

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 178**

51 Int. Cl.:

A61K 49/04 (2006.01)

C01G 27/02 (2006.01)

C01G 35/00 (2006.01)

C09C 3/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.01.2008 PCT/US2008/052007**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.07.2008 W08092059**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2008 E 08728269 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017 EP 2121038**

54 Título: **Nanopartículas de óxido de tantalio como agentes de obtención de imágenes para tomografía computarizada de rayos X y métodos para preparar las mismas**

30 Prioridad:

26.01.2007 US 627529

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

05.06.2017

73 Titular/es:

**GENERAL ELECTRIC COMPANY (100.0%)
1 River Road
Schenectady, NY 12345, US**

72 Inventor/es:

**COLBORN, ROBERT EDGAR;
BALES, BRIAN;
BONITATIBUS, JR., PETER;
KULKARNI, AMIT;
TORRES, ANDREW;
AXELSSON, OSKAR;
DEMOULPIED, DAVID y
BUCKLEY, PAUL**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 615 178 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

Nanopartículas de óxido de tantalio como agentes de obtención de imágenes para tomografía computarizada de rayos X y métodos para preparar las mismas

Campo técnico

- 5 La presente descripción se refiere generalmente a agentes de obtención de imágenes para uso en tomografía computarizada de rayos X, y más específicamente a agentes de obtención de imágenes y métodos para preparar los mismos

Información de los antecedentes

- 10 Los derivados de ácido benzoico yodado continúan sirviendo como agentes de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X (TC) a pesar de los factores de riesgo y efectos secundarios asociados a la inyección intravenosa de yodo. Adicionalmente tales agentes de obtención de imágenes de TC estándar son típicamente de bajo peso molecular y se sabe que se eliminan del cuerpo humano muy rápidamente haciendo muy difícil dirigir estos agentes a los sitios de enfermedad (Shi-Bao Yu and Alan D. Watson, Chem. Rev. 1999, 99, 2353-2377).

- 15 La bibliografía describe sistemas experimentales de nanopartículas que contienen gadolinio (Gd) o yodo (I) para la obtención de imágenes por TC. Sin embargo, en tales sistemas, sólo un número relativamente pequeño de átomos pesados se pueden administrar a/en las proximidades de los tejidos diana. Tales enfoques incluyen un enfoque liposómico, en el que las moléculas yodadas se encapsulan en liposomas (Leike et al., Invest. Radiol., 2001, 36 (6), 303-308), así como un enfoque dendrítico, en el que se conjugan átomos de yodo a dendrímeros de poliamidoamida (PAMAM) Star-burst® G-4 (Yordanov et al., Nano Letters 2002, 2 (6), 595-599). Ambos enfoques administran, como
20 mucho, un par de cientos de átomos de metal pesado (por ejemplo, gadolinio).

- Los esfuerzos para administrar un mayor número de átomos de metal pesado han incluido el uso de nanopartículas de tales metales pesados. Véanse las Publicaciones Internacionales PCT Nos. WO 03/075961 A2 y WO 2005/051435 A2. Aunque las nanopartículas de especies metálicas elementales (cerivalentes) tienen la más alta
25 densidad (número de átomos de metal pesado / volumen), sufren problemas tales como la síntesis robusta e inestabilidad debida a la oxidación. Las nanopartículas de metales inertes tales como oro (por ejemplo, tal como se describe en el documento WO 03/075961 A2) pueden superar estos problemas, pero no son muy rentables.

- Chan et al. (1999 Dental Materials; 15(3): 219-222) y Braune et al. (1998; Proc. SPIE 3469, Organic-Inorganic Hybrid Materials for Photonics: 124-132) describen nanopartículas que tienen un núcleo de óxido de tantalio pero estas son
30 para uso en aplicaciones distintas de la obtención de imágenes in vivo en las que se requiere que las nanopartículas sean hidrófobas.

El documento WO 07/055995 A2 (Bonitatebus et al.) describe nanopartículas de núcleo/envoltura en las que por lo menos uno de núcleo de nanopartícula y la envoltura de nanopartícula comprende un material agente de contraste activo.

- 35 Los revestimientos superficiales para nanopartículas son conocidos en la técnica. Por ejemplo, Iwasaki et al. (2004 J Phys Chem; 108(32): 11946-11952) y el documento WO03016217 describe el uso de dietilfosfatoetiltrióxosilano para revestir y estabilizar nanopartículas. Sin embargo estas enseñanzas son en los campos de fotograbado y revestimientos resistentes a la abrasión, respectivamente. Se conocen PEG-silanos para revestir superficies, por ejemplo, como se enseña por Wang et al. (2005 Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces; 46(4): 255-260), Kannan et al. (2005 J Vacuum Sci Technol B: Microelectronics and Nanometer Structures – Processing, Measurement and Phenomena; 23(4): 1364-1370) and Papra et al. (2001 Langmuir Am Chem Soc USA; 17(5): 1457-1460). Sin embargo estas descripciones no se refieren a aplicaciones de obtención de imágenes in vivo.

- 45 Como resultado de lo anterior, hay una necesidad continua de nuevos agentes de obtención de imágenes para TC, especialmente hasta el punto de que tales agentes de obtención de imágenes pueden proporcionar un rendimiento mejorado y beneficio en una o más de las siguientes áreas: síntesis robusta, coste reducido, mejora del contraste de imagen, incremento de la semivida en sangre, disminución de la toxicidad, disminución de la dosis de radiación y capacidad de focalización.

Breve descripción de la invención

- 50 La presente invención se refiere generalmente, a nanopartículas de núcleo/envoltura, en las que tales nanopartículas de núcleo/envoltura comprenden un núcleo de nanopartícula y una nanoenvoltura dispuesta alrededor del núcleo de nanopartícula tal que, en conjunto, forman una nanopartícula de núcleo/envoltura que es operativa para uso como un agente de obtención de imágenes en la obtención de imágenes por rayos X, particularmente la obtención de imágenes por tomografía computarizada (TC).

La presente invención se refiere a un agente de obtención de imágenes que comprende un núcleo de nanopartícula

activo que comprende tántalo (Ta) en un estado de valencia distinto de cero y una nanoenvoltura pasiva, estando dispuesta la nanoenvoltura alrededor del núcleo de nanopartícula tal que en conjunto forman una nanopartícula de núcleo/envoltura que es operativa para uso como un agente de obtención de imágenes en la obtención de imágenes por TC.

5 En algunas realizaciones, una disolución de obtención de imágenes por tomografía computarizada de rayos X comprende un conjunto de agentes de obtención de imágenes según cualquiera de las realizaciones descritas aquí, en la que el diámetro medio del conjunto no es mayor de alrededor de 10 nm, preferentemente no es mayor de alrededor de 3 nm.

10 En algunas realizaciones, la presente invención se refiere a métodos para preparar cualquiera de los agentes de obtención de imágenes descritos anteriormente.

15 En algunas realizaciones, la presente invención se refiere a métodos para preparar un agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X, comprendiendo el método las etapas de: proporcionar un primer material precursor que comprende tántalo; formar un núcleo activo a partir del primer material precursor, comprendiendo el núcleo tántalo en un estado de valencia distinto de cero; proporcionar un segundo material precursor; y formar una envoltura pasiva a partir del segundo material precursor, en la que la envoltura pasiva está dispuesta alrededor del núcleo tal que el núcleo y la envoltura forman una nanopartícula de núcleo/envoltura.

20 El agente de obtención de imágenes de TC de la presente invención administra un número relativamente grande de átomos de tántalo de alta densidad, de alta atenuación en forma molecular para mejorar la mejora del contraste de TC. El agente de obtención de imágenes de TC se puede usar para la señalización de sitios de enfermedad específicos o para la captación de macrófagos, o puede tener incrementada semivida en sangre.

Lo anterior ha esbozado bastante ampliamente las características de la presente invención con el fin de que la descripción detallada de la invención a continuación pueda ser entendida mejor. A continuación se describirán características y ventajas adicionales de la invención que forman la materia de las reivindicaciones de la invención.

Breve descripción de los dibujos

25 Para una comprensión más completa de la presente invención, y de sus ventajas, se hace ahora referencia a las siguientes descripciones tomadas conjuntamente con los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 representa generalmente una vista de un corte transversal de una nanopartícula de núcleo/envoltura para ilustrar la relación entre los componentes;

30 La Figura 2 representa una vista de un corte transversal de una nanopartícula de núcleo/envoltura que comprende un núcleo activo y una envoltura pasiva, según la presente invención;

La Figura 3 ilustra, en forma de diagrama de flujo, un método de usar nanopartículas de núcleo/envoltura como agentes de obtención de imágenes para tomografía computarizada;

35 La Figura 4 es una representación gráfica de la distribución de diámetro de un conjunto de nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva que comprenden un núcleo de óxido de tántalo y una envoltura polimérica de polietilenglicol (PEG), según algunas realizaciones de la presente invención;

La Figura 5 es una imagen de TEM de nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva con óxido de tántalo y una envoltura polimérica de PEG, según algunas realizaciones de la presente invención;

40 La Figura 6 es una representación gráfica de la distribución de diámetro de un conjunto de nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva que comprenden un núcleo de óxido de tántalo y una envoltura de ligando de citrato, según algunas realizaciones de la presente invención;

La Figura 7 es una imagen de TEM de nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva que comprenden un núcleo de óxido de tántalo y una envoltura de ligando de citrato, según algunas realizaciones de la presente invención;

45 La Figura 8 es una representación gráfica del porcentaje de células viables frente a la cantidad molar de tántalo para nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva con un núcleo de óxido de tántalo y una envoltura polimérica de PEG y para nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva con un núcleo de óxido de tántalo y una envoltura de ligando de citrato, según algunas realizaciones de la presente invención;

La Figura 9 es una representación gráfica de una curva estándar de C3a para detectar C3a en disolución según algunas realizaciones de la presente invención;

50 La Figura 10 es un gráfico de barras de C3a para nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva con un núcleo de óxido de tántalo y cada una de las siguientes envolturas: una envoltura de glucosa, una envoltura de EDTA y envoltura de PEG según algunas realizaciones de la presente invención y para varios controles.

La Figura 11 es una imagen de tomografía computarizada de una rata inyectada con nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva con un núcleo de óxido de tántalo y una envoltura de PEG, según algunas realizaciones de la presente invención;

5 La Figura 12 es una serie de imágenes de tomografía computarizada en diferentes momentos de una rata inyectada con nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva con un núcleo de óxido de tántalo y una envoltura de PEG, según algunas realizaciones de la presente invención.

Descripción detallada de la invención

10 La presente invención se refiere generalmente a nanopartículas de núcleo/envoltura, en las que dichas nanopartículas de núcleo/envoltura comprenden un núcleo de nanopartícula y una nanoenvoltura dispuesta alrededor del núcleo de nanopartícula de manera que, en conjunto, forman una nanopartícula de núcleo/envoltura que es operativa para uso como un agente de obtención de imágenes de rayos X, particularmente en TC.

Con referencia a los dibujos en general, se entenderá que las ilustraciones son para el propósito de describir una realización particular de la invención y no se pretende que limiten la invención a la misma.

15 Aunque la mayor parte de los términos usados aquí serán reconocibles para los expertos en la técnica, se presentan sin embargo las siguientes definiciones para ayudar a la comprensión de la presente invención. Se debe entender, sin embargo, que cuando no se definen explícitamente, se debe interpretar que los términos adoptan un significado actualmente aceptado por los expertos en la técnica.

20 "Tomografía computarizada", abreviada como "TC", como se define aquí y también conocida como tomografía axial computarizada o tomografía asistida por ordenador (TAC) y roentgenografía de secciones corporales, es un método de obtención de imágenes médicas que emplea tomografía en el que se usa procesamiento digital para generar una imagen tridimensional del interior de un objeto (o sujeto) a partir de una gran serie de imágenes de rayos X bidimensionales tomadas alrededor de un solo eje de rotación. Aunque la discusión aquí se centra en la tomografía computarizada, los expertos en la técnica apreciarán que tales discusiones se aplican generalmente a todos los tipos de obtención de imágenes de rayos X.

25 "Agentes de obtención de imágenes", como se define aquí y también conocidos como agentes de contraste, son agentes que comprenden un material que puede atenuar significativamente la radiación de rayos X incidente que provoca una reducción de la radiación transmitida a través del volumen de interés. Después de someterse a la reconstrucción de la imagen de TC y del típico post-procesado, este aumento de la atenuación de rayos X se interpreta como un aumento en la densidad del volumen de interés, lo que crea una mejora de contraste en el volumen que comprende el agente de contraste con relación al tejido de fondo en el imagen. Debido a que la presente discusión es aplicable generalmente a todas las formas de obtención de imágenes de rayos X, los agentes de obtención de imágenes de la presente invención se denominan generalmente "agentes de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X". Este término se usa intercambiamente con "agentes de tomografía computarizada (TC).

35 En referencia a los componentes de núcleo y envoltura de una nanopartícula de núcleo/envoltura, los términos "activo" y "pasivo" se refieren a la capacidad de los componentes para crear un aumento de contraste en la obtención de imágenes de TC. Un escáner de TC convencional usa un amplio espectro de energía de rayos X entre alrededor de 10 keV y alrededor de 140 keV. Los expertos en la técnica reconocerán que la cantidad de atenuación de los rayos X que pasa a través de un material particular por unidad de longitud se expresa como el coeficiente de atenuación lineal. En un espectro de energía de rayos X típico en obtención de imágenes de TC, la atenuación de los materiales está dominada por el efecto de absorción fotoeléctrica y el efecto de dispersión de Compton. Además, es bien conocido que el coeficiente de atenuación lineal es una función de la energía del rayo X incidente, la densidad del material (relacionado con la concentración molar) y el número atómico (Z) del material. Para compuestos moleculares o mezclas de diferentes átomos, el "número atómico efectivo", Z_{ef} , se puede calcular como una función del número atómico de los elementos constituyentes. El número atómico efectivo de un compuesto de fórmula química conocida se determina a partir de la relación:

$$Z_{ef} = \left[\sum_{k=1}^P w_k Z_k^4 \right]^{1/4} \tag{Ec. 1}$$

50 en la que Z_k es el número atómico de elementos individuales, P es la cantidad total de elementos individuales y w_k es la fracción de peso de elementos individuales con respecto al peso molecular total de la molécula (relacionado con la concentración molar). La elección óptima de la energía de los rayos X incidentes para la obtención de imágenes de TC es una función del tamaño del objeto a escanear y no se espera que varíe mucho de los valores nominales. Es también bien conocido que el coeficiente de atenuación lineal del material del agente de contraste es linealmente dependiente de la densidad del material, es decir, el coeficiente de atenuación lineal se puede incrementar si la densidad del material se incrementa o si se incrementa la concentración molar del material de contraste. Sin embargo, los aspectos prácticos de la inyección de material de agente de contraste en los pacientes, y los efectos de toxicidad asociados, limitan la concentración molar que se puede conseguir. Por lo tanto, es razonable separar los potenciales materiales de agente de contraste según su número atómico efectivo. En base a

simulaciones de la mejora del contraste de TC de materiales típicos para un espectro de energía de TC típico con una concentración molar de aproximadamente 50 mM, se estima que los materiales con número atómico efectivo mayor o igual a 34 darán una mejora apropiada de contraste de alrededor de 30 unidades Hounsfield (HU), o un contraste 3% más alto que el agua. Por lo tanto, hemos definido que los potenciales materiales de contraste de TC son pasivos, que tienen un número atómico efectivo de menos de 34 (es decir, $Z_{ef} < 34$), o activos, que tienen un número atómico efectivo mayor o igual a 34 (es decir, $Z_{ef} \geq 34$). Véase, por ejemplo, el Capítulo 1 del Handbook of Medical Imaging, Volume 1, Physics and Psychophysics, Eds. J. Beutel, H. L. Kundel, R. L. Van Metter, SPIE Press, 2000).

Una "nanopartícula", como se define aquí, es una partícula con un diámetro medio de entre alrededor de 1 nm y alrededor de 500 nm, y se puede usar para referirse a núcleos de nanopartícula y agregados de nanopartículas de núcleo/envoltura. Tales nanopartículas pueden ser esféricas o de forma irregular, y, particularmente en el extremo más pequeño de este intervalo de tamaños, se diferencian de los complejos moleculares. Una "nanoenvoltura", como se define aquí, es la región de envoltura de la nanopartícula de núcleo/envoltura. Tal nanoenvoltura se dispone alrededor del núcleo de la nanopartícula de tal manera que puede o no puede adaptarse a la topografía del núcleo de la nanopartícula subyacente.

Como se mencionó anteriormente, y haciendo referencia a la Figura 1, en algunas realizaciones la presente invención se refiere a un agente de obtención de imágenes que comprende: (a) un núcleo 101 de nanopartícula; y (b) una nanoenvoltura 102, estando dispuesta la nanoenvoltura alrededor del núcleo de nanopartícula de tal manera que, en conjunto, forman una nanopartícula 100 de núcleo/envoltura que es operativa para uso como un agente de obtención de imágenes en obtención de imágenes de tomografía computarizada (generalmente de rayos X). Aunque la Figura 1 representa un corte transversal de una nanopartícula de núcleo/envoltura perfectamente esférica, tales nanopartículas de núcleo/envoltura también pueden ser de forma irregular.

El agente de obtención de imágenes descrito anteriormente comprende además por lo menos un agente de orientación. Tales agentes de orientación son útiles para dirigir los agentes de obtención de imágenes a regiones específicas enfermas del cuerpo de un sujeto. Típicamente, el agente de orientación es un anticuerpo (por ejemplo, IgG) u otro péptido, pero también puede ser un ácido nucleico (por ejemplo, ADN, ARN) u otras especies químicas apropiadas. Generalmente, el agente de orientación está unido a uno o ambos del núcleo de nanopartícula y la envoltura dispuesta alrededor del núcleo de la nanopartícula. Tal unión comprende típicamente un enlace tal como, pero no limitado a, un enlace peptídico, un enlace disulfuro, un enlace isotiurea, un enlace isourea, un enlace sulfonamida, un enlace amina, un enlace carbamato, un enlace amidina, un enlace fosforamidato, un enlace tioéter, un enlace arilamina, un enlace ariltioéter, un enlace éter, un enlace hidrazona, un enlace triazol, un enlace oxima y sus combinaciones. Véase, por ejemplo, el Capítulo 2 en Bioconjugate Techniques. G. T. Hermanson, Academic Press, 1996.

En algunas realizaciones, los agentes de obtención de imágenes de TC descritos anteriormente se optimizan para la captación de macrófagos vía el control de la carga superficial de la nanopartícula de núcleo/envoltura y/o la presentación de grupos funcionales que inducen la captación de macrófagos (por ejemplo, poli(sulfato de vinilo)).

Para las nanopartículas de núcleo/envoltura descritas aquí para su uso como agentes de contraste/obtención de imágenes en TC, el núcleo de nanopartícula tiene típicamente un diámetro medio de alrededor de 1 nm a alrededor de 100 nm, más típicamente de alrededor de 2 nm a alrededor de 80 nm, y lo más típicamente de alrededor de 2 nm a alrededor de 20 nm. La nanoenvoltura dispuesta alrededor del núcleo de nanopartícula tiene típicamente un espesor medio de alrededor de 0,5 nm a alrededor de 100 nm. Por consiguiente, el agregado del núcleo de nanopartícula y la nanoenvoltura del agente de obtención de imágenes tiene típicamente un diámetro medio de alrededor de 2 nm a alrededor de 500 nm, más típicamente de alrededor de 2 nm a alrededor de 100 nm, y lo más típicamente de alrededor de 3 nm a alrededor de 20 nm.

Se entenderá que puede ser deseable que el agregado del núcleo de nanopartícula y nanoenvoltura sea excretable por un riñón de mamífero, típicamente un riñón humano. Por consiguiente, el agregado del núcleo de nanopartícula y nanoenvoltura del agente de obtención de imágenes puede tener un diámetro medio de alrededor de 1 a alrededor de 20 nm, más típicamente de alrededor de 2 a alrededor de 12 nm, y más típicamente de alrededor de 3 nm a alrededor de 8 nm.

En algunas realizaciones, una disolución de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X comprende un conjunto de los agentes de obtención de imágenes según cualquiera de las realizaciones descritas aquí, en la que el diámetro medio del conjunto no es más de aproximadamente 10 nm, más típicamente no más de alrededor de 7 nm, más típicamente no más de alrededor de 6 nm y lo más típicamente no más de alrededor de 3 nm.

Nanopartículas de núcleo activo/envoltura pasiva

Haciendo referencia a la Figura 2, la presente invención se refiere a un agente 200 de obtención de imágenes que comprende un núcleo 201 de nanopartícula activo y una nanoenvoltura 202 pasiva, estando dispuesta la nanoenvoltura alrededor del núcleo de nanopartícula de manera que en el agregado forman una nanopartícula 200

de núcleo/envoltura que es operativa para uso como un agente de obtención de imágenes en la obtención de imágenes de TC.

5 El material del que está compuesto el núcleo 201 de nanopartícula anteriormente descrito está limitado por el hecho de que comprende un material activo para la mejora del contraste en TC ($Z_{ef} \geq 34$), en el que el material activo comprende tántalo en un estado de valencia distinto de cero. El núcleo de nanopartícula comprende típicamente un material tal como, pero no limitado a, óxidos de tántalo. A modo de ejemplo y no de limitación, el número atómico efectivo, Z_{ef} , para el Ta_2O_5 es de alrededor de 69.

10 El material del que está compuesta la nanoenvoltura 202 no está particularmente limitado, pero generalmente no comprende material de agente de contraste de TC activo ($Z_{ef} < 34$) y debe ser generalmente capaz de ser dispuesto alrededor del núcleo de nanopartículas. Tales materiales apropiados incluyen, pero no están limitados a, ligandos, oligómeros, polímeros, clústeres, especies carbohidrato, sílice funcionalizada y sus combinaciones. Por ejemplo, los materiales de envoltura apropiados incluyen, pero no están limitados a, polietilenglicol, polietilenimina, polimetacrilato, poli(sulfato de vinilo), polivinilpirrolidina, citrato, malato, glicolato, silanos y sus combinaciones.

El material del que está hecha la nanoenvoltura es soluble en agua y biocompatible.

15 La nanoenvoltura preferentemente comprende dietilfosfatoetiltrióxosilano (PHS) o 2-[metoxi(polietileno)propil]trimetoxisilano (PEGsilane550).

Métodos de preparación

En algunas realizaciones, la presente invención se refiere a un método para preparar cualquiera o todos los tipos de agentes de obtención de imágenes descritos anteriormente en aplicaciones de TC.

20 Tales métodos pueden comprender las etapas de: (a) proporcionar un primer material precursor que comprende tántalo; (b) formar un núcleo activo a partir del primer material precursor, comprendiendo el núcleo activo tántalo en un estado de valencia distinto de cero; (c) proporcionar un segundo material precursor; y (d) formar una envoltura pasiva a partir del segundo material precursor, en el que la envoltura pasiva está dispuesta alrededor del núcleo de tal manera que el núcleo y la envoltura forman una nanopartícula de núcleo/envoltura. En algunas realizaciones, la
25 envoltura pasiva comprende un material soluble en agua derivado del segundo material precursor. Alternativamente, o en combinación, en algunas realizaciones, el método comprende además controlar el diámetro medio de la nanopartícula.

Se entenderá que se puede variar el orden y/o la combinación de etapas. De este modo, según algunas realizaciones, las etapas (a), (b), (c) y (d) se producen como etapas secuenciales para formar la nanopartícula a partir del núcleo activo y del segundo precursor. A modo de ejemplo y no de limitación, en algunas realizaciones, el primer precursor comprende tántalo en un estado de valencia distinto de cero; en el que el núcleo comprende un óxido de tántalo en el mismo estado de valencia distinto de cero; y en el que la etapa (b) comprende la hidrólisis del primer precursor. Según algunas realizaciones, el primer precursor es una sal, tal como un alcóxido o haluro de tántalo, y la hidrólisis prosigue al combinar el primer precursor, un ácido, agua o análogo del agua, tal como óxido de deuterio, en un disolvente alcohólico. El agua, o análogo del agua, inicia la hidrólisis. La relación molar del ácido al tántalo se puede seleccionar para controlar el tamaño del núcleo de nanopartícula. Según algunas realizaciones, cuando el núcleo comprende un óxido de tántalo, un material que contiene silicio se une al núcleo vía enlaces Si-O. Según algunas realizaciones, el siloxano incluye, pero no está limitado a grupos polimerizables. La polimerización puede avanzar vía polimerización por condensación inducida por ácido. Alternativamente, según algunas
40 realizaciones, un polímero puede estar fisisorbido sobre el núcleo. Según cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, el polímero es soluble en agua y biocompatible. Los polímeros apropiados incluyen, pero no están limitados a, polietilenglicol (PEG), polietilenimina (PEI), poli(sulfato de vinilo) y polivinilpirrolidina, y sus combinaciones.

Alternativamente, según algunas realizaciones, las etapas (a) y (c) ocurren juntas de tal modo que las etapas (b) y (d) ocurren juntas para formar la nanopartícula directamente a partir del primer y segundo precursores. A modo de ejemplo y no de limitación, según algunas realizaciones, el primer precursor comprende tántalo en un estado de valencia cero; en las que el núcleo comprende un óxido de tántalo; y en las que las etapas (b) y (d) comprenden conjuntamente la adición del primero y segundo precursor a una disolución acuosa básica. Según algunas realizaciones, la disolución básica tiene un pH de por lo menos aproximadamente 9. La formación directa del núcleo y la envoltura en la misma etapa, tal como la combinación de las etapas (a) y (c) es un descubrimiento inesperado. Adicionalmente, hemos descubierto sorprendentemente que se pueden usar reacciones de intercambio que son bien conocidas para nanopartículas metálicas, tales como aquellas que implican la formación de envoltura de citrato sobre nanopartículas de oro, para preparar envolturas basadas en ligando dispuestas alrededor de núcleos no metálicos, usando, por ejemplo, la presente preparación directa. Cuando la envoltura comprende un ligando, el
55 primer precursor puede comprender un reactivo de ligando. Por ejemplo, cuando el ligando es un anión de ácido carboxílico, tal como citrato, el reactivo de ligando es el ácido carboxílico asociado. Los reactivos de ligando alternativos apropiados incluyen, pero no están limitados a, azúcares, alcoholes, polialdehídos y sus combinaciones. La glucosa es un ejemplo que permite la preparación de nanopartículas muy pequeñas. Otros reactivos apropiados

incluyen, pero no están limitados a, ácido glicólico y ácido málico. Según algunas realizaciones, el diámetro de las nanopartículas se controla vía selección de la identidad y/o cantidad de ligando.

En combinación con cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, en algunas realizaciones, un método de preparar una preparación de tomografía computarizada de rayos X (por ejemplo, que contiene una pluralidad de agentes de obtención de imágenes) comprende formar un conjunto de nanopartículas de núcleo/envoltura, en el que el diámetro medio del conjunto no es mayor de alrededor de 10 nm, más típicamente no más de alrededor de 7 nm, lo más típicamente no más de alrededor de 6 nm; en algunas realizaciones el diámetro medio no es mayor de alrededor de 3 nm. Se entenderá que según algunas realizaciones, el diámetro medio se selecciona para que deje las nanopartículas en el conjunto sustancialmente eliminables por un riñón de mamífero, tal como un riñón humano, en forma de partículas.

El diámetro medio del conjunto se puede controlar usando cualquier técnica apropiada para controlar la distribución de tamaño de nanopartículas en disolución. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la formación del conjunto descrito anteriormente incluye una etapa de fraccionamiento, en la que un conjunto en bruto en disolución se hace pasar por un proceso que divide el conjunto bruto en por lo menos dos poblaciones que tienen diferente tamaño de partícula. Se conocen en la técnica varias técnicas de fraccionamiento apropiadas, que incluyen, por ejemplo, varios procesos de filtración. La filtración normal, en la que un fluido que contiene partículas se fuerza directamente hacia una membrana de filtro bajo una presión aplicada (como la creada, por ejemplo, por fuerza centrífuga u otros medios), es una técnica común. Otra técnica apropiada es la filtración de flujo tangencial, en la que el fluido se bombea tangencialmente a lo largo de la superficie de la membrana con una presión aplicada que sirve para forzar una porción del fluido a través de la membrana. En esta técnica, a diferencia de la filtración normal, las partículas mayores retenidas son arrastradas por el flujo tangencial, en lugar de acumularse en la superficie de la membrana. Este efecto de barrido es a menudo ventajoso para conseguir una separación eficiente basada en tamaños de conjuntos de partículas muy finas. Otro ejemplo de una técnica apropiada es la diafiltración, un tipo de proceso de filtración de flujo tangencial en el que se añade tampón a la corriente de proceso a medida que se retira el filtrado. Un experto en la técnica está familiarizado con estos procesos y cómo usarlos para obtener una deseada distribución de tamaños para un conjunto de nanopartículas. En algunas realizaciones, el conjunto de nanopartículas en bruto se fracciona para proporcionar un conjunto de producto de nanopartículas que tienen un diámetro medio según cualquiera de los intervalos dados anteriormente.

En algunas realizaciones, la preparación de tomografía computarizada de rayos X se purifica para retirar especies indeseables que pueden interferir o de otra manera degradar el rendimiento de la preparación. Las técnicas tales como la diálisis son apropiadas para este propósito. Además, se ha demostrado que técnicas tales como la diafiltración purifican y fraccionan efectivamente disoluciones de nanopartículas en una etapa de procesamiento. Véase, por ejemplo, Sweeney et al., J. Am. Chem. Soc. 2006, vol. 128, pp. 3190-3197.

Métodos de Uso

Los tipos anteriormente descritos de agentes de obtención de imágenes se pueden usar en aplicaciones de TC. Haciendo referencia a la Figura 3, tales métodos comprenden típicamente las etapas de: (Etapa 301) proporcionar una cantidad de nanopartículas de núcleo/envoltura que comprenden un material activo de agente de contraste de tomografía computarizada, comprendiendo cada una de las nanopartículas de núcleo/envoltura un núcleo de nanopartícula y una nanoenvoltura dispuesta alrededor del núcleo de nanopartícula; (Etapa 302) administrar las nanopartículas de núcleo/envoltura a un sujeto mamífero; y (etapa 303) irradiar el sujeto con rayos X, según la tomografía computarizada, de tal manera que las nanopartículas de núcleo/envoltura sirven como un agente de obtención de imágenes. Tales nanopartículas de núcleo/envoltura pueden comprender además agentes de orientación tales que, como agentes de obtención de imágenes, se pueden dirigir a áreas específicas enfermas del cuerpo del sujeto. En algunas realizaciones, las nanopartículas de núcleo/envoltura descritas anteriormente, en la medida en que persisten en la sangre, son agentes de acumulación de sangre.

En algunos de tales métodos anteriormente descritos de uso de los agentes de obtención de imágenes descritos anteriormente, las nanopartículas de núcleo/envoltura proporcionan una señal de TC de generalmente por lo menos de alrededor de 5 unidades Hounsfield a como mucho alrededor de 5000 unidades Hounsfield y más particularmente por lo menos de alrededor de 100 unidades Hounsfield a como mucho 5000 unidades Hounsfield.

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar realizaciones particulares de la presente invención.

Ejemplo 1

Este Ejemplo sirve para ilustrar cómo se puede preparar un agente de obtención de imágenes de TC, según algunas realizaciones de la presente invención. En este Ejemplo particular, una envoltura pasiva polimérica está unida a un núcleo activo de óxido de tantalio. Además, en este Ejemplo particular, la envoltura se forma alrededor del núcleo después de que se forma el núcleo.

Este ejemplo ilustra la preparación de nanopartículas de Ta₂O₅ para obtención de imágenes por rayos X: se combinaron 34 ml de n-propanol, 0,44 ml de ácido isobutírico y 0,5 ml de óxido de deuterio en nitrógeno en el orden especificado y se agitaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadió etóxido de tantalio (1,87 g) de una

manera gota a gota, aunque rápidamente, y se continuó la agitación bajo nitrógeno durante 18 horas. El etóxido de tántalo contiene Ta (V), que es tántalo en estado de valencia +5, un estado de valencia distinto de cero. Se añadió 2-[Metoxi(poli-etileno)propil]trimetoxisilano (PEGsilane550, 4,832 g) a la mezcla agitada en forma de una disolución de 40 ml en n-propanol y la reacción se calentó a reflujo durante 1 hora en aire. Una vez enfriado a temperatura ambiente, se añadió HCl (125 μ l, 0,1 M) y la reacción se dejó agitar durante la noche. Se añadió agua desionizada (40 ml), se agitó la mezcla, y después se retiraron todos los compuestos volátiles para obtener un producto de tipo gel transparente, de incoloro a ligeramente amarillo. Para purificar las nanopartículas para inyección intravenosa, el producto se solubilizó en agua desionizada y se filtró a través de una membrana de 100 nm. La diálisis en agua durante 12 horas (tubo de diálisis de 3500-8000 MWCO), seguida de filtración a 100 nm y subsiguiente retirada de agua vía liofilización, produjo un precipitado blancuzco de aproximadamente 22% peso/peso en tántalo. Disoluciones tan altas como 1,8 M de tántalo se han preparado usando disolución salina (NaCl al 0,9%).

La Figura 4 muestra la distribución de diámetros para un conjunto de nanopartículas preparadas según este Ejemplo, tal como se miden por DLS convencional, mostrando un diámetro medio del conjunto de 7 nm. La Figura 5 muestra una imagen de TEM de nanopartículas preparadas según este Ejemplo.

15 Ejemplo 2

Este ejemplo sirve para ilustrar como se puede preparar un agente de obtención de imágenes de TC, según algunas realizaciones de la presente invención. En este Ejemplo particular, una envoltura pasiva polimérica está unida a un núcleo activo de óxido de tántalo. Además, en este Ejemplo particular, se formó la envoltura alrededor del núcleo después de que se formó el núcleo.

20 Este ejemplo ilustra la preparación de nanopartículas de Ta₂O₅ para la obtención de imágenes de rayos X: se combinaron 34 ml de n-propanol, 0,44 ml de ácido isobutírico y 0,5 ml de óxido de deuterio en nitrógeno en el orden especificado y se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadió etóxido de tántalo (1,87 g) de una manera gota a gota, aunque rápidamente, y se continuó la agitación bajo nitrógeno durante 18 horas. El etóxido de tántalo contiene Ta (V), que es tántalo en estado de valencia +5, un estado de valencia distinto de cero. A continuación, se añadió dietilfosfatoetiltrióxido de silano (PHS, 3 g) a la mezcla en forma de una disolución de 40 ml en n-propanol y la reacción se calentó a reflujo durante 1,5 horas en aire. Una vez enfriado a temperatura ambiente, se añadió hidróxido de amonio (250 μ l, 0,1 M) y la reacción se dejó agitar durante la noche. Después se añadió agua desionizada (40 ml) a la reacción con agitación y a continuación se añadió ácido clorhídrico (10 ml, 1,2 M) y se dejó reaccionar durante 2 días a 50°C. Al enfriar, la reacción se neutralizó con hidróxido amónico hasta pH ~ 7-8 y se filtró a través de una membrana de 100 nm. Todos los compuestos volátiles se retiraron para dar el producto. Para purificar las nanopartículas para inyección intravenosa, el producto se solubilizó en agua desionizada (pH 7,5-8), se filtró a través de una membrana de 100 nm, se dializó en agua durante 12 horas (3500 - 8000 MWCO de tubos de diálisis) y se liofilizó para dar un precipitado blanco como la nieve de aproximadamente 30% peso/peso de tántalo. IR (mull de nujol, placas de NaCl, cm⁻¹): 1454 (muy fuerte), 1413 (débil), 1376 (fuerte), 1296 (débil), 1274 (débil), 1218 (fuerte), 1170 (medio), 1029 (muy fuerte), 964 (muy fuerte), 782 (medio). RMN (D₂O, ppm): ³¹P, 37,4 (ancho); ¹H (resonancias ampliadas), 4,16, 1,88, 1,37, 0,85.

Ejemplo 3

Este Ejemplo sirve para ilustrar cómo se puede preparar un agente de obtención de imágenes de TC, según algunas realizaciones de la presente invención. En este Ejemplo particular, una envoltura pasiva de ligando de citrato está unida a un núcleo activo de óxido de tántalo. Además, en este Ejemplo particular, la envoltura se formó en conjunción con el núcleo.

Este ejemplo describe la preparación directa de nanopartículas de Ta₂O₅ a partir de polvo de tántalo (malla 325, Aldrich). El polvo de tántalo contenía Ta (0), es decir, tántalo en estado de valencia cero. Se preparó una disolución por combinación de 20 ml de peróxido de hidrógeno al 30% y 5 ml de disolución de hidróxido de amonio (NH₃ al 28-30% en agua). Éstos se combinaron en un matraz de dos bocas bajo nitrógeno y se enfriaron con un baño de hielo. Subsecuentemente, se realizó la adición de polvo de Ta (5 mmol, 0,907 g) y se dejó agitar la mezcla durante 2 h (se puede usar agitación magnética a pequeña escala, pero el agitador mecánico es más apropiado para escalas mayores). A continuación se añadió ácido cítrico (15 mmol, 3,152 g) y se acopló un condensador al matraz. La suspensión se calentó a 80°C durante 18 h. La reacción se dejó enfriar y el polvo de tántalo restante se separó por filtración a través de una frita de vidrio de calidad media. El filtrado se concentró por retirada de agua por medio de rotoevaporación. La disolución coloreada restante se dializó a continuación con un corte de 3,5 K en una disolución acuosa tamponada hasta un pH de 7,2. La disolución resultante se analizó para determinar las nanopartículas. Si se desea, las nanopartículas pueden aislarse por liofilización.

La Figura 6 muestra la distribución de diámetros para un conjunto de nanopartículas preparadas según este Ejemplo tal como se mide por DLS convencional, mostrando un diámetro medio del conjunto de 7 nm. La Figura 7 muestra una imagen de TEM de nanopartículas preparadas según este Ejemplo.

Ejemplo 4

Este Ejemplo sirve para ilustrar cómo se puede usar un agente de obtención de imágenes de TC. En este Ejemplo

particular, los estudios de viabilidad celular de nanopartículas de núcleo activo / envoltura pasiva no muestran una pérdida apreciable de viabilidad celular durante el periodo de tiempo estudiado.

Los monocitos THP1 (ATCC TIB-71) se diluyeron hasta la densidad final de 1×10^6 células/ml en medio RPMI 1640 + 10% de FBS y 500 μ l de células se dividieron en alícuotas en cada pocillo de una placa de 24 pocillos. Las nanopartículas de óxido de tantalio filtradas estériles (100 mM Ta) se pipetearon en los pocillos. Para los pocillos de control, se añadieron a las células 50 μ l de disolución salina estéril al 0,9% (control negativo) o 80 μ l de peróxido de hidrógeno al 30% (control positivo). La placa se agitó con un agitador de vórtice suavemente después de la adición y las células se cultivaron en condiciones normales (37°C, 5% de dióxido de carbono, 100% de humedad).

Después de la incubación, las células se pipetearon a tubos de centrifuga y las células se centrifugaron a 300 x g durante 5 minutos a 20 grados centígrados, y el medio se aspiró suavemente. Las células se lavaron con 500 μ l de 1X PBS, se agitaron en un agitador de vórtice suavemente y se centrifugaron a 300 x g durante 5 minutos a 20°C. Las células se lavaron y el tampón se aspiró suavemente. Se preparó tampón de ensayo de anexina V FLUOS (que contenía tampón de incubación, anexina V-fluoresceína y yoduro de propidio) según el protocolo del fabricante (kit Annexin V FLUOS, Roche) y se añadieron 100 μ l a cada tubo. Los tubos con células se agitaron en un agitador de vórtice suavemente y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadieron 300 μ l adicionales de tampón de incubación a cada tubo antes del análisis de citometría de flujo.

Se midieron los siguientes: el número de células positivas para anexina V-fluoresceína sola (células apoptóticas), positivas para anexina V-fluoresceína y yoduro de propidio (células necróticas) o negativas para ambas (células viables).

Haciendo referencia a la Figura 8, todas las preparaciones de óxido de tantalio hasta Ta 0,1 mM muestran un número despreciable de células apoptóticas o necróticas lo que indica que no hay pérdida de viabilidad celular después de 3 horas de exposición a las nanopartículas.

Ejemplo 5

Este Ejemplo sirve para ilustrar cómo se puede usar un agente de obtención de imágenes de TC. En este Ejemplo particular, los estudios de activación del complemento de nanopartículas de núcleo activo / envoltura pasiva no muestran un incremento apreciable de C3a en comparación con sueros no tratados o tratados con disolución salina.

Se adquirió plasma y suero humano de un proveedor comercial (Bioreclamation). Para aislar el suero, se extrajo la sangre entera en tubos para suero y se dejó coagular a temperatura ambiente durante 30-45 minutos. La muestra se centrifugó a 2000 x g durante 10 minutos y el suero se congeló inmediatamente a -70°C. Las muestras se transportaron durante la noche sobre hielo seco y se almacenaron a -70°C.

El suero se descongeló a 37°C durante algunos minutos en un baño de agua. Se añadieron 250 μ l de suero a pocillos individuales de una placa de 24 pocillos. Se añadieron muestras de ensayo estériles (agente de Ta, disolución salina y factor de veneno de cobra) a sueros hasta un volumen final de 300 μ l. La placa de 24 pocillos se transfirió a una incubadora (37°C) durante 30 minutos con agitación ocasional.

Haciendo referencia a la Figura 9, siguiendo los protocolos del fabricante (ensayo de C3a, Quidel), se prepararon disoluciones patrón y diluciones para generar una curva estándar de C3a y muestras de C3a de alta/baja concentración.

Para detener la producción de C3a después de 30 minutos de incubación, se añadió citrato de sodio 37,5 mM a cada pocillo y se transfirieron 0,5 μ l de suero (con y sin muestras de ensayo) a 1,5 ml de tampón de muestra del kit en tubos Eppendorf. Los tubos se invirtieron 3 veces suavemente para mezclar el suero y el tampón de muestra, a continuación se añadieron 100 μ l del suero diluido a los pocillos individuales de las tiras de ensayo de C3a y se incubaron a temperatura ambiente durante 60 minutos. Los pocillos se lavaron tres veces con tampón de lavado (200 μ l de tampón de lavado por lavado, tampón de lavado en el pocillo durante 1 minuto por lavado). Se añadieron 100 μ l de disolución de conjugado de C3a y la combinación resultante se incubó durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se repitió el protocolo de lavado (tres lavados, 200 μ l de tampón de lavado por lavado, tampón de lavado en el pocillo durante 1 minuto por lavado) a continuación se añadieron 100 μ l de sustrato a cada pocillo. Después de incubar durante 15 minutos, se añadieron 100 μ l de disolución de parada y se midió la absorbancia a 450 nm en un lector de placas UV de 96 pocillos. Los niveles de C3a se calcularon a partir de la curva estándar de C3a.

La Figura 10 muestra datos del análisis. En particular, la Figura 10 muestra datos del experimento de incubación de núcleos de óxido de tantalio con cada una de las siguientes envolturas; PEG, EDTA, citrato y glucosa en suero. Aunque algunos compuestos (Ta EDTA) disminuyeron los niveles de C3a, ninguno mostró un aumento de C3a en comparación con suero no tratado o suero tratado con disolución salina. No se observa un incremento significativo en los niveles de C3a por la adición de hasta 100 mM de Ta. Se usó análisis elemental vía ICP-MS para determinar el contenido total de Ta.

Ejemplo 6

Este Ejemplo sirve para ilustrar adicionalmente cómo se puede usar un agente de obtención de imágenes de TC basado en nanopartículas de núcleo/envoltura para mejorar el contraste.

5 Todos los estudios de obtención de imágenes se realizaron en un sistema de obtención de imágenes eXplore Locus microCT usando los siguientes parámetros: 80 kV, 4 minutos de adquisición.

10 Se anestesió una rata hembra Dark Agouti de aproximadamente 160 g de peso corporal mediante inyección IP de ketamina / diazepam. Se colocó un catéter IV (calibre 24) en la vena de la cola y se lavó con 200 μ l de disolución salina estéril. A continuación, se obtuvieron imágenes de la rata en microCT desde la base de la caja torácica hasta la vejiga (barrido previo a la inyección). Inmediatamente después del barrido, a la rata se le inyectó vía catéter 1 ml de 210 mg de Ta / ml de agente de óxido de tántalo-PEG550 y se escaneó después de completar el barrido anterior.

15 Haciendo referencia a la Figura 12, las imágenes se reconstruyeron a media resolución y se visualizaron usando proyecciones de máxima intensidad. Inmediatamente después de la inyección, se observó contraste en la aorta abdominal, la vena cava y las arterias renales. Dentro de los 14 minutos después de la inyección, el agente era visible en el riñón y los uréteres, a medida que se excretaba a la vejiga. El contraste de la vejiga fue prominente dentro de los 23 minutos después de la inyección. Haciendo referencia también a la Figura 12, los estudios de obtención de imágenes de TC muestran una eliminación de la sangre entre 6 y 14 minutos, seguido de la excreción renal a la vejiga en 30 minutos.

20 Se obtuvieron imágenes de la rata durante 60 minutos después de la inyección y a continuación se devolvió a la jaula. Después de 24 horas, se obtuvieron imágenes de la rata nuevamente y no se observó ningún contraste restante en la vejiga o en los riñones. No se observan efectos adversos en las ratas inyectadas.

La Figura 11 muestra una imagen de la arteria abdominal que se obtuvo por obtención de imágenes de microCT usando nanopartículas con Ta₂O₅ y envolturas de PEG.

Ejemplo 7

25 Este Ejemplo sirve para ilustrar adicionalmente cómo el diámetro medio de un conjunto de nanopartículas de núcleo y envoltura se puede controlar por filtración, según algunas realizaciones de la presente invención. Además, en este ejemplo, se administraron disoluciones de diferente tamaño de partícula a sujetos ratas de laboratorio.

30 Se empleó la filtración de flujo tangencial (TFF) como un método para retirar partículas de óxido de tántalo grandes, en lugar de usar filtros de membrana de 100 nm o 20 nm en modo de Filtración Normal (NF). Se usaron filtros de corte de peso molecular compatible con TFF (MWCO) que variaban entre 100 kD y 10 kD en el proceso de TFF con el fin de retirar las nanopartículas más grandes. Los filtrados de los filtros en el intervalo especificado (de 100 kD a 10 kD de MWCO) contenían nanopartículas de óxido de tántalo más pequeñas.

35 También se empleó la TFF como un método de purificación de nanopartículas más pequeñas de óxido de tántalo en dichos filtrados, retirando impurezas de bajo peso molecular, sales, etc. en lugar de diálisis. Se usaron filtros de corte de peso molecular (MWCO) que variaban entre 10 kD y 5 kD en el proceso de TFF con el fin de retirar las impurezas. Las fracciones retenidas de los filtros en el intervalo especificado (MWCO de 10 kD a 5 kD) contenían nanopartículas de óxido de tántalo pequeñas purificadas.

40 Además, se empleó TFF como un proceso para fraccionar en tamaño y purificar nanopartículas de óxido de tántalo en etapas secuenciales. Por ejemplo, las nanopartículas polidispersas de óxido de tántalo se procesaron mediante TFF usando un filtro de MWCO de 30 kD, reteniendo por ello partículas de ~ 6 nm (retenido) y permitiendo el paso de partículas de ~3 nm (filtrado). Los filtrados que contienen partículas de ~ 3 nm, sirvieron a continuación como fracciones retenidas en un proceso TFF que emplea filtros de MWCO de 10 kD o 5 kD.

La TFF es un proceso eficiente y escalable para producir nanopartículas de tamaños seleccionados, con un más alto grado de pureza, que el conseguible por una combinación de técnicas de filtración normal (de membrana o centrífugas) y de diálisis.

45 Se prepararon tres preparaciones de disoluciones de nanopartículas, que tiene cada una un tamaño de partícula medio nominal diferente (20 nm, 6 nm y 3 nm), según los métodos descritos anteriormente y se administraron a sujetos ratas de laboratorio con niveles de dosis idénticos. Después de un periodo de tiempo dado, se analizaron los riñones de las ratas para determinar las concentraciones de partículas retenidas (calculadas como mg de Ta / g de muestra de riñón). Los resultados indicaron que la eliminación de partículas era una función fuerte del tamaño medio de partícula. Para el riñón, la concentración de partículas de 6 nm era inferior a la concentración de partículas de 20 nm en alrededor de 20%, y la concentración de partículas de 3 nm era inferior a la concentración de 20 nm en alrededor de 50%

REIVINDICACIONES

1. Un agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X que comprende:
 - a) un núcleo activo de nanopartícula, en el que el núcleo activo de nanopartícula comprende tántalo (Ta) en un estado de valencia distinto de cero;
 - b) una nanoenvoltura pasiva en la que el material del que está hecha la nanoenvoltura es soluble en agua y biocompatible, y
 - c) la nanoenvoltura está dispuesta alrededor del núcleo de la nanopartícula tal que, en conjunto, el núcleo activo de nanopartícula y la nanoenvoltura pasiva forman una nanopartícula de núcleo/envoltura que es operativa para uso como un agente de obtención de imágenes en la obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X.
2. El agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X de la reivindicación 1, en el que el núcleo activo de nanopartícula comprende un óxido de tántalo.
3. El agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X de la reivindicación 1 y 2, en el que el núcleo activo de nanopartícula comprende Ta₂O₅.
4. El agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X de la reivindicación 1 a 3, en el que la nanopartícula tiene un diámetro medio de 1 nm a 20 nm.
5. El agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X de la reivindicación 1, en el que la nanoenvoltura comprende material seleccionado del grupo que consiste en ligandos, oligómeros, polímeros, clústeres, especies carbohidrato, sílice funcionalizada, y sus combinaciones.
6. El agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X de la reivindicación 5, en el que la nanoenvoltura comprende material seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicol, polietilenimina, poli(sulfato de vinilo), polivinilpirrolidona, citrato, malato, glicolato, silanos, y sus combinaciones.
7. El agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X de la reivindicación 6, en el que la nanoenvoltura comprende material seleccionado de dietilfosfatoetiltriatoxisilano (PHS) y 2-[metoxi(poli(etileno)oxi)propil]trimetoxisilano (PEGsilane550).
8. Una disolución de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X, que comprende un conjunto de agentes de obtención de imágenes de la reivindicación 1 a 7, en la que el diámetro medio del conjunto no es más de 10 nm.
9. Un método para preparar un agente de obtención de imágenes de tomografía computarizada de rayos X, comprendiendo el método las etapas de:
 - a) proporcionar un primer material precursor que comprende tántalo;
 - b) formar un núcleo activo a partir del primer material precursor, comprendiendo el núcleo tántalo en un estado de valencia distinto de cero;
 - c) proporcionar un segundo material precursor; y
 - d) formar una envoltura pasiva a partir del segundo material precursor, en el que la envoltura pasiva que comprende un polímero seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicol, polietilenimina, poli(sulfato de vinilo), y polivinilpirrolidona, y sus combinaciones está dispuesta alrededor del núcleo tal que el núcleo y la envoltura forman una nanopartícula de núcleo/envoltura;
- en el que el material del que está hecha la nanoenvoltura es soluble en agua y biocompatible.
10. El método de la reivindicación 9, en el que el núcleo activo comprende Ta₂O₅.
11. El método de la reivindicación 9 y 10, en el que el segundo material precursor comprende un silano polimerizable.
12. El método de la reivindicación 10, en el que la envoltura pasiva comprende un material seleccionado de dietilfosfatoetiltriatoxisilano (PHS) y 2-[metoxi(poli(etileno)oxi)propil]trimetoxisilano (PEGsilane550).
13. El método de la reivindicación 9 a 12, en el que el segundo precursor comprende un ácido carboxílico y la envoltura pasiva comprende un ácido carboxílico seleccionado del grupo que consiste en citrato, glicolato, y malato.

14. El método de la reivindicación 9 a 13, que comprende adicionalmente la etapa de seleccionar un diámetro medio de la nanopartícula por filtración de flujo tangencial, diafiltración o filtración normal.

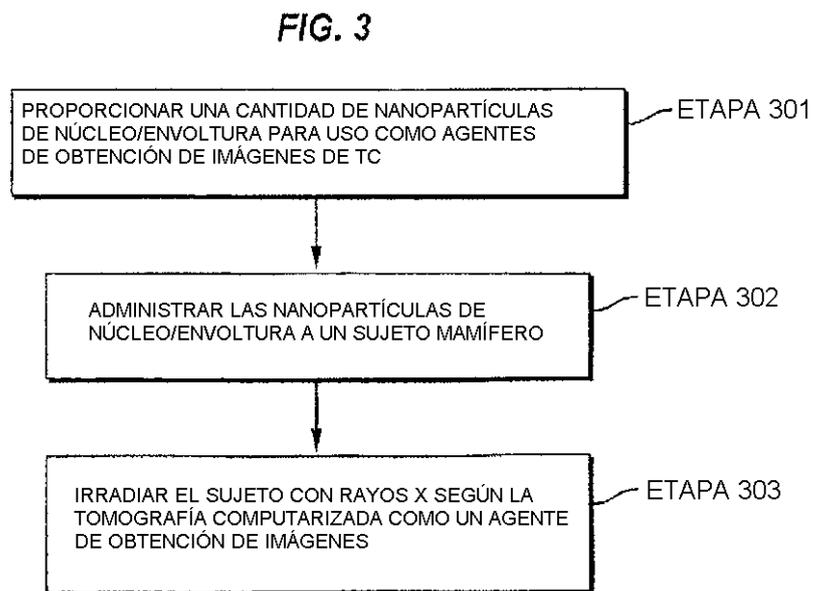
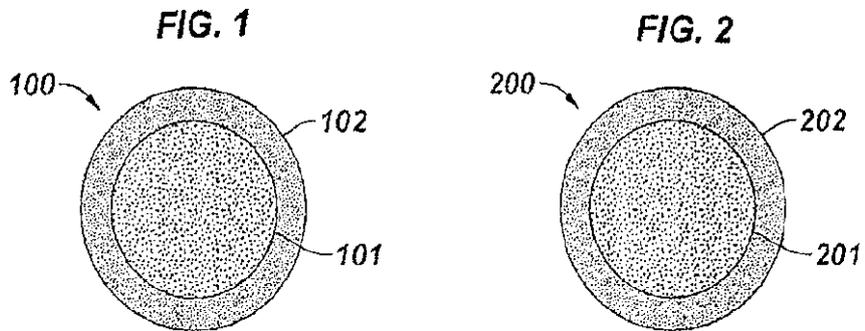


FIG. 4

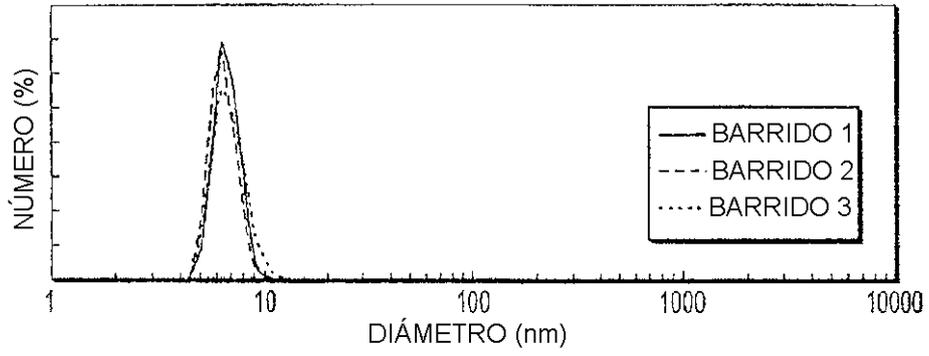


FIG. 5

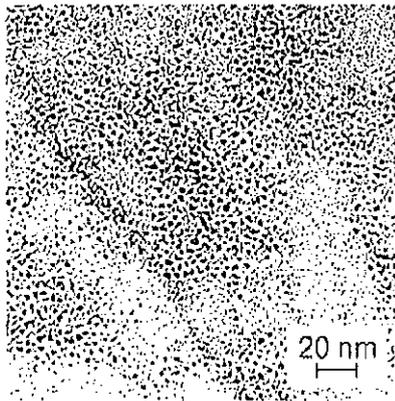


FIG. 6

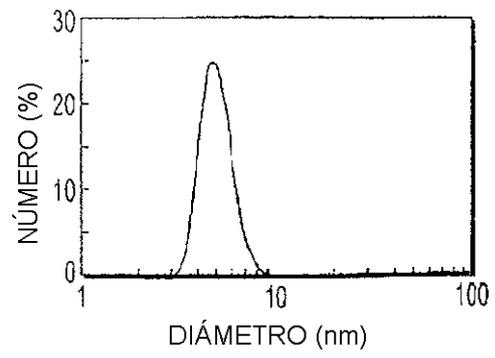


FIG. 7

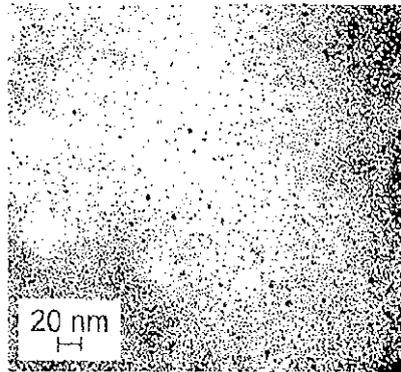


FIG. 8

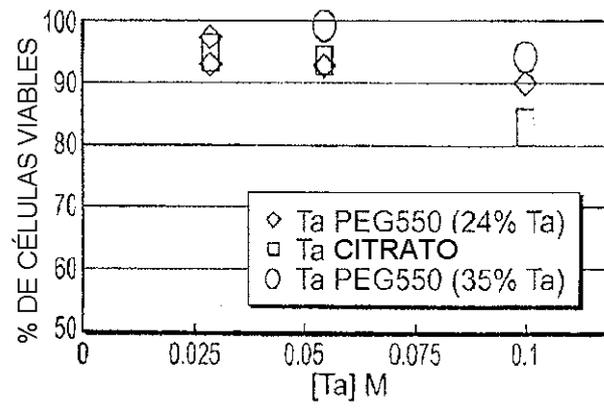


FIG. 9

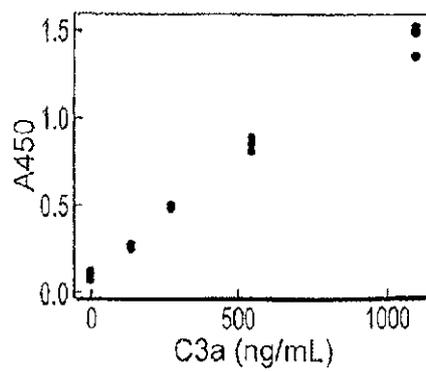


FIG. 10

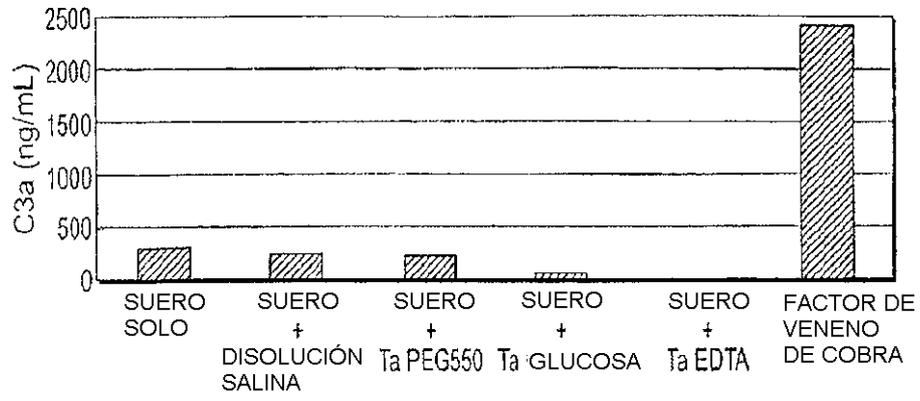


FIG. 11



FIG. 12

