diámetro en el intervalo de 20 nm a 1000 nm, preferentemente en el intervalo de 20 nm a 200 nm. Tales microesferas pueden usarse atractivamente como terapéutico local y adicionalmente para propósitos de diagnóstico. Para propósitos como terapéutico local, la(s) microesfera(s) pueden

entregarse De manera adecuada localmente a través de un catéter o por medio de inyección directa, mientras que para propósitos de diagnóstico la(s) microesfera(s) pueden introducirse en el cuerpo de un individuo a través de la administración parenteral, por ejemplo, a través de inyección, infusión, etc.

5 La microesfera de acuerdo con la presente invención puede prepararse mediante el uso de diferentes tipos de procesos. Los procesos de preparación adecuados incluyen procesos de evaporación de solvente, los procesos de extracción de solventes, procesos de secado por pulverización, y procesos de impresión con inyección de tinta. Preferentemente, se hace uso de un proceso de evaporación de solvente.

10 Por lo tanto, la presente invención se relaciona además con un método para preparar una microesfera de acuerdo con la presente invención o un polvo de acuerdo con la presente invención, que comprende las etapas de:

- (a) disolver un compuesto orgánico de metal lantánido en un solvente orgánico;
- (b) emulsionar esta fase orgánica en una solución acuosa que comprende un emulsionante
- 15 (c) agitar, y opcionalmente calentar, la emulsión obtenida en la etapa (b) de manera de reducir el volumen de la emulsión por evaporación de la menos parte del solvente orgánico, y obtener así una mezcla; y
- (d) recuperar de la mezcla obtenida en la etapa (c) la microesfera o el polvo.

20 Los emulsionantes adecuados incluyen alcohol polivinílico (PVA), poloxámeros (Pluronic<sup>®</sup>), Tween 80, fosfatidil-colina de huevo, sacarosa, etc.

La presente invención proporciona además una suspensión que comprende una microesfera o un polvo de acuerdo con la presente invención.

25 La suspensión de acuerdo con la presente invención comprende De manera adecuada una suspensión de exploración, mediante el cual la(s) microesfera (s) es(son) capaces de al menos en parte perturbar un campo magnético. Dicha(s) microesfera(s) puede(n) detectarse por un método de exploración no radiactivo tal como formación de imágenes por resonancia magnética (MRI). Preferentemente dicha suspensión de exploración comprende una suspensión de exploración de MRI o una suspensión de exploración nuclear.

30 Una suspensión de acuerdo con la presente invención comprende de manera adecuada microesfera(s) de la(s) cual(es) la composición es capaz de mantener esencialmente su/sus estructura(s) durante la activación de neutrones.

35 La formación de imágenes por resonancia magnética (MRI) proporciona información del estado interno de un individuo. Frecuentemente se usa un agente de contraste para ser capaces de obtener una imagen de exploración. Por ejemplo las partículas de ferrita y complejos de gadolinio-DTPA (ácido dietilaminotriaminopentaacético) se usan frecuentemente en los medios de contraste para la exploración MRI. De este modo, puede obtenerse una buena impresión de los trastornos internos, como la presencia de un tumor o tumores.

40 Después del diagnóstico; frecuentemente se inicia un tratamiento que involucra la administración de una composición farmacéutica a un paciente. Frecuentemente también es importante monitorear el estado de un paciente durante el tratamiento. Por ejemplo el curso de un tratamiento y la orientación de un fármaco pueden monitorearse, así como también los posibles efectos secundarios que pueden implicar una necesidad de terminar, o interrumpir temporalmente, un tratamiento determinado.

45 A veces se prefiere el tratamiento local en sólo una parte específica del cuerpo. Por ejemplo, el crecimiento del tumor a veces puede contrarrestarse mediante la radioterapia interna que comprende la administración de microesferas radiactivas a un individuo. Si dichas microesferas radiactivas se acumulan dentro y/o alrededor del tumor, es posible el tratamiento local específico.

50 La presente invención se relaciona además con el uso de una microesfera de acuerdo con la presente invención para la preparación de una suspensión de exploración. Preferentemente, la imagen de la exploración obtenida mediante el uso de la presente microesfera o presente polvo es una imagen de exploración MR o una imagen de exploración nuclear. En esta solicitud el significado de la palabra suspensión tiene que entenderse como que al menos incluye las dispersiones.

55 Una suspensión de exploración de la presente invención es adecuada para determinar un comportamiento de flujo de una microesfera.

60 Una suspensión de exploración de la presente invención es además adecuada para detectar un sitio de angiogénesis. Un sitio de angiogénesis puede detectarse mediante la determinación del comportamiento de flujo de la(s) microesfera(s) de

acuerdo con la presente invención. Típicamente, la microesfera tiene un diámetro de aproximadamente 3-5  $\mu\text{m}$  para dicha aplicación.

5 Por lo tanto, la presente invención proporciona además el uso de la microesfera de acuerdo con la presente invención para detectar un sitio de angiogénesis,

Una suspensión de exploración de la invención es además muy adecuada para detectar una malignidad, por ejemplo, un tumor. Preferentemente, dicho tumor comprende una metástasis de hígado.

10 Por lo tanto, la presente invención proporciona además el uso de una microesfera de acuerdo con la presente invención para detectar una malignidad, tal como, un tumor. Tal tumor puede detectarse sin necesidad de usar material radiactivo. Alternativamente, las microesferas con baja radiactividad pueden usarse. Después que se detecta un tumor, el tumor puede tratarse con una composición terapéutica de acuerdo con la presente invención que comprende el mismo tipo de microesferas que dicha suspensión de exploración. En una composición terapéutica de este tipo, sin embargo, dichas microesferas preferentemente se hacen (más) radiactivas. A pesar de la diferencia en la radiactividad, las microesferas de la composición de diagnóstico para detectar el tumor y las microesferas de dicha composición terapéutica pueden ser químicamente las mismas.

20 También se describe un método para la detección de una malignidad, por ejemplo, un tumor, que comprende

- administrar a un individuo una suspensión de exploración que comprende una microesfera de acuerdo con la presente invención que es capaz de al menos en parte perturbar un campo magnético;
- obtener una imagen de exploración; y
- determinar si dicha imagen revela la presencia de un tumor.

25 En otra modalidad atractiva de la presente invención, una microesfera de la presente invención tiene un diámetro en el intervalo de 15-200  $\mu\text{m}$ , más específicamente en el intervalo de 15-100  $\mu\text{m}$ , aun más específicamente en el intervalo de 20-100  $\mu\text{m}$ , y con la máxima preferencia en el intervalo de 20 a 50 o en el intervalo de 80-100  $\mu\text{m}$ . Una microesfera de dichas dimensiones es muy adecuada para fines radioterapéuticos. Tal microesfera comprende un diámetro suficientemente grande como para permitir que dicha microesfera se aloje dentro de las arteriolas. La presente invención se relaciona además con el uso de una microesfera de acuerdo con la presente invención, en donde la microesfera tiene un diámetro en el intervalo de 20-100  $\mu\text{m}$ , para embolizar un vaso sanguíneo. Cuando se usan microesferas relativamente grandes, por ejemplo en el intervalo de 50-200  $\mu\text{m}$ , la embolización de los tumores, por ejemplo cáncer de hueso y tumores debido a la esclerosis tuberosa, es posible. Cuando se hace uso de microesferas que tienen un diámetro en el intervalo de 50 a 200  $\mu\text{m}$ , la embolización de los vasos sanguíneos que conducen a dicho tumor puede conducir a un retraso del crecimiento del tumor.

30 Como resultará claro a partir de lo anterior, el tamaño de la microesfera, de acuerdo con la presente invención puede variar considerablemente, dependiendo del uso particular que se pretende. El experto entenderá que el tamaño deseado de las microesferas puede obtenerse mediante el ajuste de las condiciones relevantes del proceso en el proceso de evaporación de solvente como se describió anteriormente.

40 En aún otra modalidad de la presente invención, una microesfera de la presente invención se administra a una microesfera o complejo de interés.

45 Preferentemente, tal microesfera o complejo de interés comprende una microesfera o complejo con una función deseada que esta puede realizar dentro de un organismo.

50 Con mayor preferencia, tal microesfera o complejo de interés comprende un orgánulo o célula de un organismo. Con la máxima preferencia, tal microesfera o complejo de interés comprende un liposoma o un glóbulo blanco. Después de la administración de una microesfera de la invención a una microesfera o complejo de interés, la microesfera o complejo de interés pueden detectarse mediante un método de exploración tal como MRI. De esta manera puede detectarse una presencia y/o migración de la microesfera o complejo de interés. Por ejemplo, un liposoma es útil para entregar un ácido nucleico de interés a un sitio adecuado para la terapia génica. Si a ese liposoma se le proporcionan las microesferas de la presente invención puede determinarse dónde dicho liposoma está presente dentro de un organismo. Después puede estimarse si un ácido nucleico de interés se entrega a un sitio deseado. Como otro ejemplo, después de la administración de una microesfera de la presente invención a un glóbulo blanco, la migración de dicho glóbulo blanco a un sitio de inflamación, o a un tumor, puede detectarse usando un método de exploración tal como la MRI.

60 Se describe además el uso de una microesfera de la presente invención para detectar una presencia y/o migración de una microesfera o complejo de interés.

Resultará claro a partir de lo anterior que la suspensión de acuerdo con la presente invención puede usarse tal como una composición terapéutica y/o composición de diagnóstico. Adicionalmente, dicha suspensión puede usarse para la preparación de una composición de diagnóstico.

5

Preferentemente, tal suspensión es prácticamente no radiactiva.

Preferentemente, la presente microesfera es biodegradable, lo que permite la degradación en un cuerpo animal después de usarla, por ejemplo para radioterapia y/o MRI.

10

Adicionalmente, la presente invención proporciona el uso de una microesfera de la presente invención para la preparación de una composición terapéutica radiactiva. Adicionalmente, la presente invención proporciona el uso de una microesfera de acuerdo con la presente invención para la preparación de una composición de diagnóstico.

15

En términos de la presente invención, un individuo se refiere a un animal, preferentemente un humano.

Preferentemente, la microesfera de acuerdo con la presente invención es paramagnética, por ejemplo que comprende holmio, gadolinio y/o disprosio.

20

Se describe además un método para tratar un individuo que padece de una malignidad, por ejemplo un tumor, que comprende:

- administrar a dicho individuo una suspensión de exploración que comprende una microesfera que es capaz de al menos en parte perturbar un campo magnético;
- obtener una imagen de exploración de dicho individuo;
- determinar la distribución de dicha microesfera dentro de dicho individuo;
- administrar a dicho individuo una composición terapéutica que comprende dicha microesfera.

25

Dicha microesfera en dicha composición terapéutica es más radiactiva que dicha microesfera en la suspensión de exploración, y/o se proporciona con al menos un compuesto terapéuticamente activo.

30

La composición terapéutica radiactiva de acuerdo con la presente invención es particularmente adecuada para el tratamiento de un tumor del hígado, por ejemplo una metástasis de hígado.

35

Por supuesto, otros tipos de tumores además pueden ser tratados al alojar una microesfera de la presente invención en un vaso sanguíneo.

Se describe además un método para preparar una composición terapéutica para el tratamiento de una malignidad, por ejemplo, un tumor, que comprende las etapas de:

40

- en una primera etapa obtener una imagen de exploración, más específicamente una imagen de MRI o nuclear de una persona a la que se administra una suspensión de exploración de la presente invención;
- en una segunda etapa preparar una suspensión terapéutica para el tratamiento de un tumor, usando microesferas con prácticamente la misma estructura química como dichas microesferas en dicha suspensión de exploración, donde las microesferas se hacen más radiactivas que dichas microesferas en dicha suspensión de exploración.

45

En una modalidad una cantidad de microesferas se prepara antes de obtener dicha imagen de exploración, en donde una primera parte de dicha cantidad de microesferas se usa para preparar dicha suspensión de exploración y una segunda parte de dicha cantidad de microesferas se usa para preparar dicha suspensión terapéutica.

50

La presente invención proporciona además un método para obtener una imagen de exploración, que comprende administrar una suspensión de exploración a un individuo y generar subsecuentemente una imagen de exploración del individuo, en donde la suspensión de exploración comprende una suspensión de exploración de acuerdo con la presente invención.

55

Los ejemplos siguientes están destinados a ilustrar la presente invención.

### **Ejemplos**

Materiales

60

Todos los productos químicos están disponibles comercialmente y se usaron tal como se obtuvieron. Acetilacetona, 2,4-pentanediona (AcAc; >99.9%), cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ; grado-HPLC), etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ; absoluto, Ph. Eur.), hidróxido de amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ; 29.3% en agua), pentóxido de fósforo (Sicapent®) y Pluronic F68® ( $\text{PEO}_{100}\text{PPO}_{65}\text{PEO}_{100}$ ; PM 9 840-14 600) se suministraron por Sigma Aldrich (Steinheim, Alemania). El cloruro de holmio (III) hexahidrato ( $\text{HoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 99.9%) se adquirió de Metall Rare Earth Ltd (Shenzhen, China).

### Ejemplo 1

#### Preparación del complejo de acetilacetato de holmio

El complejo de acetilacetato de holmio ( $\text{HoAcAc}$ ) se preparó como se describió previamente [2-5]. En resumen, 10 gramos de cloruro de holmio se disolvieron en agua y se añadieron a una solución acuosa de acetilacetato (16.6% p/p). El pH de la solución de acetilacetato se ajustó a  $\text{pH} = 8.5$  con hidróxido de amonio. Los cristales de acetilacetato de holmio se formaron a temperatura ambiente en 24 horas. Los cristales se recogieron y se lavaron tres veces con agua, y se secaron sobre Sicapent® bajo un flujo constante de nitrógeno por 48 horas.

#### Preparación de las microesferas de acetilacetato de holmio

Las microesferas de acetilacetato de holmio (MS  $\text{HoAcAc}$ ) se prepararon mediante el uso de la técnica de evaporación de solvente descrita previamente [2]. 10 gramos de cristales de acetilacetato de holmio se disolvieron en 186 gramos de cloroformo y se añadieron a una solución acuosa de PVA (2%). La solución se agitó continuamente bajo un flujo constante de nitrógeno, para evaporar el cloroformo. Después de 40 horas las microesferas formadas se recogieron mediante centrifugación y se lavaron con agua. Las microesferas lavadas se tamizaron usando un sistema de tamizado en húmedo que comprende un vibrador de tamiz electrónico (EMS 755) y un procesador de ultrasonidos (UDS 751), adquirido de Topaz GmbH, Dresden, Alemania. Las microesferas se secaron a temperatura ambiente seguidas por secado a  $50^\circ\text{C}$  por 48 horas. Después de secar, la distribución de tamaño de las fracciones tamizadas se determinó mediante el uso de un contador Coulter (Multisizer 3, Beckman Coulter, Mijdrecht, Países Bajos), con un orificio de  $100\ \mu\text{m}$ . Las microesferas se suspendieron en una solución acuosa que contenía 1% de Pluronic y 10% de etanol (ambos en p/p). Se realizó la microscopía de luz para evaluar el carácter esférico de las microesferas.

#### Determinación del contenido de holmio en MS $\text{HoAcAc}$

El contenido de holmio de las microesferas se determinó usando la valoración complejométrica para el aluminio que se ha descrito en la Farmacopea Europea [7]. En resumen, aproximadamente 50 mg de las microesferas secas se pesan con precisión, y se disuelven en  $\text{NaOH}$  1N. A esta solución se añade  $\text{HCl}$  1N y la solución se diluye hasta 50 ml, se añaden 5 gramos de hexametilentetramina y el pH se ajusta a 5, usando  $\text{HCl}$  1N. Se añaden aproximadamente 50 mg de xilenol naranja como un indicador, y la solución se valora después con  $\text{EDTA}$  0.01M, hasta que el color cambia de púrpura a amarillo. Los análisis se realizaron por triplicado.

El contenido de holmio se midió mediante espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (IPC-OES). Las microesferas se pesan y se destruyen a  $100^\circ\text{C}$  con 5 ml de  $\text{NaOH}$  1N, que se evaporó a sequedad. Se añadieron 15 ml de ácido nítrico 2% seguido por una dilución de 1 en 50. Las muestras se introdujeron en un Optima 4300 CV (PerkinElmer, Norwalk, Estados Unidos) y la absorbancia se midió a tres longitudes de onda diferentes (345.600, 339.898 y  $347.426\ \text{nm}$ ) para determinar con precisión el contenido de holmio.

#### Irradiación de neutrones de las MS $\text{HoAcAc}$

La estabilidad de las microesferas de acetilacetato de holmio se ensayó en un reactor nuclear después de la irradiación. Las irradiaciones de neutrones se realizaron en el sistema neumático de cápsulas de irradiación en la instalación del reactor en Delft (Departamento de radiación, radionúclidos y reactores, Universidad Tecnológica de Delft, Delft, Países Bajos). El sistema neumático de cápsulas de irradiación en el reactor es un medio de entrega de las microesferas a una posición en el reactor, donde hay una gran abundancia de neutrones, y se produce la activación de neutrones. Aproximadamente 100 mg de las muestras se pesaron con precisión en viales de polietileno (Posthumus Plastics, Beverwijk, Países Bajos), y estas muestras se irradiaron por tres horas con un flujo de neutrones térmicos de  $5 \times 10^{12}\ \text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Después de un mes de desintegración radiactiva se examinaron las microesferas mediante microscopía de luz (LM). La distribución de tamaño de las muestras irradiadas se determinó mediante el uso de Multisizer-3.

#### Características superficiales de MS $\text{HoAcAc}$

Las características superficiales de las MS HoAcAc (tanto irradiadas con neutrones como no irradiadas) se estudiaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), usando un Philips XL30 FEGSEM. Se aplicó un voltaje de 5 kV. Las muestras de los diferentes lotes se montaron en resguardos de aluminio y se recubrieron con una capa de 10 nm de Pt/Pd.

#### 5 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

10 Las mediciones de calorimetría diferencial de barrido moduladas se realizaron por duplicado con un Q1000 DSC (TA Instruments, Estados Unidos). Aproximadamente una muestra de cinco mg se transfirió a un recipiente de aluminio. La amplitud de la modulación se ajustó a 1 °C cada 60 segundos. Las muestras se calentaron con una velocidad de calentamiento de 2 °C/min de 20 a 220 °C, después se enfriaron a 20 °C a una velocidad de enfriamiento de 2 °C/min. Después de eso las muestras se calentaron a 250 °C con una velocidad de calentamiento de 2 °C/min. Las exploraciones se analizaron usando el programa informático Universal Analysis 2000 (versión 3.9A).

#### 15 Espectroscopía Raman

20 La espectroscopía Raman se realizó para estudiar los ligandos acetilacetato que rodean al ion Ho en los cristales de HoAcAc y las microesferas de HoAcAc. Las mediciones se llevaron a cabo en un espectrómetro Kaiser RXN equipado con un láser de diodo de 70 mW 785 nm para la excitación, una rejilla holográfica para la dispersión y una cámara fría CCD Andor Peltier para la detección. Los espectros se registraron en las muestras a temperatura ambiente. La resolución de píxeles del detector fue de aproximadamente 2 cm<sup>-1</sup> y se acumularon 10 exploraciones para un espectro en un tiempo de exposición de 3 segundos por exploración.

### Resultados

#### 25 Preparación de microesferas de acetilacetato de holmio

30 El rendimiento de la técnica de evaporación de solvente fue de alrededor de 30% del material acetilacetato de holmio de partida, lo que está de acuerdo con la literatura [2,3,5,8,9]. El tamaño medio fue de alrededor de 17 micrómetros. Las microesferas eran esféricas y se mantuvieron esféricas después de la irradiación (Fig. 1a, b).

#### Determinación del contenido de holmio

35 Las microesferas de acetilacetato de holmio contenían 45 ± 0.5% de Ho (p/p), lo que es altamente inesperado ya que podría esperarse un contenido de holmio de 31.9 % (p/p) sobre la base de cálculos químicos del material de partida. No hubo diferencia entre los dos métodos para determinar el contenido de holmio. La Tabla 1 muestra una comparación entre la composición elemental teórica y medida de los cristales de HoAcAc y la composición medida de las microesferas de HoAcAc (en % p/p). La cantidad teórica se calcula como sigue.

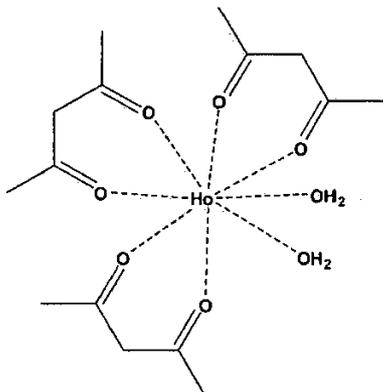
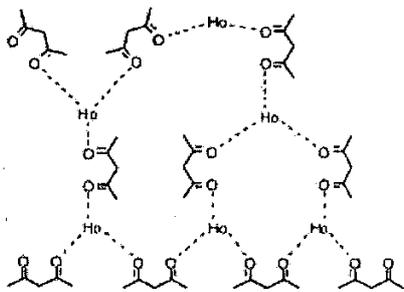
$$40 \quad \frac{\text{número de átomos de holmio} \times \text{masa de un átomo de holmio}}{\text{peso molecular total}} \times 100 \%$$

45

50

55

Tabla 1.

	microcristales de HoAcAc	microesferas de HoAcAc	
	Ho(AcAc) <sub>3</sub> ·3H <sub>2</sub> O	Ho <sub>2</sub> (AcAc) <sub>3</sub> ·4H <sub>2</sub> O	
	 <p>Estructura de los cristales de HoAcAc</p>	 <p>Interacciones propuestas de AcAc con Ho dentro de las microesferas de HoAcAc</p>	
Elemento	Teórico	Medido	Medido
C	34.9	36.5	27.0
H	5.3	5.0	3.8
O	27.9	27.1	24.2
Ho	31.9	31.2	45.0

#### Irradiación de neutrones de las microesferas de acetilacetato de holmio

5

Aproximadamente 100 mg de las muestras se pesaron con precisión en viales de polietileno (Posthumus Plastics, Beverwijk, Países Bajos), y estas muestras se irradiaron por tres horas con un flujo de neutrones térmicos de  $5 \times 10^{12} \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  resultando en 3.7 GBq de actividad (fin de los bombardeos). La inspección de las microesferas mediante LM después de la irradiación no mostró ningún daño por irradiación de las microesferas. La superficie de las microesferas se estudió más extensamente mediante SEM.

10

El tamaño de las microesferas se determinó antes y después de la irradiación y se compararon los datos (ver figuras 3 a, b). El gráfico indica que la irradiación no tiene un efecto sobre la distribución del tamaño de las microesferas.

#### Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Los termogramas de los cristales de HoAcAc y las MS de HoAcAc son claramente diferentes, la temperatura de fusión  $T_m$  se desplazó 130 °C para los cristales de HoAcAc a 190 °C para la MS de HoAcAc. La entalpía de fusión está de acuerdo con los datos reportados en la literatura [3].

20

#### Espectroscopía Raman

Los espectros Raman de los cristales de HoAcAc y las microesferas de HoAcAc fueron comparables (Fig.4). Esto implica que el holmio está rodeado de acetilacetato tanto en los cristales de HoAcAc como en las microesferas de HoAcAc. Estos resultados están de acuerdo con los resultados de las mediciones infrarrojas (datos no mostrados). El aumento del contenido de holmio, encontrado mediante análisis elemental, valoración complexométrica e ICP OES sólo puede explicarse por un reordenamiento del acetilacetato alrededor del holmio, sin cambiar la estructura del acetilacetato. Teniendo en cuenta que el holmio está rodeado por ligandos de acetilacetato, hemos deducido a partir de los resultados del análisis elemental que por cada ion holmio probablemente uno y medio de acetilacetato y dos moléculas de agua están presentes en las microesferas de HoAcAc.

30

## Discusión

5 Las micrografías de SEM muestran que las microesferas de HoAcAc estaban intactas después de la irradiación de neutrones, y que la superficie era lisa (Fig. 3. La irradiación de neutrones afectó ligeramente la superficie de las microesferas (Fig. 3b)).

10 Las mediciones de DSC sugieren que después de la formación de las microesferas se reordena el complejo de acetilacetato de holmio, y que uno y un medio de moléculas de acetilacetato dejan el complejo que se comprende de 1 átomo de holmio y tres moléculas de acetilacetato [10]. El complejo así formado es más estable debido a más interacciones, y conducirá a un aumento de la entalpía de fusión. Esto explica además la diferencia en el contenido de holmio en comparación con los cristales de HoAcAc que se ha encontrado mediante valoración complexométrica, análisis elemental y mediciones por ICP-OES.

15 Como será claro a partir de lo anterior, de acuerdo con la presente invención se han producido microesferas que consisten únicamente de acetilacetato de holmio, y que son altamente resistentes a la irradiación de neutrones. Se observa que la carga de estas microesferas no es menor que 45 % de Ho p/p, lo que es más sorprendente como se ha observado antes.

## Ejemplo 2

### 20 Preparación del complejo de acetilacetato de gadolinio

25 El acetilacetato de gadolinio (GdAcAc) se preparó mediante el uso del método previamente descrito por Nijsen y otros para el acetilacetato de holmio [2-3]. En resumen, 166 g de acetilacetona se disolvió en 1 l de agua destilada. El pH de la solución de acetilacetona se ajustó después a 8.50 por adición de hidróxido amónico, e ionizando así la acetilacetona a acetilacetato. Se disolvieron 10 g de cloruro de gadolinio en 40 ml de agua destilada y se añadieron a la solución de acetilacetato, seguido por agitación suave. Después la solución se dejó en reposo durante la noche a temperatura ambiente. Los cristales se recogieron mediante centrifugación (2 000 rpm por 2 min), se lavaron 4 veces con agua destilada y se secaron en dos etapas: primero durante la noche a temperatura ambiente, después durante la noche a 50°C.

### 30 Preparación de microesferas de acetilacetato de gadolinio

35 Las microesferas de acetilacetato de gadolinio se prepararon de la misma manera como se describe en el Ejemplo 1 para las microesferas de acetilacetato de holmio, pero se disolvieron 5 g de GdAcAc en 186 g de cloroformo. Se realizó microscopía de luz para evaluar el carácter esférico de las microesferas. La figura 4 muestra una micrografía de las microesferas de GdAcAc. Las microesferas tenían un tamaño de aproximadamente 10-20 µm. La Figura 5 muestra una micrografía SEM de las microesferas de GdAcAc.

40 El contenido de gadolinio de las microesferas de GdAcAc se determinó de la misma manera como se describe en el Ejemplo 1. El contenido de gadolinio fue 44.4 % (p/p).

### 40 Descripción de las figuras

45 Figura 1. La distribución de tamaños de las microesferas de una fracción de tamiz más grande que 15 µm. La línea continua representa el tamaño de la partícula antes y la línea de puntos representa el tamaño de la partícula después de la activación de neutrones (6 horas).

Figura 2. Micrografía de luz de microesferas recién producidas, antes del tamizaje. Esta micrografía muestra partículas de entre 5 y 25 µm, con un tamaño medio de 15 µm.

50 Figura 3.

- A. Micrografía SEM de microesferas de HoAcAc antes de la irradiación.
- B. Micrografía SEM de microesferas de HoAcAc después de la irradiación.

55 Figura 4 Espectros Raman de microesferas de HoAcAc (línea continua) y cristales de HoAcAc (línea de puntos), que indican la integridad estructural del acetilacetato en ambos los cristales y las microesferas.

Figura 5. Micrografía de luz de microesferas de GdAcAc.

60 Figura 6. Micrografía SEM de microesferas de GdAcAc.

Referencias

- 5 [1] R. J. Mumper, U. Y. Ryo, y M. Jay, Neutron-activated holmium-166-poly (L-lactic acid) microspheres: a potential agent for the internal radiation therapy of hepatic tumours, *J. Nucl. Med.*, 32 (1991) 2139-2143.
- [2] J. F. W. Nijsen, B. A. Zonnenberg, J. R. Woittiez, D. W. Rook, I. A. Swildens-van Woudenberg, P. P. van Rijk, y A. D. van het Schip, Holmium-166 poly lactic acid microspheres applicable for intra-arterial radionuclide therapy of hepatic malignancies: effects of preparation and neutron activation techniques, *Eur. J. Nucl. Med.*, 26 (1999) 699-704.
- 10 [3] J. F. W. Nijsen, M. J. van Steenberg, H. Kooijman, H. Talsma, L. M. Kroon-Batenburg, W. M. van De, P. P. van Rijk, A. De Witte, A. D. van het Schip, y W. E. Hennink, Characterization of poly(L-lactic acid) microspheres loaded with holmium acetylacetonate, *Biomaterials*, 22 (2001) 3073-3081.
- 15 [4] S. W. Zielhuis, J. F. W. Nijsen, R. Figueiredo, B. Feddes, A. M. Vredenberg, A. D. van het Schip, y W. E. Hennink, Surface characteristics of holmium-loaded poly(L-lactic acid) microspheres, *Biomaterials*, 26 (2005) 925-932.
- [5] S. W. Zielhuis, J. F. W. Nijsen, G. C. Krijger, A. D. van het Schip, y W. E. Hennink, Holmium-loaded poly(L-lactic acid) microspheres: In vitro degradation study, *Biomacromolecules*, 7 (2006) 2217-2223.
- 20 [6] R. Murthy, R. Nunez, J. Szklaruk, W. Erwin, D. C. Madoff, S. Gupta, K. Ahrar, M. J. Wallace, A. Cohen, D. M. Coldwell, A. S. Kennedy, y M. E. Hicks, Yttrium-90 microsphere therapy for hepatic malignancy: devices, indications, technical considerations, and potential complications, *Radiographics*, 25 Suppl 1 (2005) S41-S55.
- 25 [7] European Pharmacopoeia, 2002.
- [8] J. F. W. Nijsen, J. H. Seppenwoolde, T. Havenith, C. Bos, C. J. Bakker, y A. D. van het Schip, Liver Tumors: MR Imaging of Radioactive Holmium microspheres--Phantom and Rabbit Study, *Radiology*, (2004).
- 30 [9] S. W. Zielhuis, J. F. Nijsen, R. R. de, G. C. Krijger, P. P. van Rijk, W. E. Hennink, y A. D. van het Schip, Production of GMP-grade radioactive holmium loaded poly(L-lactic acid) microspheres for clinical application, *Int. J. Pharm.*, 311 (2006) 69-74.
- 35 [10] H. Kooijman, F. Nijsen, A. L. Spek, y A. D. van het Schip, Diaquatrís(pentane-2,4-dionato-O,O')holmium(III) monohydrate and diaquatrís(pentane-2,4-dionato-O,O')holmium(III) 4-hydroxypentan-2-one solvate dihydrate, *Acta Crystallogr. C.*, 56 (2000) 156-158.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Microesfera que comprende un complejo de metal lantánido orgánico en donde el metal lantánido está presente en una cantidad mayor que 20 %p, basado en la microesfera total, y en donde la cantidad de matriz de polímero en la cual puede incorporarse el complejo de metal es menor que 1 %p, basado en la microesfera total.
- 10 2. Microesfera de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el metal lantánido está presente en una cantidad mayor que 22 %p, basado en la microesfera total, preferentemente en el intervalo de 25-60 %p, basado en la microesfera total, con mayor preferencia en el intervalo de 30-60 %p, basado en la microesfera total, aún con mayor preferencia en el intervalo de 35-55 %p, basado en la microesfera total, y con la máxima preferencia en el intervalo de 40-50 %p, basado en la microesfera total.
- 15 3. Microesfera de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el metal lantánido es itrio, o en donde el metal lantánido comprende holmio, gadolinio, disprosio, lutecio, o samario, preferentemente el metal lantánido es holmio.
- 20 4. Microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el complejo de metal lantánido orgánico comprende un ion del lantánido correspondiente y un número de moléculas orgánicas con las que el ion forma el complejo, preferentemente las moléculas orgánicas pertenecen a los compuestos betadicarbonilo que exhiben tautomería ceto-enólica, con mayor preferencia las moléculas orgánicas son acetilacetato.
- 25 5. Microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4, en donde las moléculas orgánicas son todas iguales.
6. Microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4-5, en donde la microesfera no comprende otro compuesto orgánico adicionalmente a las moléculas orgánicas.
- 30 7. Microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la microesfera tiene un diámetro en el intervalo de 1-10  $\mu\text{m}$ , tal como en el intervalo de 3-5  $\mu\text{m}$ .
- 35 8. Microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la microesfera tiene un diámetro en el intervalo de 10-200  $\mu\text{m}$ , o en el intervalo de 20-50  $\mu\text{m}$ .
9. Microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la microesfera tiene un diámetro en el intervalo de 20-200 nm.
- 40 10. Microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la microesfera se hace radiactiva.
- 45 11. Polvo que comprende un número de microesferas como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 1-10.
- 50 12. Método para preparar una microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o un polvo de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende las etapas de:
  - (a) disolver un compuesto orgánico de metal lantánido en un solvente orgánico;
  - (b) emulsionar esta fase orgánica en una solución acuosa que comprende un emulsionante
  - (c) agitar, y opcionalmente calentar, la emulsión obtenida en la etapa (b) de manera de reducir el volumen de la emulsión por evaporación de la menor parte del solvente orgánico, y obtener así una mezcla; y
  - (d) recuperar de la mezcla obtenida en la etapa (c) la microesfera o el polvo.
- 55 13. Suspensión que comprende una microesfera como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o un polvo como se describe en la reivindicación 11, preferentemente dicha suspensión es una suspensión terapéutica o una suspensión de exploración MRI o una suspensión de exploración nuclear, con mayor preferencia la microesfera comprende una composición capaz de mantener prácticamente su estructura durante la activación de neutrones.
14. Uso de una microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o un polvo de acuerdo con la reivindicación 11 para la preparación de una suspensión.
15. Uso de una microesfera de acuerdo con la reivindicación 13 para obtener una imagen de exploración, preferentemente para determinar el comportamiento de flujo de dicha microesfera.

16. Microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o un polvo de acuerdo con la reivindicación 11 para detectar un sitio de angiogénesis, para detectar una malignidad, o para tratar una malignidad.
- 5 17. Suspensión de acuerdo con la reivindicación 13 para tratar una malignidad, para detectar un sitio de angiogénesis, o para detectar una malignidad, en donde preferentemente dicha malignidad comprende una metástasis de hígado.
18. Método para obtener una imagen de exploración, que comprende
- 10 - administrar a un individuo una suspensión de exploración de acuerdo con la reivindicación 13; y subsecuentemente  
- generar una imagen de exploración del individuo.
- 15 19. Composición terapéutica que comprende una microesfera de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, un polvo de acuerdo con la reivindicación 11 o una suspensión de la reivindicación 13, en donde la(s) microesfera(s) es (son) radiactiva(s).

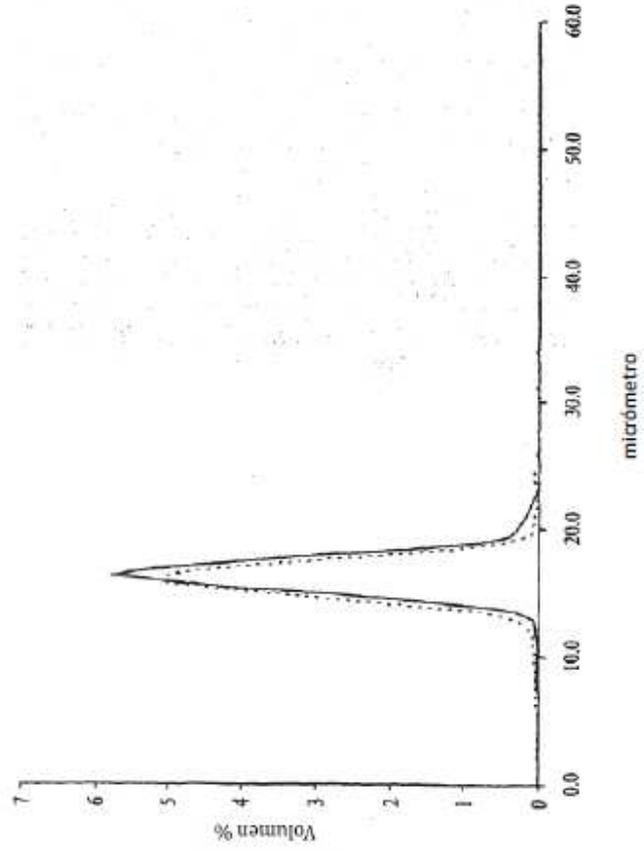


Fig. 1

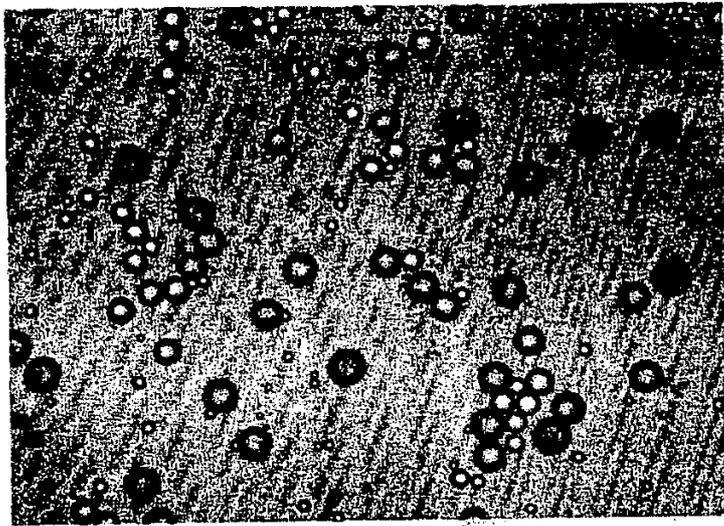


Fig. 2

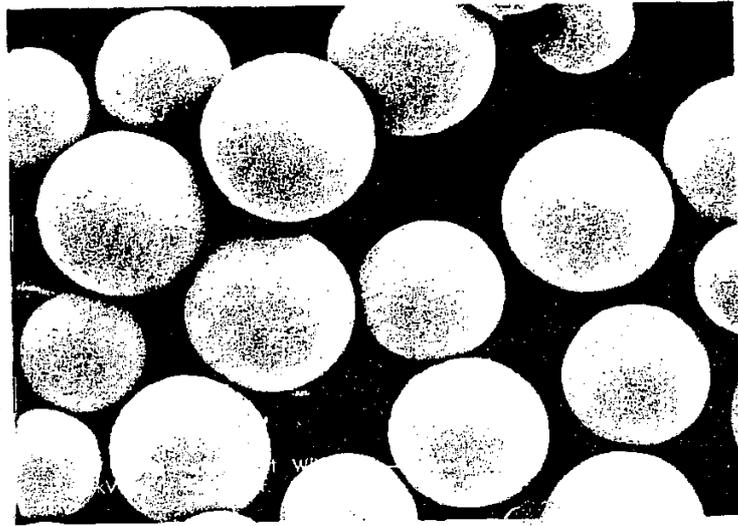


Fig. 3A

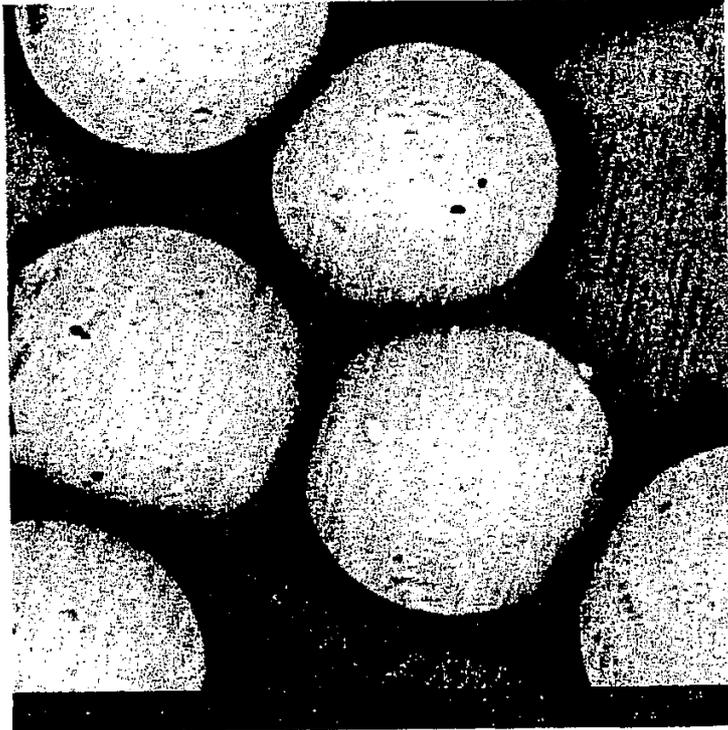


Fig. 3B

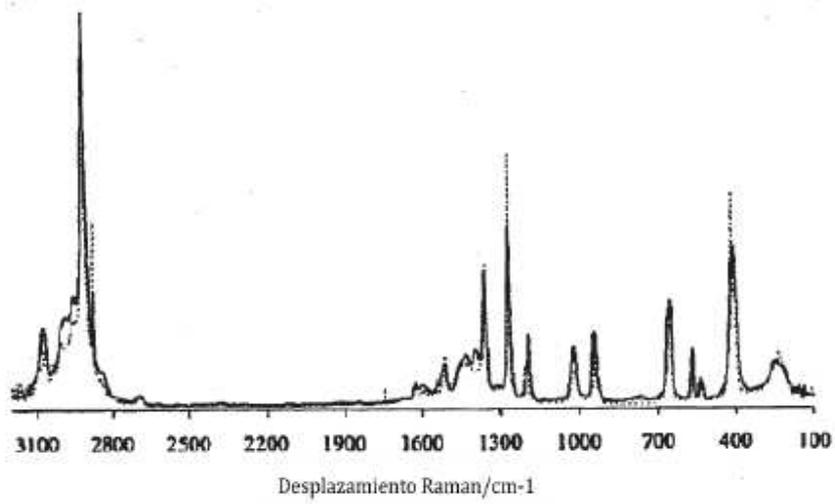


Fig. 4

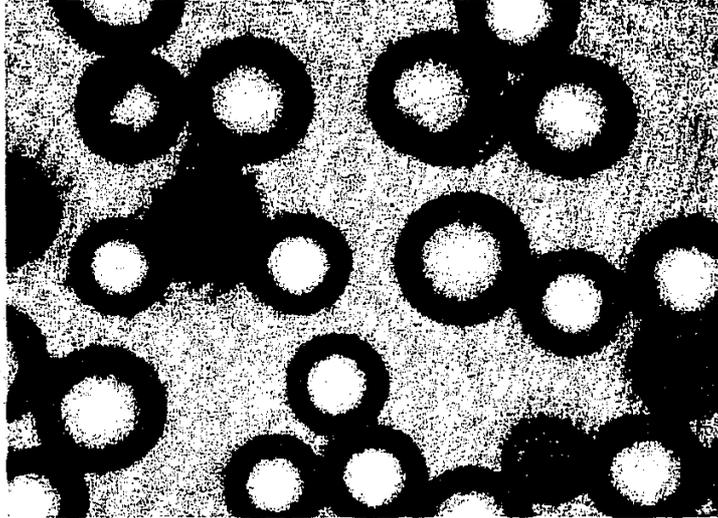


Fig. 5

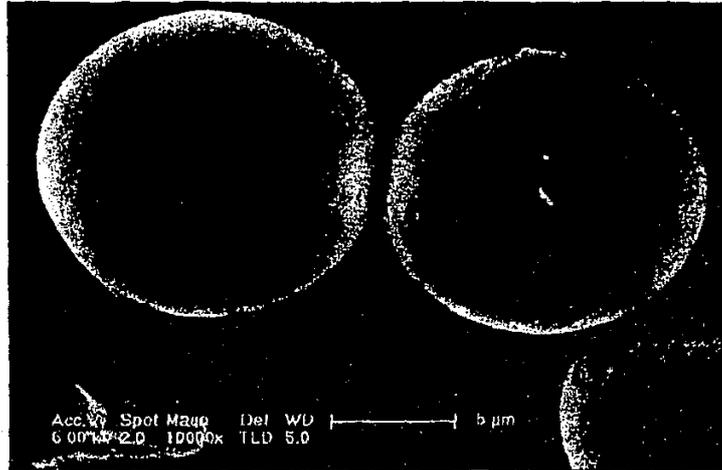


Fig. 6