

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 504**

51 Int. Cl.:

A61K 9/10	(2006.01)
A61K 33/24	(2006.01)
A61K 9/14	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)
C30B 7/12	(2006.01)
C30B 29/02	(2006.01)
B82Y 30/00	(2011.01)
B22F 1/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.07.2010 PCT/US2010/041427**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.01.2011 WO11006007**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2010 E 10797874 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.03.2017 EP 2451284**

54 Título: **Nanocristales novedosos basados en oro para tratamientos médicos y procedimientos de fabricación electroquímica para los mismos**

30 Prioridad:

08.07.2009 US 223944 P
16.07.2009 US 226153 P
24.07.2009 US 228250 P
20.08.2009 US 235574 P
08.10.2009 US 249804 P
23.11.2009 US 263648 P
13.01.2010 US 294690 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.07.2017

73 Titular/es:

CLENE NANOMEDICINE, INC. (100.0%)
One Resonance Way
Havre de Grace, MD 21078, US

72 Inventor/es:

MORTENSON, MARK;
PIERCE, D., KYLE;
BRYCE, DAVID;
DORFMAN, ADAM;
WILCOX, REED;
LOCKETT, ANTHONY y
MERZLIAKOV, MIKHAIL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 623 504 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

Nanocristales novedosos basados en oro para tratamientos médicos y procedimientos de fabricación electroquímica para los mismos

La presente invención se refiere a nanocristales novedosos de oro y distribuciones de forma de nanocristal que tienen superficies que son sustancialmente libres de impurezas orgánicas o de otras o películas. Específicamente, las superficies son "limpias", en relación a las superficies de nanopartículas de oro realizadas mediante procedimientos de reducción química que requieren reductores orgánico y/o agentes tensoactivos para hacer crecer nanopartículas de oro de iones de oro en la solución.

La invención incluye aparatos de fabricación electroquímica y técnicas para la fabricación de los nanocristales basados en oro. La invención además incluye composiciones farmacéuticas de los mismos y el uso de nanocristales de oro o suspensiones o coloides de los mismos para el tratamiento o prevención de enfermedades o condiciones para las que se conoce la terapia de oro y más generalmente para condiciones resultantes de la activación celular patológica, tal como condiciones inflamatorias (incluyendo inflamatoria crónica), condiciones autoinmunes, reacciones de hipersensibilidad y/o enfermedades cancerosas o condiciones. En una modalidad, la condición es mediada por MIF (factor de inhibición de migración de macrófagos).

Antecedentes de la invención

Sales de oro

Robert Koch es acreditado con descubrir el efecto bacteriostático de cianuro de oro sobre Mycobacterium tuberculosis. Posteriormente se observó que los pacientes con tuberculosis a menudo se benefician de una reducción de ciertas afecciones inflamatorias cuando se reciben inyecciones de sal de oro para la enfermedad. Esta reducción observada en la inflamación condujo a la aurotiolatos que se utilizan por Forestier en 1927 como un tratamiento para la artritis reumatoide (Panyala, 2009) (Abraham, 1997). Los primeros productos basados en oro fueron inyectados normalmente de forma intramuscular o subcutánea (y más tarde en forma intraarterial) y algunos están todavía disponibles hoy y/o todavía se utilizan para tratar la artritis reumatoide.

Específicamente, se ha conocido desde hace muchos años que ciertos compuestos de oro poseen actividad anti-inflamatoria. Por ejemplo, (i) tiomalato de sodio oro (también conocido como "tiomalato oro de sodio"), comercializado como Myocrisin y versiones químicas relacionadas, comercializadas como Myochrisine y Myochrisis; (ii) tioglucosa de sodio oro (también conocido como "tioglucosa oro de sodio"), comercializada como Solganol; (iii) tiosulfato de sodio oro, comercializado como Sanocrysin y versiones químicas relacionadas, comercializadas como Crisalbina, Aurothion y Sanocrysis; y (iv) tiopropanolsulfonato de oro de sodio, comercializado como Allocrysin, se han utilizado en el tratamiento de la artritis reumatoide (Sadler, 1976; Shaw, 1999; Eisler, p.133, 2004). Sólo sales de oro monovalentes se creía que presentaban efectos terapéuticos para el tratamiento de artritis reumatoide. En 1961 el Consejo de reumatismo Imperial afirmó que sales de oro inyectables mostraban eficacia y sales de oro siguen siendo un método ampliamente utilizado para el tratamiento de la artritis reumatoide progresiva (Ueda, 1998).

Tratamiento con diferentes sales de oro también se han sugerido, o anecdóticamente observada, para ser eficaz en una variedad de otras enfermedades, incluyendo el VIH, la malaria, asma y cáncer. Existe un considerable cuerpo de evidencia en estas enfermedades, en modelos humanos y animales, sugiriendo que el oro puede ser una opción de tratamiento viable para estas áreas de necesidad médica no satisfecha (Dabrowiak, 2009).

Oro oral

Más recientemente, un producto de oro oral, 2,3,4,6-Tetra-o-acetil-tio-B-glucopiranosato-S-(trietil-fosfina), comercializado como Auranofin® o Ridaura® en varias partes del mundo, se ha convertido en disponible (Ho & Tiekink, 2005, Dabrowiak, 2009). Auranofin® fue aprobado por la FDA para uso humano a mediados de 1980; y Auranofin® tiene la ventaja de ser absorbida oralmente, pero se considera menos eficaz que los tiolatos de oro inyectables (Sadler, 1976; Shaw 1999).

Toxicología de sales de oro y oro oral

Históricamente, la toxicidad ha limitado el uso de los inyectables y terapias orales basadas en oro, con cualquier parte de 30-50% de los pacientes que terminan varios tratamientos basados en oro debido a efectos secundarios indeseables o intolerables. Los efectos secundarios de muchas terapias convencionales de oro incluyen erupciones o efectos mucocutáneos (por ejemplo, prurito, dermatitis y estomatitis); cambios hematológicos (por ejemplo, trombocitopenia); proteína en la orina (proteinuria); inflamación de la boca; reducción del número de leucocitos circulantes; reducción del número de plaquetas de sangre; anemia aplásica debido a daño de los órganos; anomalidades pulmonares; reacciones adversas inmunes, tales como eosinofilia, linfadenopatía, hipergammaglobulinemia; hipotensión severa, angina, infarto de miocardio, nefrotoxicidad y síndrome nefrótico; hepatitis; colitis; y crisis (pigmentación) de la córnea, lente y piel (Eisler, p.133-134, 2004). El efecto secundario más común de

crisoterapia fue la toxicidad de la piel, hasta un 60% de todas las reacciones adversas, especialmente las erupciones liquenoides y dermatitis no específica (Eisler, p. 133-134, 2004). Se cree que estos efectos secundarios son relacionados con las formulaciones utilizadas (por ejemplo, molécula portadora, estado de oxidación del oro en el compuesto, etc.), más que el propio oro (Ho & Tiekink, 2005).

Payne y Arena en 1978 informaron la toxicidad sub-aguda y crónica de varios compuestos de oro oral, incluyendo Auranofin®, en ratas, en comparación con un control de oro inyectado. Ratas Sprague Dawley fueron dosificadas por periodos de 6 semanas, 6 meses y un año. En un estudio de seguimiento, la investigación durante 1 año se repitió con asesinatos secuenciales y régimen de dosificación modificado.

Los órganos de destino identificados por este estudio fueron el estómago y los riñones. Cambios gástricos consisten en erosiones superficiales de la mucosa que se extiende hasta 1/3 del espesor de la mucosa y cubriendo hasta un 5% de su área superficial. Este cambio fue relacionado con la dosis y se asoció con la pérdida de peso corporal. La curación de lesiones también fue evidente. En el riñón de ratas dado SK&F 36914 durante seis meses hubo ampliación de células epiteliales tubulares corticales (citomegalia). Además, hubo una ampliación relacionada con la dosis del núcleo (cariomegalia), con evidencia de células pleomórficas y multinucleadas. En el estudio de 1 año se observaron cambios similares, pero en adenomas de células corticales renales adicionales fueron vistos en una incidencia relacionada con la dosis (0/38, 3/39, 6/37 y 8/37 para el control, de dosis baja, intermedia y alta, respectivamente). En un estudio repetido durante 1 año se produjo una incidencia inesperadamente alta de mortalidad. Esto fue atribuido a lesiones ileocaecales que progresan a ulceración que parecía perforar la pared intestinal en un número de casos. Presumiblemente la muerte resultante de la peritonitis infecciosa aguda. En los controles inyectados, tiomato de sodio oro fue administrado por inyección intramuscular una vez semanal durante un año y, en un segundo estudio, una vez semanal durante 46 semanas y luego diario durante 330 días. En el estudio de 1 año, se observó cariomegalia celular tubular renal y adenoma de células renales se observa en 1/16 hembras pero no en los hombres. En el estudio de 21 meses todas las ratas supervivientes muestran cariomegalia del epitelio tubular renal cortical y con frecuencia se observaron túbulos quísticos. Adenomas renales, ocasionalmente múltiples, se observaron en 8/8 hembras y machos 3/7 sobreviviendo a 21 meses (Payne & Arena, 1978). Resultados similares se observaron en perros (Payne & Arena, The subacute and chronic toxicity of SK&F 36914 y SK&F D-39162 in dogs, 1978).

Szabo et al. 1978a reportaron los efectos de compuestos que contienen oro, incluyendo Auranofina® en ratas embarazadas y fetos. Los efectos del tiomato de sodio oro y el compuesto de oro oral auranofina® en toxicidad maternal y fetal y teratogenicidad se investigaron. Oro oral fue administrado por intubación en los días 6-15 de embarazo, mientras que el tiomato de sodio de oro fue administrado en los días 6-15 por inyección subcutánea. Este fue un período de exposición estándar en estos estudios y esta exposición es considerada equivalente para el primer trimestre de la gestación humana. Se utilizaron procedimientos estándar para examinar fetos y los tamaños de grupo fueron adecuados para la finalidad del estudio. Toxicidad maternal y fetal fue evidente y fetos de animales dosificados con tiomato de sodio oro mostraban un patrón de malformaciones relacionadas con la dosis. Las dosis utilizadas condujeron a la muerte de una parte de las presas y mostraban marcados efectos sobre el peso corporal (incluyendo la pérdida de peso real al inicio de la dosificación) y reducción del consumo de alimentos. Las malformaciones incluyen anomalías esqueléticas, malformaciones externas y grados de hidrocefalia y defectos oculares. SK&F D-39162 no afectó la ganancia de peso o la ingesta de alimentos, pero también se asoció con reducciones del peso fetal en comparación con controles. El único gran defecto encontrado con el tratamiento con SK&F D-39162 fue edema. No hubo evidencia de un efecto de tiomato de oro sodio en la implantación, resorción, número fetal o peso fetal en los animales tratados con tiomato de sodio oro. Estos autores concluyeron que los efectos sobre el feto fueron indirectos y atribuibles a la acumulación de oro en los lisosomas del epitelio del saco vitelino visceral, con la consiguiente inhibición de enzimas vitales involucradas en nutrición fetal. Esta hipótesis fue avanzada para explicar la teratogenicidad de otros productos químicos y podría ser plausible (Szabo, Guerriero y Kang, The effects of Gold containing compounds on pregnant rats and their fetuses, 1978).

Szabo et al 1978b reportaron los efectos de compuestos que contienen oro en conejos preñados y fetos. En este estudio fueron dosificados conejos preñados de 6-18 días de embarazo. Tiomato de sodio de oro fue administrado por inyección sub-cutánea y compuestos orales fueron dados por intubación. Ambas vías de administración condujeron a muertes maternas y abortos también se observaron también en animales sobrevivientes. Disminuciones relacionadas con la dosis en el consumo de alimento materno, conduce a pérdidas de peso corporal real, se observaron en las dosis más altas de oro inyectado y oral. Efectos también fueron evidentes en tamaños de camada, números de resorción y promedio de peso fetal. Malformaciones y anomalías fetales también se observaron, principalmente en el abdomen (gastroesquias y hernia umbilical), con una menor incidencia de anomalías que afectan al cerebro, pulmones, corazón y esqueleto. Los autores concluyeron que la incidencia de anomalías abdominales, superior a todos sus datos históricos de control, indicando una sensibilidad específica en el conejo a tal efecto del oro (Szabo, DiFebbo & Phelan, 1978).

Basado en estos estudios, la administración oral de dosis relativamente altas de compuestos que contienen oro se asocia con una incidencia relacionada con la dosis de erosiones de la mucosa gástrica y, en un estudio de duración más largo, de lesiones importantes ileocaecales (incluyendo ulceración) que causaron la muerte de un número de animales. Examen de los datos presentados sugieren que las lesiones gástricas son típicas de un marcado efecto

local directo sobre la mucosa. El epitelio tubular cortical renal fue otro tejido objetivo, quizá mediante el desarrollo de altas concentraciones locales durante la concentración de la orina. Las lesiones corticales del epitelio tubular progresaron desde cariomegalia a la formación de adenoma en un número significativo de animales. Aunque se trata de un tumor benigno no se puede ignorar en términos de evaluación de riesgos. Sin embargo, también se destaca que las lesiones del riñón del roedor son relativamente comunes, especialmente en los hombres, pero estas parece que afectan a las mujeres relativamente más que los hombres en estos estudios.

Las lesiones gástricas se produjeron después de la administración de cantidades relativamente grandes de soluciones de oro. También hubo una sugerencia en estos estudios que el agente tóxico importante es oro iónico (por ejemplo, Au (III) o Au³⁺). Lesiones de este tipo también son producidas por muchos agentes NSAID utilizados en el tratamiento de diversas formas de artritis y generalmente se consideran un efecto secundario manejable, aunque indeseable. En consecuencia, la ausencia de tales efectos negativos constituye una ventaja sobre terapias existentes basadas en oro.

Cheriathundam y Alvares en 1996 evaluaron los efectos de tiolato sodio oro y Auranofin® en hígado y marcadores de riñón y niveles de metalotioneina en las ratas Sprague Dawley y tres cepas de ratón (Swiss-Webster, C3H/Hej y DBA/2J). En la rata, tiolato de oro sodio condujo a un aumento de 7 veces en niveles de metalotioneina hepática, mientras que en las cepas de ratón niveles de metalotioneina aumentan 2 veces en el Swiss-Webster y aproximadamente 5 veces en las cepas consanguíneas. Tiolato de oro sodio llevó a sólo cambios mínimos en niveles de metalotioneina renal en las cepas de ratón. El suero marcador hepático ALAT no fue alterado por tiolato de oro sodio en cualquiera de las especies o cepas probadas. BUN, un indicador de la función renal, se elevó 3 veces en ratas, pero no en ninguna de las cepas de ratón. Estos datos son coherentes con la observación de que tiolato de oro sodio es nefrotóxico en ratas y humanos, pero es interesante observar la falta de pruebas de nefrotoxicidad en el ratón (Cheriathundam & Alvares, 1996).

La observación de toxicidad embrionaria y defectos fetales después del tratamiento de animales preñados de dos especies sugiere la posibilidad de que oro en muchos, si no todas las formas utilizadas anteriormente, representa un riesgo de desarrollo. Esto tiene paralelismos con muchas otras terapias de RA actuales, en donde metotrexato, por ejemplo, está sujeto a las advertencias de los efectos dañinos potenciales en el feto.

Se han identificado varias posibles acciones farmacológicas que contribuyen a la eficacia clínica y reacciones adversas de oro oral. Por ejemplo, Walz y sus colegas mostraron que la auranofina® inhibió el edema inducido por carragenina en ratas de una manera relacionado con la dosis en concentraciones de 40, 20 y 10 mg/kg con inhibición máxima de 86% con la dosis más alta y un nivel de suero oro de aproximadamente 10 µg/ml. Los dos ligandos básicos de Auranofina®, es decir óxido de trietilfosfina y 2,3,4,6-tetra-o-acetil-1-tio-β-D glucopiranososa no mostró cualquier actividad biológica significativa y tiomalato de oro sodio, tioglucosa de oro y ácido tiomalico no afectaron significativamente el edema de la pata de rata. Auranofina® ha demostrado que suprime significativamente la artritis adyuvante, considerando que los ligandos estuvieron sin ningún efecto. Auranofina® inhiben lisis de complemento dependiente de anticuerpos. Auranofina® ha demostrado que inhibe la liberación de enzimas lisosomales como β-glucuronidasa y lisozima de polimorfos estimuladas. Auranofina® es un potente inhibidor de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo exhibida por polimorfos de ratas artríticas adyuvantes. Auranofin® es un inhibidor mucho más potente de la producción de superóxido que tiomalato de sodio oro. En un ensayo de fagocitosis inmune, tiomalato de sodio oro no mostró ninguna actividad inhibidora en una concentración de 40 veces que de Auranofin®, causando inhibición marcada (Walz, DiMartino, Intocca & Flanagan, 1983).

Walz y sus colegas también señalaron que la Auranofin® es más potente que tiomalato de sodio oro como un inhibidor de la migración cutánea, quimiotaxis y fagocitosis por los monocitos de sangre periférica. Lipsky y sus colegas demostraron que la Auranofina®, como tiomalato de oro sodio inhibe linfoblastogénesis in vitro inhibiendo directamente la fagocitos mononucleares. Sin embargo, Auranofina® también tuvo un efecto inhibidor sobre la función de linfocitos, no observado con tiomalato de sodio oro. Inhibición de monocitos se logró con concentraciones de Auranofina® que eran de 10 a 20 veces inferiores a las de tiomalato de sodio oro (Walz, DiMartino, Intocca & Flanagan, 1983).

En general, los pacientes con enfermedad reumatoide activa tienen una capacidad disminuida para linfoblastogénesis estimulada con mitógeno o linfoblastogénesis inducida por la reacción linfocitaria mixta. Aunque pacientes tratados inicialmente con tiomalato de sodio oro primero mostraron alguna represión de linfoblastogénesis estimulado con mitógeno, quienes finalmente respondieron al fármaco mostraban capacidad de respuesta normal de linfocitos in vitro. En contraste, dentro de unas semanas de los pacientes que recibieron auranofin®, la capacidad de respuesta de linfocitos marcadamente fue inhibida. Así, Auranofin® exhibe un efecto inmunosupresor potente in vitro en un orden de magnitud menor que los compuestos de oro inyectables, más probablemente debido a las importantes diferencias en las propiedades farmacológicas de los compuestos orales frente a los compuestos inyectables de oro-tiol (Dabrowiak, 2009).

Las reacciones adversas fueron el principal factor limitante para el uso de compuestos orales de oro como Auranofin®, en donde aproximadamente el 30-50% de los pacientes tratados desarrollaron algún tipo de toxicidad (Dabrowiak, 2009) (Kean & Anastassiades, 1979) (Kean & Kean, The clinical Pharmacology of Gold, 2008).

Erupción cutánea fue el efecto secundario negativo más común y algún tipo de erupción se produjo en aproximadamente el 30% de los pacientes. La mayoría de las lesiones ocurrió en las manos, antebrazo, tronco y espinillas, pero ocasionalmente se produjo en la cara y eran ligeramente eritematosas con parches escamosos, 1-10 cm de tamaño, parecido a una erupción seborreica. Se han registrado graves problemas de erupción cutánea en forma de eczema numular, exfoliación total y prurito intenso como raros.

Úlceras orales (doloroso y libre de dolor) similares a la úlcera de la boca, se produjo en aproximadamente el 20% de los pacientes que recibieron terapia de oro inyectable. El desarrollo de una úlcera de boca fue una contraindicación clara para la continuación de la terapia de oro ya que se sabe que la ulceración oral podría anunciar las lesiones cutáneas bulosas tipo penfi-oro.

La frecuencia de proteinurea varía ampliamente (0-40%) en los estudios reportados por Kean y Anastassiades, más probablemente reflejando diferentes definiciones de lo que constituye la proteinurea. En estos estudios no hay casos bien documentados de cualquier daño renal a largo plazo permanente o grave debido a la terapia de oro; sin embargo, hematuria microscópica fue una causa para suspender el tratamiento oral de oro (Kean & Anastassiades, 1979).

Trombocitopenia debido a compuestos de oro se produjo como dos tipos distintos: el más habitual se asoció con anticuerpos de IgG superficial de plaquetas y el otro menos común fue secundario a la supresión de la médula ósea. El marcador genético HLA DR3 puede indicar un mayor riesgo de un paciente a desarrollar trombocitopenia asociada con anticuerpos superficiales de plaquetas.

Toxicidades idiopáticas en forma de ictericia colestásica o enterocolitis aguda también han sido asociadas con los compuestos de oro inyectable, especialmente tiomolato de oro sodio, pero no se han notificado con oro oral.

La deposición de oro elemental en la lente del ojo y la córnea se ha informado, pero esto no parece causar ningún daño específico en la agudeza visual.

Específico a la terapia oral de oro fue el desarrollo de heces suaves, generalmente en el primer mes de terapia. La menor incidencia de heces alteradas en los últimos meses de tratamiento puede estar relacionada con un anterior abandono de aquellos pacientes susceptibles a la diarrea. El desarrollo de diarrea acuosa franca se produjo en 2-5% de los pacientes y parece estar relacionado con la dosis.

En general la incidencia de eventos adversos es inferior con oral oro que con oro inyectable, pero todavía puede ser considerable.

Un segundo inconveniente importante para el uso de tratamientos disponibles basados en el oro es el inicio muy lento de eficacia. Los pacientes a menudo deben seguir tratamiento con, por ejemplo, sales de oro, de tres a seis meses antes de experimentar cualquier beneficio significativo. Esta larga espera para cualquier beneficio observado es un obstáculo importante para el cumplimiento del paciente y por lo tanto, afecta negativamente la eficacia en el uso.

El conocimiento de los perfiles farmacocinéticos de oro en gran parte se centra en la medición del elemento Au, pero no se sabe mucho de la estructura del oro (por ejemplo, su estructura química o física o cristalina) cuando el oro está presente en diferentes tejidos u órganos.

Después de la ingestión oral, los complejos de oro orales son rápidamente, pero incompletamente, absorbidos. La porción de oro del complejo de oro inyectable parece ser rápidamente absorbida en la circulación después de la inyección intramuscular. En la circulación sanguínea, Auranofin® (o sus ligandos) parece ser predominantemente enlazada a la albúmina. Concretamente, tras la administración oral de Auranofina® radiomarcada en voluntarios humanos, aproximadamente el 25% de la dosis administrada fue detectada en el plasma sanguíneo, con concentraciones pico de 6-9 µg/100 ml se alcanza en 1-2 horas. La vida media plasmática fue de 15-25 días con eliminación casi total del cuerpo después de 55-80 días. Sólo alrededor del 1% de Au radiomarcada era detectable después de 180 días, mientras que hasta un 30% de oro de tiomolato de oro sodio fue detectado en este momento. El oro fue ampliamente distribuido en todo el sistema retículo-endotelial, particularmente en las células fagocíticas del hígado, médula ósea, ganglios linfáticos, bazo y también en la membrana sinovial. Deposición en la piel se ha producido y se ha observado que puede haber una correlación cuantitativa entre la cantidad de oro en la dermis y la dosis total de oro dada. Depósitos densos de electrones de oro también se observaron en las células tubulares del riñón, otro sitio rico en enzimas que contienen sulfidrilo, pero la presencia de oro asociado con el glomérulo no parecen ser comunes (Walz, DiMartino, Intocca & Flanagan, 1983) (Dabrowiak, 2009).

Nanopartículas de oro

Otras formulaciones de oro han sido y continúan desarrollándose, la mayoría de las cuales utiliza oro nanopartículas hechas por una variedad de técnicas de reducción química; y algunos de los cuales utilizan una técnica arqueada de

plasma bajo el agua; y la mayoría de las cuales resulta en diversos coloides de oro estables o parcialmente estables o suspensiones de nanopartículas de oro.

Nanopartículas de oro coloidal por reducción química

Michael Faraday hizo la primera suspensión de oro coloidal por métodos de reducción química alrededor de 1850 (Faraday, 1857). Faraday utilizó técnicas de reducción química para reducir químicamente una sal de oro acuosa, cloroaurato (es decir, una sal de oro (III)), ya sea utilizando fósforo disperso en éter (por ejemplo, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$), o disulfuro de carbono (es decir, CS_2), como el reductor.

Hoy, la mayoría de las preparaciones de oro coloidal son hechas por una reducción del ácido clórico (tetracloroaurato de hidrógeno) con un reductor tipo citrato de sodio para resultar en "púrpura de Tyndall". Ahora hay una variedad de métodos de química de la reducción "típicos" usados para formar oro coloidal. Específicamente, existen varias clases de rutas de síntesis, cada una de las cuales muestra características diferentes en los productos finales (por ejemplo, nanopartículas de oro coloidal) producidas así. Se ha observado que además de la fuerza, la cantidad y el tipo de reductor utilizado, la acción de un estabilizador (es decir, la sustancia química utilizada en el procedimiento de síntesis de fase de solución) es crítica (Kimling), 2006.

Mientras Faraday introdujo soluciones de oro coloidal, los métodos de cristalización homogénea de Turkevich y Frens (y sus variaciones) son más comúnmente utilizados hoy en día y normalmente resultan principalmente en las partículas de forma esférica sobre una gama de tamaños de partícula (Kimling, 2006). Específicamente, la mayoría de los métodos actuales inician con complejo de oro (III) tal como el tetracloruro de hidrógeno (o ácido clórico) y reducir el oro en el complejo de oro a metal de oro (es decir, oro (0) o el oro metálico) mediante el uso de reductores de especies químicas añadidas, como tiocianato de Na, P blanco, Na_3 citrato y ácido tánico, NaBH_4 , ácido cítrico, etanol, ascorbato de Na, citrato de Na_3 , Hexadecanilina y otros (Brown, 2008). Sin embargo, otra técnica de reducción química usa borohidruro de sodio como un reductor de especies químicas de AuP (Ph_3) (Brown, 2008).

Dependiendo de las condiciones de procesamiento especial utilizadas en estos procedimientos de reducción química, los tamaños de estas nanopartículas principalmente esféricas formadas van desde aproximadamente 1 nm a acerca de 64 nm de diámetro (Brown, 2008). Además, los métodos de reducción de citrato térmicos específicos utilizados por Kimling resultaron en una pequeña fracción de las partículas en forma triangular, además de partículas con forma esférica, con la especie en forma triangular, está más cerca del 5% (Kimling 2006).

Trabajo adicional se ha centrado en controlar las formas de las nanopartículas metálicas coloidales. Los biólogos y bioquímicos durante mucho tiempo han comprendido que la "estructura dicta la función" con respecto al funcionamiento de la proteína. Nanopartículas de oro de diferentes formas también poseen propiedades diferentes (por ejemplo, óptica, catalítica, biológica, etc.). El control de la forma de nanopartículas proporciona un enfoque elegante para, por ejemplo, ajustar las nanopartículas ópticamente. Aunque todas las nanopartículas de oro contienen un reticulado que es cúbico comparativamente centrado, si es permitida o causada por ciertas condiciones de procesamiento, las nanopartículas de oro pueden adoptar una variedad de formas cristalinas que van desde elipsoides irregulares con superficies cargadas con defecto (por ejemplo, pasos) a poliedros con defectos superficiales limitados comparativamente. Diferentes morfologías cristalinas están asociadas con diferentes planos de cristal (o conjuntos de planos de cristal). Sin embargo, algunas de las morfologías más comunes de nanopartículas de oro no se componen de dominios sencillos, pero más bien están hechos de planos de acoplamiento (Tao, 2008).

Yuan, et al. reconocen que las nanopartículas de oro no esféricas podrían lograrse más fácilmente proporcionando cristales de semillas de una reducción de borohidruro de una sal de oro (es decir, HAuCl_4 o ácido aurico). Los cristales de semillas se colocan en contacto con la misma sal de oro en solución con las especies químicas NH_2OH , CTAB y citrato de sodio siendo agregado como reductores y/o agentes tensoactivos (por ejemplo, agentes de tapa). Varias formas cristalinas diferentes fueron formadas por este enfoque incluyendo las capas triangulares, hexagonales, triangulares truncadas y pseudo-pentagonales. Yuan llegó a la conclusión de que las variaciones en el procesamiento mediante el uso de técnicas de reducción química diferentes pueden influir en las propiedades físicas y químicas de las partículas resultantes. Los investigadores señalaron que la elección de un agente de tapa fue un factor clave para controlar el crecimiento (y forma) de las nanopartículas (Yuan, 2003).

El procedimiento descrito y utilizado por Yuan es conocido como "nucleación heterogénea" donde partículas de semillas se producen en un paso sintético separado. Por lo tanto, este tipo de control de forma puede considerarse un procedimiento de crecimiento excesivo (Tao, 2008). Muchas técnicas de reducción química utilizan esta nucleación heterogénea de dos pasos más compleja y el procedimiento de crecimiento. Sin embargo, otros utilizan una nucleación homogénea de un solo paso mediante lo cual cristales de semilla están nucleados en primer lugar, a continuación se forman por los cristales de semilla nucleada. Normalmente, una serie de reacciones químicas se producen simultáneamente en nucleación homogénea. Un objetivo principal en la nucleación homogénea es equilibrar la velocidad de nucleación contra la tasa de crecimiento del cristal y para controlar el tamaño de las partículas debido a que la nucleación y crecimiento continúan por el mismo procedimiento o procedimientos químicos (Tao, 2008).

Síntesis de nanopartículas metálicas en soluciones comúnmente requiere el uso de agentes tensoactivos (agente tensoactivos) y/o polímeros anfífilicos como agentes de estabilización y/o agentes de capa. Es bien sabido que los agentes tensoactivos y/o polímeros anfífilicos sirven como funciones críticas para controlar el tamaño, la forma y la estabilidad de las partículas dispersas (Sakai, 2008).

Algunas de las morfologías cristalinas más comunes observadas en nanopartículas de oro cristalino (por ejemplo en los procedimientos de nucleación heterogénea) no constan de cristales sencillos o dominios sencillos, sino más bien de partículas que contienen varios dominios de cristal, a menudo unidos por planos dobles. Un decaedro regular (también conocido como una bi-pirámide pentagonal) es una forma de equilibrio unida completamente por facetas triangulares (111) y puede considerarse como cinco tetraédrico compartiendo una arista común a lo largo de un eje quintuplicado. Estas estructuras se observan comúnmente para partículas nano-cristalinas sintetizadas por evaporación metálica en sustratos sólidos y enfoques de química de reducción de nucleación heterogénea sembrada (Tao, 2008). Sin embargo, para las nanopartículas sintetizadas por los métodos de Turkevich y Frens, decaedros son difíciles de observar porque funcionan como semillas favorables para el crecimiento de nano-hilos y nano-barras (Tao, 2008). Así, una variedad de formas puede lograrse mediante el control de las condiciones de procesamiento, junto con las cantidades y tipos de agentes tensoactivos y agentes de capa agregados y utilizados durante los enfoques de química de reducción atribuidos a Turkevich y Frens.

En cada una de las composiciones de oro coloidales producidas por métodos de reducción química, resulta evidente que un recubrimiento superficial compuesto por uno o más elementos del reductor y/o el agente tensoactivo o agente de tapa estará presente en (o en) al menos una porción de las nanopartículas de oro suspendidas. El uso de un reductor (es decir, un agente reductor) normalmente asiste en la suspensión de las nanopartículas en el líquido (por ejemplo, agua). Sin embargo, el recubrimiento de agente reductor o impureza superficial se agrega a veces o incluso se sustituye por revestimientos de agente tensoactivo o agentes de tapa. Dichos revestimientos reductores/agente tensoactivo o películas pueden verse como impurezas situadas sobre y/o en las nanopartículas de metal y pueden resultar en dichos coloides o soles en realidad poseen más de las propiedades de la capa protectora o una película que las nanopartículas de oro per se (Weiser, p.42, 1933).

Por ejemplo, los agentes tensoactivos y polímeros anfífilicos llegan a involucrarse fuertemente no sólo en la formación de las nanopartículas (lo que afecta el tamaño y forma), pero también en las nanopartículas per se. Propiedades de superficie de las nanopartículas son modificadas por revestimientos reductor y/o revestimientos de molécula de agente tensoactivo (Sperling, 2008).

Absorción de una cola hidrofóbica, un grupo de cabeza hidrófila y ciertos contraiones (al menos en el caso de la utilización de agentes tensoactivos iónicos) sobre la superficie de partículas nucleadas, así como formación de complejos de iones metálicos con agentes tensoactivos y/o polímeros anfífilicos con las partículas formadas, todos pueden influir en la forma de nanopartículas, la superficie de las nanopartículas y/o alterar el funcionamiento de las nanopartículas (Sakai, 2008).

Diferentes químicos superficiales o películas superficiales (por ejemplo, la presencia de composiciones reductoras de subproducto y/o espesores (por ejemplo, películas) de subproductos reductores) pueden resultar en diferentes interacciones de las nanopartículas de oro con, por ejemplo, una variedad de proteínas de un organismo. Fuerzas de enlace biofísico (por ejemplo, enlace electrostático, hidrofóbico, hidrógeno, van der Waals) de nanopartículas a proteínas son una función no sólo del tamaño, forma y composición de las nanopartículas, sino también el tipo y/o espesor de las impurezas superficiales o recubrimientos de las nanopartículas. Los métodos Turkevich y Frens (y sus variaciones) para la fabricación de nanopartículas de oro son los más ampliamente entendidos y utilizan los procedimientos de reducción química. El uso de un reductor de ácido cítrico o citrato de sodio resulta en químicas basadas en citrato (por ejemplo, una capa basada en citrato) sobre la superficie de las nanopartículas de oro (es decir, también conocido como estabilizado con citrato) (Lacerda, 2010).

Además, Daniel et al. revisaron las técnicas de formación de nanopartículas de oro más importantes, incluyendo la síntesis química y procedimientos de montaje incluyendo: (1) reducción de citrato, que da como resultado "una capa muy suelta de [basada en citrato] ligandos" unida a las nanopartículas de oro; (2) una variación del método de reducción de citrato que utiliza una sal de citrato y un agente tensoactivo anfífilo (para el control de tamaño); (3) los métodos "Brust-Schiffrin" que resultan en ligandos tiol o tiolato "que se unen fuertemente al oro"; (4) métodos que resultan ligandos que contienen azufre incluyendo xantatos, disulfuros, ditioles, tritioles y resorcinareno tetraiol; y (5) otros ligandos que se refieren a la fosfina, óxido de fosfina, aminas, carboxilatos, aril isocianuros y yoduros (que pueden reemplazar los recubrimientos de citrato). Los autores reiteraron declaraciones atribuidas a Brust respecto a las nanopartículas de oro formadas: "las propiedades físicas resultantes no son las del metal grueso ni de los compuestos moleculares, pero fuertemente dependen del tamaño de partícula, distancia entre las partículas, naturaleza de la capa orgánica de protección y la forma de las nanopartículas." (Daniel, 2004).

Mientras que los ligandos orgánicos presentes en las nanopartículas de oro (por ejemplo, ligandos basados en citrato o revestimientos o películas) ayuda a estabilizar las nanopartículas de oro en el líquido para evitar que las nanopartículas, por ejemplo, se anexas a otras nanopartículas y aglomerar y/o asentar la suspensión debido a, por ejemplo, la gravedad, estos ligandos basados en orgánicos (por ejemplo, capas orgánicas) son impurezas (es decir,

relativo a las nanopartículas subyacentes de oro) y contribuir a la interacción de nanopartículas de oro con proteínas en un sistema de vida. Dicho o dichos recubrimientos o películas pueden tener fuertes influencias biológicas (Lacerda, 2010).

5 Además, Wang et al llegaron a la conclusión de que las nanopartículas de oro reducidas con citrato utilizadas comúnmente interfieren con la absorción de las nanopartículas de oro en relación con el reductor y soluciones coloidales libre de estabilizador (Wang, 2007).

10 Asimismo, Lacerda, et al. establecieron que una mejor comprensión de los efectos biológicos de las nanopartículas requiere una comprensión de las propiedades de enlace de las proteínas in vivo que se asocian con las nanopartículas. Absorción de proteínas (o una corona de proteína) en nanopartículas puede cambiar en función del tamaño de nanopartículas y composición de la capa superficial y espesor. Lacerda llegó a la conclusión de que las capas de proteína que "alinean" las nanopartículas controlan la propensión de las nanopartículas para agregar e influyen fuertemente en su interacción con materiales biológicos (Lacerda, 2010).

15 Limpieza de nanopartículas de oro coloidal realizada por técnicas de reducción química

20 En algunos casos, el recubrimiento o película superficial reductora se deja permanecer como una impureza en la superficie de las nanopartículas, pero en otros casos, se intenta remover por una variedad de técnicas algo complejas y costosas. Cuando se remueve, el recubrimiento normalmente se sustituye por una composición alternativa o recubrimiento para permitir que las nanopartículas permanezcan en suspensión cuando se hidratan. A menudo se olvida la influencia de pureza en la química y las propiedades de las nanopartículas; sin embargo, los resultados indican ahora que el grado de purificación puede tener un impacto significativo (Sweeney, 2006). Estos investigadores señalaron que suficiente purificación de nanopartículas puede ser más difícil que la propia preparación, normalmente implicando procedimientos tediosos, lentos y derrochadores como lavados con solventes extensos y cristalización fraccionada. Ausente dicha purificación, las variables de contaminantes relacionados con la química superficial en la superficie de nanopartículas químicamente reducidas afecta la capacidad de entender/control las relaciones de función-estructura básicas (Sweeney, 2006).

30 Técnicas de procesamiento posterior pueden requerir también un conjunto de pasos de lavado, ciertos pasos de concentración o centrifugación, y/o pasos de recubrimiento de reacción química posterior, todos los cuales son necesarios para lograr resultados deseables y ciertas características de rendimiento (por ejemplo, la estabilización debido al intercambio de ligando, eficacia, etc.) para las nanopartículas y suspensiones de nanopartículas (Sperling, 2008). En otros casos, se utilizan los métodos de remoción dura para asegurar superficies de nanopartículas muy limpias (Panyala, 2009).

40 Así, otros han concluido que el desarrollo de nanopartículas de oro en la gestión, tratamiento y/o prevención de enfermedades se ve obstaculizado por el hecho de que los métodos de fabricación actuales de nanopartículas de oro son por y basados grandemente por los procedimientos de reducción química. Específicamente, Robyn Whyman, en 1996, reconoció que uno de los principales obstáculos para el progreso de oros coloidales fabricados por una variedad de técnicas de reducción química era la falta de cualquier "procedimientos relativamente sencillos, reproducibles y generalmente aplicables sintéticos" (Whyman 1996). Hay muchas variaciones de las técnicas de reducción química originales impartidas por Faraday cada una de las cuales puede producir oro coloidal teniendo una variedad de propiedades físicas diferentes (por ejemplo, solas o en suspensión) y recubrimientos reductores, todos los cuales pueden resultar en diferentes perfiles de eficacia/toxicidad cuando se utiliza en o con células vivas. Ninguna de estas técnicas cumple los criterios de Whyman. En consecuencia, un enfoque de fabricación relativamente sencillo, reproducible y generalmente aplicable para hacer nanocristales de oro sería bien recibido. Además, la capacidad de ese enfoque de fabricación que debe cumplir con los requisitos de FDA cGMP sería aún más valiosa.

50 Otros han comenzado a reconocer la imposibilidad de liberar completamente el desempeño físico/biológico adverso de las nanopartículas constituidas desde los procedimientos de formación química (es decir, reducción química) utilizados para hacerlas. En este sentido, aunque algo complejos, los procedimientos de lavado o limpieza, costosos y perjudiciales para el medio ambiente pueden utilizarse para modificar o limpiar la superficie de nanopartículas producidas por la química de reducción, elementos del procedimiento químico pueden permanecer y afectar la superficie de las nanopartículas (y por lo tanto su funcionamiento). Además, la presencia de determinadas sustancias químicas durante el procedimiento de formación de nanopartículas afecta la morfología (es decir, el tamaño y/o forma) de las nanopartículas de formación. Algunas posibles morfologías deseables (formas) que se sabe existen en sistemas cristalinos basados en oro no son fácilmente observadas en muchos productos producidos por estas técnicas de reducción química.

60 Otras técnicas para elaborar oro coloidal

65 La obtención de un agente tensoactivo y libre de reductor (por ejemplo, agentes no estabilizantes, de tapa o reductores agregados para lograr la reducción de especies iónicas de oro) se ha convertido en un objetivo de ciertos investigadores que aparentemente entienden algunas consecuencias adversas de revestimientos

reductores/tensoactivos presentes desde enfoques de reducción química. Por ejemplo, se han utilizado técnicas de ultrasonido con lo cual una frecuencia de 950kHz se aplica a una solución de tetracloraurato de hidrógeno acuosa. Nanopartículas de oro esféricas en el intervalo de 20-60nm se prepararon a temperaturas superiores a 50°C, mientras que algunas placas triangulares más grandes relativamente y algunas esferas hexagonales coexisten cuando la mezcla se procesó por debajo de 50°C (Sakai, 2008).

La irradiación de rayos X de H₂AuCl₄ ha sido desarrollada para obtener nanopartículas de oro libres de estabilizador y reductoras para no poner en "peligro" asuntos de biocompatibilidad en aplicaciones biomédicas. Los autores especularon que generaron los electrones necesarios para la reducción química de Au⁺ mediante haces de rayos X "intensos" para crear un donador de electrones de radical libre de hidrógeno (Wang, 2007).

Otra técnica más antigua y más compleja para minimizar o eliminar la necesidad de agentes reductores y/o minimizar los productos indeseables de oxidación del reductor utiliza γ -irradiación de una fuente de ⁶⁰Co en una dosis de 1.8×10^4 rad/h. En este caso, Au(CN)₂ se reduce al crear primero electrones hidratados desde la radiólisis del agua y utilizando los electrones hidratados para reducir los iones de oro, es decir:



Se sabe que la superficie de las nanopartículas de oro puede procesarse más mediante la adición de especies químicas, tales como polietilén glicol (PEG), u otros ligandos específicos. En este sentido, se ha producido una amplia labor en terapias para el cáncer donde nanopartículas de oro recubiertas con PEG son inducidas por una variedad de técnicas para migrar a un sitio de cáncer o tumor y son posteriormente irradiadas con, por ejemplo, infrarrojo o radio-ondas para calentar y destruir las células cancerosas (Panyala, 2009). La PEGilación superficial también es conocida por aumentar la semivida de sangre de nanopartículas; y polisorbato-80 puede mejorar el transporte de la barrera sangre-cerebro de nanopartículas (Teixido y Giralt, 2008).

Oro coloidal por arqueado submarino

También conocido en la técnica son métodos de elaboración de nanopartículas de oro por un método de arqueado submarino. Este método fue desarrollado primero por Bredig a finales de 1800. Bredig utiliza una corriente para crear un arco submarino entre dos cables. Bredig utiliza una corriente de 5-10 amperios y una tensión de 30-110 voltios. En algunos casos, Bredig también usa 0.001N hidróxido de sodio en lugar de agua pura. Bredig pensó en su procedimiento como pulverización de los electrodos metálicos. Bredig obtuvo hidrosoles de oro de esta manera (Weiser, pp.9-17, 45-46, 1933).

Svedberg mejoró más tarde el procedimiento de Bredig utilizando un arco de alta frecuencia en lugar del arco de corriente directa de Bredig. Svedberg señaló que el arco permite la formación de un gas de metal que posteriormente se condensa en partículas de dimensiones coloidales. Mucho debate ha rodeado los mecanismos exactos del procedimiento, sin embargo la vaporización del metal era considerada importante (Weiser, pp.9-17, 45-46, 1933).

Los parámetros de mayor interés para Svedberg en controlar el procedimiento de pulverización eléctrica para formar soluciones coloidales son, a) la tasa de pulverización, b) la proporción de sedimentos a metal total dispersado, c) el grado de descomposición del medio y d) la dependencia de (a) – (c) sobre las características actuales. La cantidad de sedimento logrado por los procedimientos de Bredig y Svedberg osciló entre aproximadamente el 30% y aproximadamente el 50%, bajo una variedad de condiciones de procesamiento, (1924).

Trabajos más recientes con el procedimiento de Bredig de paladio fueron realizados por Mucalo, et al. Estos investigadores probaron la teoría de si las partículas metálicas en soles Bredig fueron "impuras" debido a las impurezas de la descomposición del electrolito simultánea del electrolito y material oxidado que se piensa se forman durante el arqueado (Mucalo, 2001). Estos investigadores utilizaron modernas técnicas analíticas superficiales (es decir, XPS, o "espectroscopia de fotoelectrones de rayos x") para determinar las diferencias en la especiación superficial como una función del pH. A menor pH produjo un material inestable de negro y gris. A mayor pH, el sol era más estable, pero aún completamente agregado dentro de 1-2 semanas. Las nanopartículas producidas consisten en esferas de forma irregular. Mientras que el material producido en pH mayor e inferior, era en su mayoría metálico en carácter, las características superficiales de estos coloides inestables fueron diferentes. Los soles de Bredig de pH superior resultan en una capa de óxido exterior más grueso sobre las nanopartículas inestables (Mucalo, 2001).

Los métodos de Bredig y Svedberg fueron mejorados posteriormente por otros para dar lugar a una variedad de métodos basados en arco submarinos. Sin embargo, común a cada uno de estos métodos arqueados submarinos es el resultado de esferas de base metálica de forma algo irregular. En este sentido, las nanopartículas producidas por los procedimientos Bredig o Svedberg son formas no específicas, tipo esféricas, indicativas de una vaporización basada en metal seguido de métodos de enfriamiento rápido, las nanopartículas siendo recubiertas con (y/o que contienen) diferentes cantidades de diferentes materiales basados en óxido.

Toxicología de las nanopartículas de oro coloidal

Una revisión de la toxicología de nanopartículas de oro fue realizada por Johnston, et al. y reportada en 2010. Hay cuatro rutas de exposición por vía intravenosa resumidas para ratones y ratas y un enfoque intratraqueal para ratas. En cuanto a los cuatro estudios intravenosos resumidos, Johnston, et al. informaron que sitios de tejido de acumulación, en orden de cantidad fueron hígado-bazo en 3 de 4 pruebas e hígado-pulmón en 1 de 4 pruebas (es decir, mayor acumulación de nanopartículas de oro fue en el hígado). Específicamente, las cuatro pruebas intravenosas informadas por Johnston et al. se resumen a continuación (Johnston, 2010).

10 La distribución de tejido de partículas metálicas, después de la exposición vía una variedad de rutas (Johnston, et al., 2010).

Documento	NP	Tamaño (nm)	Ruta de exposición	Sitios de tejido de acumulación (en orden de cantidad)	Conclusión
Cho, et al., 2009	Oro (PEG recubierto)	13	Intravenosa (ratones)	Hígado, bazo, riñón, pulmón, cerebro	Los sitios primarios de acumulación son el hígado y el bazo, NP acumulado dentro de macrófagos
De Jong, et al., 2008	Oro	10, 50, 100, 250	Intravenosa (ratas)	Hígado, bazo, riñón, pulmón, corazón, cerebro, timo, testes	Distribución más amplia de órganos de partículas más pequeñas, mientras que las partículas más grandes se restringen al hígado y bazo
Semmler-Behnke, et al., 2008	Oro	4 y 18	Intravenosa (ratas)	Hígado, bazo, riñón, piel, GIT, corazón	Partículas pequeñas demuestran una acumulación/distribución más dispersada
Sonavane, et al., 2008b	Oro	15, 50, 100, 200	Intravenosa (ratones)	Hígado, bazo, riñón, cerebro	Distribución de tejido más amplia para partículas más pequeñas – 15 y 50 nm NP acumulado dentro de

15 Johnston, et al. fueron críticos de una variedad de incertidumbres que se introdujeron en un número de los estudios de toxicología revisados incluso ciertas conclusiones (realizadas por otros) sobre toxicidad en función del tamaño de partícula únicamente no eran exactos. Específicamente, Johnston, et al. informaron que Pan et al (en 2007) concluyeron que nanopartículas de oro 1.4nm fueron las nanopartículas de oro más tóxicas probadas fuera de un intervalo de tamaños de nanopartículas, incluyendo nanopartículas de oro de diámetro de 1.2nm. Mientras que Pan et al. creen que hay una diferencia en el perfil de toxicidad en función del tamaño, Johnston, et al. señalaron que las partículas de 1.4nm fueron hechas por los propios investigadores y partículas de 1.2nm fueron obtenidas de una compañía externa (sugiriendo así que existían diferentes características de superficiales de ambas nanopartículas). Johnston, et al. concluyeron que "estados de aglomeraciones o química superficial" fueron las razones para un rendimiento diferencial con ambos "conocidos por alterar el comportamiento de partículas y toxicidad" (Johnston, 2010).

25 Johnston, et al. también concluyeron que la instalación experimental influye en los resultados de toxicidad; y que la distribución de tejido de las nanopartículas de oro en un organismo es una función de la ruta de exposición, así como el tamaño, forma y química superficial de nanopartículas. Además, observaron que el hígado parece ser el principal sitio de acumulación y especularon que el resultado es debido a la presencia de macrófagos en el hígado. También señalaron que la absorción de las nanopartículas es probablemente un resultado del tipo y grado de enlace de proteínas que se produce en la superficie de las nanopartículas (por ejemplo, una corona de proteína) que es una función del tamaño, forma y recubrimiento de las nanopartículas. En particular, señalaron que la capacidad de una variedad de tipos de células para incorporar nanopartículas por, por ejemplo, endocitosis. Este mecanismo de endocitosis que parecía ser una función de forma de partícula, así como las características de la superficie de partículas, como la absorción de proteínas en su superficie. En otras palabras, la absorción biológica es una función de la forma, tamaño y carga; y también es muy dependiente del suero (Johnston, 2010).

Eficacia de oro coloidal

40 Trabajo por Abraham y Himmel (reportado en 1997) describe el uso de oro coloidal en el tratamiento de 10 pacientes que previamente no respondieron a una variedad de otros tratamientos basados en oro. El oro coloidal utilizado en el estudio fue realizado por una variación de la norma "método citrato" de Maclagan y Frens con "varias modificaciones propietarias". Maltodextrinas (grado alimenticio) se usaron en una concentración de 2.5% para prevenir la auto-agregación de las partículas de oro (Abraham, 2008). Los tamaños de las partículas coloidales producidos se informaron siendo inferiores a 20nm, según lo confirmado por un procedimiento de paso de la suspensión coloidal mediante un filtro de 20nm (es decir, producido por Whatman Anotop). Trabajo posterior de TEM provocó que

Abraham concluya que el 99% de las partículas producidas eran menores de 1.0 nm. Benzoato de sodio también se agregó (Abraham, 2008).

La suspensión de oro coloidal resultó en una concentración de 1,000 mg/l (es decir, 1,000 pm). El nivel de dosis para cada paciente variaba entre 30 mg/día y 60 mg/día, con la mayoría de las dosis siendo 30 mg/día, para un período de 24 semanas. Estas dosis fueron tomadas oralmente. El cuadro 1 enumera el sexo del paciente, edad y condiciones anteriores y/o tratamientos. El artículo concluye que 9 de los 10 pacientes "mejoro notablemente en 24 semanas de intervención" (Abraham & Himmel, 1997). Abraham también informó de una reducción de determinadas concentraciones de citocinas como IL-6 y TNF (Abraham, 2008).

Trabajo sobre artritis inducida por colágeno en ratas por Tsai concluye que las partículas nano-oro se enlazan a la proteína VEGF y que tal enlace fue la razón para un mejor desempeño clínico de ratas que se inyectaron intra-articularmente con oro coloidal. En este caso, el oro coloidal inyectado fue preparado por el método de reducción química estándar de uso de un cloroaurato de oro reducido con citrato de sodio. Tsai, et al. informaron que las nanopartículas de oro esféricas con un diámetro aproximado de 13nm, según se mide por microscopía electrónica de transmisión. La concentración de la solución intra-articular fue de 180µg/ml (es decir, 180 ppm). La inyección intra-articular se hizo una vez, en el día 7 o 10 después de la inducción de CIA (Tsai, 2007).

Brown, et al. describieron en 2007 que una preparación estándar de oro coloidal (conocida como púrpura de Tyndall) fue preparada por métodos de reducción química estándar, es decir, la reducción del ácido cloroaurico con citrato de sodio. El tamaño promedio de partícula de las nanopartículas de oro producidas fue de 27+/-3 nm. Este oro coloidal fue dispersado en sorbitol isotónico e inyectado por un enfoque parenteral y subcutáneo en ratas que experimentaron artritis inducida experimentalmente. La dosis inyectada fue en una concentración de 3.3 µg/kg. Brown, et al. también describió que el oro coloidal, cuando se administra subcutáneamente, fue aproximadamente 1,000 veces más eficaz que el aurotiomalato de sodio comparativo. Brown, et al., también describieron que el oro coloidal fue ineficaz cuando se administro oralmente y concluyeron que la ineficacia se debía a la coagulación de las nanopartículas de oro con la presencia del jugo gástrico y cloruro de sodio (Brown, 2007).

Brown, et al. revisaron los métodos de preparación alternativos del oro coloidal teniendo una variedad de tamaños y formas (Brown, 2008). Brown, et al. describieron en el cuadro 2 una variedad de propiedades asociadas con "hidrosol nano-oro". Los autores concluyeron que los estudios realizados por ellos (y revisados por ellos) "sugieren que los fármacos basados en nanopartículas oro (Au0) pueden desempeñar un papel en el futuro de las terapias clínicas dirigidas a regular los macrófagos" (Brown, 2008).

Las referencias citadas en los "antecedentes de la invención" se enumeran a continuación en detalle.

Abraham, G. E. & Himmel, P.B. (1997). Management of rheumatoid arthritis: rationale for the use of colloidal metallic gold. *J. Nutr. Environ Med.* 7, 295-305.

Abraham, G. E. (2008). Clinical Applications of Gold and Silver Nanocolloids. *Original Internist*, 132-157.

Agata, N., et al. (2000). Suppression of type II collagen-induced arthritis by a new Isocoumarin, NM-3. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 108 (5-6), 297-309.

Brown, C.L., Whitehouse, M.W., Tiekink, E.R.T., & Bushell G.R. (2008). Colloidal metallic gold is not bio-inert. *Inflammopharmacology*, 16, 133-137.

Brown, C. L., et al. (2007). Nanogold-pharmaceutics (i) The use of colloidal gold to treat experimentally-induced arthritis in rat models; (ii) Characterization of the gold in Swarna bhasma, a microparticulate used in traditional Indian medicine. *Gold Bulletin*, 2007, 40 (3), 245-250.

Cherithundam, E., & Alvares, A. (1996). Species differences in the renal toxicity of the antiarthritic drug, gold sodium thiomalate. *J Biochem Tox*, 11(4), 175-81.

Dabrowiak, J. (2009). Gold Complexes for Treating Arthritis Cancer and Other Diseases. In J. Dabrowiak, *Metals in Medicine* (pp. 191-217). Chichester UK: John Wiley and Sons.

Daniel, M. C. & Astruc, D. (2004). Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. *Chem. Rev.*, 104, 293-346.

Eisler, Ronald. *Biochemical, Health, and Ecotoxicological Perspectives on Gold and Gold Mining*. Boca Raton: CRC Press, 2004.

Faraday, M. (1857). The Bakerian lecture: Experimental relations of gold (and other metals) to light. *Philosoph. Trans. R, Soc. London*, 147, 145-181.

- Henglein, A. & Meisel, D. (1998). Radiolytic Control of the Size of Colloidal Gold Nanoparticles. *Langmuir*, 14, 7392-7396.
- 5 Ho, S., & Tiekink, E. (2005). Gold based metalotherapeutics; Use and Potential. In M. Gielen, & E. Tiekink, *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents* (pp. 507-527). Chichester: JH Wiley and Sons.
- Johnston, H.J., Hutchinson, G., Chrstensen, F.M., Peters, S., Hankin, S. & Stone, V. (2010). A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: Particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Critical Reviews in Toxicology*, 40 (4), 328-346.
- 10 Kean, W., & Anastassiades, T. (1979). Long term chrysotherapy; incidence of toxicity and efficacy during sequential time periods. *Arthritis Rheum*, 22(5), 495-501.
- Kean, W., & Kean, I. (2008). The clinical Pharmacology of Gold. *Immunopharmacology* , 16(3), 1 12-25.
- 15 Kimling, J., Maier, M., Okenve, B., Kotaidis, V., Ballot, H. & Plech, A. (2006). Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. *J. Phys. Chem. B*, 110, 15700-15707.
- Kraemer, E.O. & Svedberg, T. (1924). Formation of Colloid Solutions by Electrical Pulverization in the High-Frequency Alternating Current Arc. *Journal of the American Chemical Society*, 46 (9), 1980- 1991.
- 20 Leonard, T.B., Graichen, M.E., Dahm, L.J., & Dent, J.G. (1986). Effects of the Chrysotherapeutic Agents Auranofin and Gold Sodium Thiomalate on Hepatic and Renal Drug Metabolism and Heme Metabolism. *Biochemical Pharmacology*, 35, (18), 3057-3063.
- 25 Mucalo, M. R. & Bullen, CR. (2001). Electric arc generated (Bredig) palladium nanoparticles: Surface analysis by X-ray photoelectron spectroscopy for samples prepared at different pH. *Journal of Materials Science Letters*, 20, 1853-1856.
- 30 Panyala, N.G., Pena-Mendez, E.M., & Havel, J. (2009). Gold and nano-gold in medicine: overview, toxicology and perspectives. *Journal of Applied Biomedicine*, 7, 75-91.
- Payne, B., & Arena, E. (1978). The subacute and chronic toxicity of SK&F 36914 and SK&F D-39162 in dogs. *Vet Path* , Suppl 5, 9-12.
- 35 Payne, B., & Arena, E. (1978). The subacute and chronic toxicity of SK&F 36914, SK&F D-39162 and gold sodium thiomalate in rats. *Vet Path Suppl*, 15(5), 13-22.
- Sadler, P.J. (1976). The biological chemistry of gold: a metallo-drug and heavy-atom label with variable valency, *Structure Bonding*, 29, 171-215.
- 40 Shaw, C. F., III. (1999a). Gold complexes with anti-arthritic, anti-tumour and anti-HIV activity, in *Uses of Inorganic Chemistry in Medicine*, N.C. Farrell, (Ed.), Royal Society of Chemistry, Cambridge, RU, 26-57.
- 45 Shaw, C.F., III. (1999b). The biochemistry of gold, in *Gold: Progress in Chemistry, Biochemistry and Technology*, H. Schmidbaur, (Ed.), John Wiley & Sons, New York, 260-308.
- Sakai, T., Enomoto, H., Torigoe, K., Kakai, H. & Abe, M. (2008). Surfactant-and reducer-free synthesis of gold nanoparticles in aqueous solutions. *Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 18-26.
- 50 Sperling, R.A., Gil, P.R., Zhang, F., Zanella, M., & Parak, WJ. (2008). Biological applications of gold nanoparticles. *Chem. Soc. Rev*, 37, 1896-1908.
- Sweeney, S. F., Woehle, G. H. & Hutchison, J.E. (2006). Rapid Purification and Size Separation of Gold Nanoparticles via Diafiltration. *J. Am. Chem. Soc*, 128, 3190-3197.
- 55 Szabo, K., DiFebbo, M., & Phelan, D. (1978). The effects of gold-containing compounds on pregnant rabbits and their fetuses. *Vet Path*, Suppl 5, 95-105.
- Szabo, K., Guerriero, F., & Kang, Y. (1978). The effects of gold containing compounds on pregnant rats and their fetuses. *Vet Path*, 5, 89-86.
- 60 Tao, A.R., Habas, S. & Yang Peidong. (2008). Shape Control of Colloid Metal Nanocrystals. *Small*, 4 (3), 310-325.
- 65 Teixido, M. & Giralt, E. (2008). The role of peptides in blood-brain barrier nanotechnology. *J. Pept. Sci.*, 14, 163-173.

Tsai, C, Shiau, A., Chen, S., Chen, Y., Cheng, P., Chang, M., et al. (2007). Amelioration of collagen-induced arthritis in rats by nanogold. *Arthritis Rheum* , 56(2), 544-54.

5 Ueda, S. (1998). Nephrotoxicity of gold salts, D-penicillamine, and allopurinol, in *Clinical Nephrotoxins: Renal Injury from Drugs and Chemicals*, M. E. De Broe, G. A. Porter, W. M. Bennett, and G.A. Verpooten, (eds.), Kluwer Dordrecht, 223-238.

10 USFDA (2005). Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. *Pharmacology and Toxicology*.

Walz, D., DiMartino, M., Intocca, A., & Flanagan, T. (1983). Biologic actions and pharmacokinetic studies of Auranofin®. *Am J Med* , 75(6A).

15 Wang, C. H., et al. (2007). Aqueous gold nanosols stabilized by electrostatic protection generated by X-ray irradiation assisted radical reduction. *Materials Chemistry and Physics*, 106, 323-329.

Weiser, H.B. *Inorganic Colloid Chemistry - Volume I: The Colloidal Elements*. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1933.

20 Whyman, R. (1996). Gold Nanoparticles A Renaissance in Gold Chemistry. *Gold Bulletin*, 29(1), 11 -15.

Yuan, H., Cai, R.X. & Pang, D. W. (2003). A Simple Approach to Control the Growth of Non-spherical Gold Nanoparticles. *Chinese Chemical Letters*, 14 (11), 1 163-1 166.

25 Breve descripción de la invención

30 Nuevos nanocristales de oro se proveen teniendo superficies nanocristalinas que son sustancialmente libres (como se define en el presente documento) de impurezas orgánicas u otras o películas. Específicamente, las superficies son "limpias" respecto a las realizadas mediante procedimientos de reducción química que requieren reductores químicos y/o tensoactivos para crecer nanopartículas de oro de iones de oro en la solución. La mayoría de los nanocristales de oro desarrollados tienen características de superficies únicas e identificables tales como planos cristalinos, de bajo índice, espacialmente extendidos {111}, {110} y/o {100} y grupos de esos planos (y sus equivalentes). Suspensiones nanocristalinas de oro resultantes o coloides tienen pH deseables que oscilan entre 35 4.0-9.5, pero más típicamente 5.0-9.5 y valores potenciales zeta de por lo menos -20mV, y más generalmente al menos -40mV y más aún normalmente al menos -50mV para los intervalos de pH de interés.

40 Las formas y las distribuciones de la forma de estos nanocristales de oro preparados de conformidad con el procedimiento de fabricación descrito a continuación incluyen, pero no se limitan a, triángulos (por ejemplo, tetraedro), pentágonos (por ejemplo, bipirámides pentagonales o decaedros), hexágonos (por ejemplo, bipirámides hexagonales, icosaedros, octaedros), diamante (por ejemplo, octaedros, varias bipirámides alargadas, tetraedros fusionados, vistas laterales de bipirámides) y "otros". Las distribuciones de forma de nanocristales (es decir, crecidos por varias modalidades expuestas aquí) que contienen los planos cristalinos de índice bajo espacialmente 45 extendidos (que forman las formas mencionadas antes) y que tienen superficies "limpias" son únicas. Además, el porcentaje de tetraedros y/o bipirámides pentagonales formados en las suspensiones nanocristalinas también es único.

50 Se puede proporcionar cualquier tamaño promedio deseado de nanocristales de oro por debajo de 100 nm. Los intervalos de tamaño cristalino más convenientes incluyen aquellos que tienen un tamaño promedio de cristal o "modo" (como se mide y determina por técnicas específicas descritas detalladamente en este documento y reportados como "diámetro promedio TEM") que es predominantemente menor de 100 nm y más generalmente menor de 50 nm, incluso más típicamente menor de 30 nm y en muchas de las modalidades preferidas descritas aquí, el modo de la distribución del tamaño de nanocristales es inferior a 21 nm y dentro de una gama aún más 55 preferible de 8-18 nm.

60 Se puede proporcionar cualquier concentración de nanopartículas de oro según la invención. Por ejemplo, las concentraciones de estos nanocristales de oro pueden ser unas pocas partes por millón (es decir, µg/ml o mg/l) hasta unas cien ppm, pero están típicamente en el intervalo de 2-200 ppm (es decir, 2 µg/ml - 200 µg/ml) y con más frecuencia en el intervalo de 2-50 ppm (es decir, 2 µg/ml - 50 µg/ml) e incluso más típicamente 5-20 ppm (es decir, 5 µg/ml - 20 µg/ml).

65 Se proporciona un novedoso procedimiento para producir estos nanocristales de oro únicos. El procedimiento implica la creación de los nanocristales de oro en agua. En una modalidad preferida, el agua contiene un "potenciador del procedimiento" agregado que no se une significativamente a los nanocristales formados, más bien facilita el crecimiento de nucleación/cristal durante el procedimiento de crecimiento estimulado por electroquímica. El potenciador de procedimiento sirve de importantes roles en el procedimiento, incluido el suministro de iones

cargados en la solución electroquímica para permitir los cristales a cultivarse. Estos procedimientos electroquímicos novedosos pueden ocurrir en cualquiera de un procedimiento por lotes, continuos o semi-continuos. Estos procedimientos producen concentraciones nanocristalinas de oro controladas, tamaños de nanocristal controlados e intervalos de tamaño de nanocristal controlados; así como formas de nanocristal controladas y distribuciones controladas de forma de nanocristal. Montajes de fabricación novedosos se proporcionan para producir estos nanocristales de oro.

También se proveen composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad efectiva de estos nanocristales de oro para tratar condiciones médicas. La composición farmacéutica puede proporcionar cualquier dosificación sistémica deseada, como un ejemplo no limitante, 0.1 mg/kg/día o menos, o 0.05 mg/kg/día o menos, o incluso más típicamente 0.025 mg/kg/día o menos, o más generalmente de 0.001 mg/kg/día o menos.

Dado que estos nanocristales de oro tienen superficies sustancialmente más limpias que las nanopartículas de oro disponibles previas y deseablemente pueden contener planos cristalográficos de índice bajo espacialmente extendidos que forman formas de cristal novedosas y/o distribuciones de la forma de cristal, los nanocristales parecen ser biológicamente más activos (y pueden ser menos tóxicos) que las nanopartículas en forma esférica, así como las nanopartículas (o nanocristales) que contienen contaminantes superficiales tales como reductores químicos y/o agentes tensoactivos que resultan de los procedimientos tradicionales de reducción química. Por lo tanto, podrán efectuarse tratamientos médicos en dosis inferiores de oro.

Composiciones farmacéuticas provistas son apropiadas para uso tópico o sistémico, incluyendo líquido oral, intravenoso, subcutáneo, intraarterial, bucal, inhalación, aerosol, propulsor u otro líquido adecuado, etc., tal como se describe además en la descripción detallada de la invención.

Estos cristales de oro sustancialmente de superficie limpia o de superficie pura pueden utilizarse para tratar cualquier trastorno para la cual la terapia de oro se conoce, que incluye una amplia gama de trastornos inflamatorios y autoinmunes, así como ciertas enfermedades infecciosas (por ejemplo, VIH, SIDA, malaria y la enfermedad de Chagas) y cáncer. Descripciones de muchos de estos usos se encuentran en el fondo de la invención, antes mencionada.

Sorprendentemente ahora se ha descubierto como parte de esta invención que los nanocristales de oro inhiben el factor inhibidor de la migración de macrófagos ("MIF"). Se cree que esta es la primera descripción de dicha actividad de nanocristales de oro (o nanopartículas) y puede proporcionar una base científica para entender la gama de usos médicos de nanocristales de oro hasta la fecha. También proporciona una base científica para concluir que los nanocristales de oro serán eficaces contra otras enfermedades que son mediadas por el factor inhibidor de la migración de macrófagos. Además, se ha detectado que estos nanocristales de oro inhiben IL-6 pero no IL-10. Por ejemplo, porque MIF y/o IL-6 se indican en una gran variedad de condiciones y/o vías de señalización biológica, tal hallazgo confirma que los nanocristales de oro novedosos serán eficaces para el tratamiento o prevención de enfermedades o padecimientos resultantes de la activación celular patológica, como condiciones inflamatorias (incluida la inflamatoria crónica), condiciones autoinmunes, reacciones de hipersensibilidad y/o enfermedades cancerosas o condiciones.

Además, siguiendo los procedimientos inventivos de fabricación electroquímica de la invención, estos nanocristales metálicos basados en oro pueden estar en aleación o combinados con otros metales en líquidos tales que los "recubrimientos" de oro puede ocurrir en otros metales (u otras especies no metálicas tales como SiO₂, por ejemplo) o alternativamente, nanocristales basados en oro pueden ser recubiertos por otros metales. En tales casos, compuestos basados en oro o aleaciones pueden resultar dentro de un coloide o suspensión. Además, también se pueden formar algunos compuestos que incluyen oro y otros metales.

Aún más, suspensiones de nanocristales metálicos basados en oro o coloides de la presente invención pueden mezclarse o combinarse con otras soluciones de base metálica o coloides para formar la solución novedosa o mezclas coloidales (por ejemplo, en este caso, distintas especies metálicas aún se disciernen).

Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1A, 1B y 1C muestran vistas de sección transversal esquemáticas de un conjunto de electrodos manuales según la presente invención.

Las figuras 2A y 2B muestran vistas de sección transversal esquemáticas de un conjunto de control automático de electrodos según la presente invención.

Las figuras 3A-3D muestran cuatro configuraciones de control de electrodos alternativas para los electrodos 1 y 5 controladas por un dispositivo automático 20.

Las figuras 4A-4D muestran cuatro configuraciones de electrodo alternativas para los electrodos 1 y 5 que son controladas manualmente.

Las figuras 5A-5E muestran cinco diferentes modalidades representantes de configuraciones para el electrodo 1.

La figura 6 muestra una vista esquemática transversal de plasmas producidos utilizando una configuración específica del electrodo 1 correspondiente a la figura 5E.

- Las figuras 7A y 7B muestran una vista en perspectiva transversal de dos conjuntos de electrodos que pueden ser utilizados.
- Las figuras 8A-8D muestran vistas en perspectiva esquemáticas de cuatro conjuntos de electrodos diferentes dispuestos con planos paralelos a la dirección del flujo F.
- 5 Las figuras 9A-9D muestran vistas en perspectiva esquemáticas de cuatro conjuntos de electrodos diferentes dispuestos con planos perpendiculares a la dirección del flujo F.
- Las figuras 10A-10E muestran una variedad de vistas de sección transversal de varios miembros de conducto 30.
- 10 Las figuras 11A-11H muestran vistas en perspectiva de varios miembros de conducto 30, con las figuras 11C y 11D mostrando un dispositivo de control de atmósfera 35' y figura 11D mostrando un dispositivo de apoyo 34.
- Las figuras 12A y 12B muestran diversos dispositivos de control de atmósfera 35 para controlar localmente la atmósfera alrededor del o los electrodos 1 y/o 5.
- La figura 13 muestra un dispositivo de control de atmósfera 38 para controlar la atmósfera alrededor sustancialmente del miembro de conducto completo 30.
- 15 La figura 14 muestra una vista de sección transversal esquemática de un conjunto de dispositivos de control 20 ubicado en un miembro de conducto 30 con un líquido 3 que fluye a través de éste y en un recipiente de almacenamiento 41.
- Las figuras 15A y 15B muestran vistas de sección transversal esquemática de diversos ángulos θ_1 y θ_2 para los miembros de conducto 30.
- 20 Las figuras 16A, 16B y 16C muestran vistas en perspectiva de los diversos dispositivos de control 20 con conjuntos de electrodos 1 y/o 5 situados encima de un miembro de conducto 30.
- Las figuras 16D, 16E y 16F muestran diagramas de cableado eléctrico transformadores de AC para su uso con diferentes modalidades de la invención.
- La figura 16G muestra una vista esquemática de un transformador 60 y las figuras 16H y 16I muestran representaciones esquemáticas de dos ondas senoidales en fase y fuera de la fase, respectivamente.
- 25 Las figuras 16J, 16K y 16L muestran cada una vistas esquemáticas de ocho diagramas de cableado eléctrico para uso con 8 conjuntos de electrodos.
- La figura 17A muestra una vista de cables de oro 5A y 5B usados en la sección de conducto 30B de la figura 22A en relación con los ejemplos 8, 9 y 10.
- 30 La figura 17B muestra una vista cables de oro 5A y 5B utilizados en la sección 30B de la figura 21 en conexión con los ejemplos 5, 6 y 7.
- La figura 17C muestra la configuración de electrodos utilizados para hacer una muestra GB-118 en el ejemplo 16.
- 35 Las figuras 17D-17F muestran los dispositivos 20 utilizados en los ejemplos 1-4 para las suspensiones GT032, GT031, GT019 y GT033 y para hacer muestras GB-139, GB-141 y GB-144 en el ejemplo 16.
- Las figuras 17G, 17H, 17I y 7K muestran diagramas de cableado que se utilizan para controlar los dispositivos 20 utilizados en los ejemplos 1-4 y 16.
- Las figuras 17J y 17L muestran diagramas de cableado que se utilizan para alimentar dispositivos 20.
- 40 Las figuras 17M-17N muestran diseños alternativos para los dispositivos 20. El dispositivo 20 en figura 17N fue usado en el ejemplo 18.
- Las figuras 18A y 18B muestran un primer miembro de conducto 30A en donde uno o más plasmas 4 se crean. La salida de este primer miembro de conducto 30a fluye en un segundo miembro de conducto 30B, como se muestra en las figuras 19A y 19B.
- 45 Las figuras 19A y 19B son esquemas de dos miembros de conducto 30A y 30B que tienen dos arreglos de cableado de diferentes electrodos 5 utilizando un transformador (ejemplos 8 -10) y utilizando dos transformadores (ejemplos 5-7).
- Las figuras 20A-20H son alternativas del aparato mostrado en las figuras 19A y 19B (nuevamente con arreglos de cableado de diferentes electrodo 5 y/o números diferentes de electrodos), en donde los miembros de conducto 30a' y 30b' son contiguos.
- 50 Las figuras 21A-21G mostraron varios miembros de conducto 30b en relación con las figuras 20A-20H y varios ejemplos en este documento.
- Las figuras 22A y 22B muestran miembros de conducto 30b en relación con las figuras 19A, 19B y 20A-20H y varios ejemplos en este documento.
- 55 Las figuras 23A-23D muestran varias vistas esquemáticas y en perspectiva de una modalidad de conducto alternativa utilizada en el ejemplo 19.
- La figura 24A muestra un esquema de un aparato utilizado en un método de lotes por lo cual en un primer paso, se crea un plasma 4 para acondicionar un fluido 3.
- 60 Las figuras 24B y 24C muestran un esquema de un aparato que se utiliza en un método por lotes utilizando cables 5a y 5b para hacer nanocristales en suspensión (por ejemplo, un coloide) en asociación con el aparato mostrado en la figura 24A y como se discute en los ejemplos de aquí.
- La figura 25A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de la suspensión seca GD-007 elaborados según el ejemplo 5.
- 65 La figura 25B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones de TEM para los nanocristales de suspensión GD-007 elaborados de acuerdo con el ejemplo 5.
- La figura 25C muestra datos dinámicos de dispersión de la luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados de acuerdo con el ejemplo 5.

- La Figura 25D muestra uno de cultivos de nanocristales de oro de acuerdo con el ejemplo 5 (es decir, GD-007).
- La Figura 25E muestra el patrón de rayos x dispersivo de energía de la interrogación del punto de haz del nanocristal de solución GD-007
- La Figura 25F muestra una vista esquemática, en perspectiva, de la instalación experimental utilizada para recopilar información de espectroscopia de emisión de los plasmas ajustables.
- Las Figuras 25G-25J muestran los datos de irradiación asociados con un electrodo de oro (Au) 1 utilizado para formar el plasma ajustable.
- La figura 26A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de la solución seca GD-016 elaborados según el ejemplo 6.
- La figura 26B muestra la distribución de tamaño de partículas de mediciones TEM de los nanocristales elaborados según el ejemplo 6.
- La figura 26C muestra datos dinámicos de dispersión de la luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados según el ejemplo 6.
- La figura 27A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GD-015 elaborados conforme al ejemplo 7.
- La figura 27B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales elaborados conforme al ejemplo 7.
- La figura 27C muestra datos dinámicos de dispersión de la luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados conforme al ejemplo 7.
- La figura 28A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-018 elaborados según el ejemplo 8.
- La figura 28B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales elaborados según el ejemplo 8.
- La figura 28C muestra datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados según el ejemplo 8.
- La figura 29A es una fotomicrografía TEM representativa de las nanopartículas de oro de solución seca GB-019 elaborados según el ejemplo 9.
- La figura 29B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales elaborados según el ejemplo 9.
- La figura 29C muestra datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados según el ejemplo 9.
- La figura 30A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-020 elaborados de acuerdo al ejemplo 10.
- La figura 30B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con el ejemplo 10.
- La figura 30C muestra datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados de acuerdo al ejemplo 10.
- La figura 31A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca 1AC-202-7 elaborados según el ejemplo 11.
- La figura 31B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de nanocristales elaborados de acuerdo con el ejemplo 11.
- La figura 31C muestra los datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados de acuerdo con el ejemplo 11.
- La figura 32A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GT-033 elaborados según el ejemplo 4.
- La figura 32B muestra datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados según el ejemplo 4.
- La figura 33A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca 1AC-261 elaborados según el ejemplo 12.
- La figura 33B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales elaborados según el ejemplo 12.
- La figura 34A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-154 (20Hz onda senoide) realizados de acuerdo con el ejemplo 13.
- La fFigura 34B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales elaborados según el ejemplo 13.
- La figura 35A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-157 (onda senoidal de 40 hz) elaborados de acuerdo con el ejemplo 13.
- La figura 35B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales elaborados según el ejemplo GB-157.
- La figura 36A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-159 (onda senoidal de 60Hz) elaborados de acuerdo con el ejemplo 13.
- La figura 36B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con GB-159.
- La figura 37A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-161 (onda senoidal de 80Hz) elaborados de acuerdo con el ejemplo 13.
- La figura 37B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de

nanocristales realizados según GB-161.

La figura 38A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-173 (onda senoidal de 100Hz) elaborados de acuerdo con el ejemplo 13.

5 La figura 38B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con GB-173.

La figura 39A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-156 (onda senoidal de 300Hz) elaborados de acuerdo con el ejemplo 13.

La figura 39B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con GB-156.

10 La figura 40 es un diagrama esquemático de la instalación eléctrica utilizada para generar los nanocristales en soluciones GB-166, GB-165, GB-162, GB-163 y GB-164.

La figura 41 muestra un esquema de las formas de onda eléctricas utilizadas en soluciones GB-166, GB-165 y GB-162.

15 La figura 42A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-166 (onda senoidal de 60Hz) elaborados según el ejemplo 14.

La figura 42B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con GB-166.

La figura 43A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-165 (onda cuadrada de 60 Hz) elaborados según el ejemplo 14.

20 La figura 43B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con GB-165.

La figura 44A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de una solución seca GB-162 (onda triangular de 60 Hz) elaborados según el ejemplo 14.

25 La figura 44B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con GB-162.

La figura 45 es un esquema de las formas de onda eléctricas triangulares utilizadas para generar muestras de acuerdo con GB-163 y GB-164.

La figura 46A es una fotomicrografía TEM representativa de los nanocristales de oro de solución seca GB-163 (onda triangular ciclo de trabajo máximo) elaborados de acuerdo con el ejemplo 15.

30 La figura 46B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con GB-163.

La figura 47A es una fotomicrografía TEM representativa de los nanocristales de oro de solución seca GB-164 (onda triangular de ciclo de trabajo mínimo) elaborados de acuerdo con el ejemplo 15.

35 La figura 47B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales elaborados de acuerdo con GB-164.

La figura 48A1 es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de suspensión seca GB-134 elaborados según ejemplo 16.

La figura 48A2 es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de suspensión seca GB-134 elaborados según el ejemplo 16.

40 La figura 48B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales elaborados según el ejemplo 16.

La figura 48C muestra datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro elaborados según el ejemplo 16.

45 Las figuras 49A1-61A2 muestran dos microfotografías de TEM representativas de muestras secadas GB-098, GB-113 GB-118, GB-120, GB-123, GB-139, GB-141, GB-144, GB-079, GB-089, GB-062, GB-076 y GB-077, respectivamente, elaboradas según el ejemplo 16.

Las figuras 49B-61B muestran el histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales correspondientes a muestras GB-098, GB-113, GB-118, GB-120, GB-123, GB-139, GB-141, GB-144, GB-079, GB-089, GB-062, GB-076 y GB-077, respectivamente, elaborados de acuerdo con ejemplo 16.

50 Las figuras 49C-61C muestran datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro correspondientes a muestras GB-098, GB-131, GB-118, GB-120, GB-123, GB-139, GB-141, GB-144, GB-079, GB-089, GB-062, GB-076 y GB-077, respectivamente, elaborados según el ejemplo 16; y la figura 54D muestra corrientes como una función del tiempo para GB-139 realizadas de acuerdo con el ejemplo 16.

55 Las figuras 54D, 55D y 56D muestran la corriente medida (en amperios) como una función del tiempo de procedimiento para las muestras GB-139, GB-141 y GB-144 elaboradas según el ejemplo 16.

La figura 61D muestra los patrones espectrales UV-Vis de cada uno de los 14 suspensiones/coloides hechos según el ejemplo 16 (es decir, GB-098, GB-113 y GB-118); (GB-139 y GB-123); (GB-139); (GB-141 y GB-144); (GB-079, GB-089 y GB-062); y (GB-076 y GB-077) en una gama de longitud de onda de interrogación de aproximadamente 250nm-750nm.

60 La figura 61E muestra los patrones espectrales UV-Vis para cada una de las 14 suspensiones sobre una gama de longitud de onda interrogación de aproximadamente 435nm 635nm.

La figura 62A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB 151 elaborados según el ejemplo 18.

65 La figura 62B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-151.

La figura 63A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-188 elaborados según el ejemplo 18.

La figura 63B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-188.

5 La figura 64A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-175 elaborados según el ejemplo 18.

La figura 64B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-175.

10 La figura 65A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-177 elaborados según el ejemplo 18.

La figura 65B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-177.

La figura 66A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales oro de solución seca GB-176 elaborados según el ejemplo 18.

15 La figura 66B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-176.

La figura 67A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-189 elaborados según el ejemplo 18.

20 La figura 67B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-189.

La figura 68A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-194 elaborados según el ejemplo 18.

La figura 68B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-194.

25 La figura 69A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-195 elaborados según el ejemplo 18.

La figura 69B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-195.

30 La figura 70A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-196 elaborados según el ejemplo 18.

La figura 70B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-196.

La figura 71A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-198 elaborados según el ejemplo 18.

35 La figura 71B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-198.

La figura 72A es una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro de solución seca GB-199 elaborados según el ejemplo 18.

40 La figura 72B muestra un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM de los nanocristales realizados de acuerdo con GB-199.

La figura 72C muestra los patrones espectrales UV-Vis de cada una de las 11 suspensiones/coloides elaborados según el ejemplo 18 (es decir, GB-151, GB-188, GB-175, GB-177, GB-176, GB-189, GB-194, GB-195, 196 GB, GB-198 y 199 GB) en una gama de longitud de onda de interrogación de aproximadamente 250nm-750nm.

45 La figura 72D muestra los patrones espectrales UV-Vis para cada una de las 11 suspensiones sobre una gama de longitud de onda de interrogación de aproximadamente 435nm-635nm.

Figuras 73A1, 73A2 muestra dos microfotografías TEM representativas para la muestra Aurora-020.

La figura 73B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM para las nanopartículas correspondientes a la muestra seca Aurora-020.

50 La figura 73C muestra los datos de dispersión de luz dinámica (es decir, radios hidrodinámicos) para las nanopartículas de oro correspondientes a la muestra Aurora-020.

Figuras 74A1, 74A2-80A1, 80A2 muestran dos microfotografías TEM representativas de muestras secadas GA-002, GA-003, GA-004, GA-005, GA-009, GA-011 y GA-013, respectivamente.

Figuras 74B-80B muestran el histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM para mediciones de los nanocristales correspondiente a muestras secas GA-002, GA-003, GA-004, GA-005, GA-009, GA-011 y GA-013, respectivamente.

55 Las figuras 74C-80C muestran datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocristales de oro correspondientes a muestras GA-002, GA-004, GA-005, GA-009, GA-011 y GA-013, respectivamente.

La figura 81A es una vista en perspectiva de un aparato Bredig-arc comparativo utilizado para hacer las nanopartículas de oro representantes/comparativas.

60 La figura 81B es una vista transversal de un aparato Bredig-arc comparativo utilizado para hacer las nanopartículas de oro representantes/comparativas.

La figura 82A es una fotomicrografía TEM representativa de las nanopartículas de oro de solución seca ARCG 05 elaboradas según el ejemplo 21.

65 La figura 82B es un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones TEM para las nanopartículas elaboradas según el ARCG-05.

Figuras 83A-90A muestran microfotografías TEM representativas para ocho productos de oro coloidal disponibles comercialmente comparativos discutidos en el ejemplo 22.

Figuras 83B-90B muestran los histogramas de distribución de tamaño de partículas de las mediciones TEM para las nanopartículas correspondiente a los ocho productos de oro coloidal disponibles comercialmente comparativos discutidos en el ejemplo 22.

5 La figura 90C muestra los patrones espectrales UV-Vis de cada una de las 7 de las 8 suspensiones de nanopartículas de oro disponibles comercialmente discutidas en la figura 22A (oro utopía, SNG911219, Nanopartz, Nanocomposix 15nm, Nanocomposix 10nm, oro armónico y MesoGold) en una gama de longitud de onda de interrogación de cerca de 250nm-750nm.

10 La figura 90D muestra los patrones espectrales UV-Vis para 7 de las 8 suspensiones de nanopartículas de oro disponibles comercialmente discutidas en la figura 22A (oro utopía, SNG911219, Nanopartz, Nanocomposix 15nm, Nanocomposix 10nm, oro armónico y MesoGold) sobre una gama de longitud de onda interrogación de aproximadamente 435nm-635nm.

La figura 91 es un gráfico que muestra el potencial Zeta.

15 La figura 92 es un gráfico que muestra la conductividad.

La figura 93 muestra datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) para la suspensión de nanocrystal GD-006 realizada según el ejemplo 23a.

Figuras 94A-94D mostrar gráficamente cantidades de cuatro citoquinas diferentes producidas por PBMC humanos cuando antagonizaron por LPS en presencia de cantidades diferentes de GB-079.

20 La figura 95 es un gráfico que muestra los resultados de un modelo de artritis inducida por colágeno ("CIA") en ratones mostrando agua de control, dos mezclas experimentales (es decir, GT-033 y GD-007) y contrastando los resultados experimentales medidos con resultados de un modelo típico de esteroides (es decir, no se ha medido en este modelo).

Las figuras 96A-96D muestran microfotografías representativas de secciones transversales de articulaciones de la pata de ratón en diversas etapas de la artritis.

25 Las figuras 97A-97E muestran microfotografías representativas de articulaciones de la pata de ratón en diversas etapas de la artritis.

La figura 98 es un gráfico que muestra los resultados de un modelo de encefalitis autoinmune experimental ("EAE") en ratones Biozzi mostrando el porcentaje de animales que desarrollan síntomas en el grupo control 1 de agua frente al grupo de tratamiento 2 GB-056.

30 La figura 99 es un gráfico que muestra los resultados de un modelo de encefalitis autoinmune experimental ("EAE") en ratones Biozzi mostrando la puntuación promedio de enfermedad clínica del grupo control 1 de agua frente al grupo de tratamiento 2 GB-056.

Las figuras 100A-100E son microfotografías TEM representativas de nanocrisales de oro de solución seca GB-056 formuladas de conformidad con el ejemplo 17.

35 La figura 101A muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocrisales de oro elaborados según el ejemplo 17.

La figura 101B muestra datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocrisales de oro elaborados según el ejemplo 17.

40 Las figuras 102A-102D son microfotografías TEM representativas de los mismos nanocrisales de oro de solución seca GB-056 formulada de conformidad con el ejemplo 17 después de servir como el compuesto de prueba durante 24 horas en la prueba EAE del ejemplo 26.

La figura 103A muestra el histograma de distribución del tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocrisales de oro elaborados según el ejemplo 17 después de servir como el compuesto de prueba por 24 horas en la prueba EAE del ejemplo 26.

45 La figura 103B muestra datos dinámicos de dispersión de luz (es decir, radios hidrodinámicos) de nanocrisales de oro elaborados según el ejemplo 17 después de servir como compuesto de prueba por 24 horas en la prueba EAE del ejemplo 26.

Las figuras 104A-104C son microfotografías TEM representativas de las mismas nanopartículas de oro de la solución seca GB-056 formulada de conformidad con el ejemplo 17 después de servir como el compuesto de prueba por 24 horas en la prueba EAE del ejemplo 26.

50 La figura 105A muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula de mediciones TEM de los nanocrisales elaborados según el ejemplo 17 después de servir como el compuesto de prueba por 24 horas en la prueba EAE del ejemplo 26.

La figura 106 muestra la ganancia de peso promedio de todos los ratones a través de un estudio a largo plazo según el ejemplo 27.

55 La figura 107 muestra la cantidad promedio de tratamiento y líquidos control consumidos por todos los ratones sobre un estudio a largo plazo según el ejemplo 27.

La figura 108 muestra la ganancia de peso promedio de todos los ratones sobre un estudio de 35 días según el ejemplo 28.

60 La figura 109 muestra la cantidad promedio de tratamiento y líquidos control consumidos por todos los ratones sobre un estudio de 35 días según el ejemplo 28.

La figura 110 muestra la cantidad de oro encontrada en las heces de ratones según el ejemplo 28.

Figura 111 muestra la cantidad de oro encontrada en la orina de ratones según el ejemplo 28.

65 La figura 112 muestra la cantidad de oro encontrada en los órganos y la sangre de los ratones según el ejemplo 28.

Descripción detallada de las modalidades preferidas

I. Nanocristales de oro novedosos

5 Nanocristales de oro novedosos se proveen con superficies nanocristalinas sustancialmente libres de impurezas orgánicas o de otras o películas. Específicamente, las superficies son "limpias" respecto a las realizadas mediante procedimientos de reducción química que requieren reductores químicos y/o agentes tensoactivos para formar nanopartículas de oro de iones de oro en la solución. Los nanocristales de oro novedosos se producen a través de procedimientos de fabricación novedosos, que se describen en detalle en el presente documento. Los nuevos procedimientos de fabricación evitan el uso previo de reductores químicos añadidos y/o agentes tensoactivos (por ejemplo, compuestos orgánicos) u otros agentes que normalmente son llevados a lo largo, o en las partículas o están recubiertos en la superficie de las partículas químicamente reducidas; o los reductores posteriormente se eliminan o quitar mediante procedimientos indeseables que afectan la partícula.

15 En una modalidad preferida, el procedimiento implica la nucleación y el crecimiento de los nanocristales de oro en agua que contiene un "potenciador del procedimiento" o "potenciador de procesamiento" (normalmente un material inorgánico o carbonato o tal) que significativamente no se enlaza a los nanocristales formados, sino más bien facilita la nucleación/crecimiento durante el procedimiento de crecimiento estimulado por la electroquímica. El potenciador del procedimiento sirve importante roles en el procedimiento, incluido el suministro de iones cargados en la solución electroquímica para permitir los cristales a cultivarse. El potenciador de procedimiento crítico es un compuesto o compuestos formados que permanece en solución, y/o no forman una capa (por ejemplo, una capa orgánica), y/o no afectan negativamente los nanocristales formados o la suspensión o suspensiones formadas, y/o es destruido, evaporado o es de otra manera perdido durante el procedimiento electroquímico. Un potenciador del procedimiento preferido es bicarbonato de sodio. Ejemplos de otros potenciadores del procedimiento son el carbonato de sodio, bicarbonato de potasio, carbonato de potasio, fosfato trisódico, fosfato disódico, fosfato monosódico, fosfato de potasio u otras sales de ácido carbónico o similares. Además potenciadores de procedimiento pueden ser sales, incluyendo sodio o potasio, de bisulfito o sulfito. Todavía otros potenciadores del procedimiento para hacer nanocristales de oro para aplicaciones médicas en ciertas condiciones pueden ser otras sales, incluyendo sodio o potasio o cualquier material que ayuda en los procedimientos de crecimiento electroquímico descritos aquí; que no es sustancialmente incorporado en o sobre la superficie de los nanocristales de oro; y no difunde toxicidad a los nanocristales o a la suspensión que contiene los nanocristales.

Intervalos de concentración deseables para el potenciador de procesamiento incluyen típicamente 0.01-20 gramos/galón (0.0026-2.1730 mg/ml), más generalmente, 0.1-7.5 gramos/galón (0.0264-1.9813 mg/ml) y, más generalmente, 0.5-2.0 g/galón (0.13210-0.5283 mg/ml).

Ya que los nanocristales de oro cultivados tienen superficies "desnudas" o "limpias" de metal oro (por ejemplo, en el estado de oxidación cero) las superficies son altamente reactivas o son altamente biocatalíticas (así como altamente biodisponible). Los nanocristales esencialmente están rodeados por una chaqueta de agua. Estas funciones ofrecen mayor eficacia in vivo respecto a las superficies de nanopartículas que contienen, por ejemplo, material orgánico presente en los procedimientos de reducción química. Las superficies "limpias" también pueden reducir la toxicidad de los nanocristales, sobre esas nanopartículas que contienen superficies recubiertas o "preparadas". La mayor eficacia de estos nanocristales de oro "limpios" puede proporcionar un mayor índice terapéutico a través de una menor dosis necesaria para lograr un efecto terapéutico. Un ejemplo de modelo de ratón comparativo aquí (ejemplo 25) compara una suspensión de nanocristal de oro inventiva a Auranofina, un fármaco de oro comercialmente disponible y aprobado por la FDA. Este ejemplo muestra que estos nanocristales novedosos de oro, en ratones, son al menos 5 veces más activos que Auranofina en el modelo de artritis inducido por colágeno bien aceptado de la inflamación en la artritis reumatoide.

50 Específicamente, el modelo de ratón comparativo (ejemplo 25) compara los niveles de dosis demostrando eficacia mediante una suspensión inventiva de cristal a los niveles de dosis demostrando eficacia utilizando Auranofina, un fármaco basado en oro comercialmente disponibles y aprobado por la FDA, el ejemplo 25 muestra que estos nanocristales novedosos de oro, en ratones, logran eficacia a un nivel de dosis por lo menos 17 veces inferior al nivel de dosis efectiva de Auranofina en el modelo de artritis inducida por colágeno bien aceptada de la inflamación en el ratón, y 5 veces más bajo que el contenido de oro contenido en el nivel de dosis efectiva de Auranofina. Así, comparando los niveles de eficacia relativa del nanocristal de oro novedoso con aquellos del fármaco basado en oro Auranofina y solo el contenido de oro de aquellos de Auranofina, la potencia relativa de los nanocristales de oro novedosos es 17 veces mayor que la Auranofina y 5 veces mayor que el oro contenido en la Auranofina.

60 Esta ventaja de potencia significa que la eficacia del tratamiento se puede lograr en una dosis mucho más baja (17X dosis menor de Auranofina, 5X dosis menor que el oro contenido en Auranofina), o alternativamente, esta eficacia mucho mayor potencialmente se puede lograr en niveles de dosis equivalentes.

65 Existen otras ventajas importantes de los nanocristales novedosos en otras dos dimensiones: toxicidad relativa, y velocidad relativa del comienzo de los beneficios. Con respecto a la toxicidad relativa observada, y velocidad relativa observada del comienzo de los beneficios, en un modelo animal, los nanocristales de oro novedosos son

significativamente diferentes y superan significativamente a Auranofina, el producto farmacéutico basado en oro aprobado por FDA, administrado solo oralmente en la técnica previa.

5 En una modalidad preferida, los nanocristales no se secan antes de su uso, sino se usan en el líquido que se forman en (es decir, formando una suspensión) o un concentrado o un concentrado reconstituido del mismo. Parece que la eliminación total de estos cristales de su suspensión (por ejemplo, secado por completo) puede, en determinados casos, afectar las propiedades de superficie de los cristales (por ejemplo, oxidación parcial puede ocurrir) y/o pueden afectar la capacidad de rehidratar los cristales por, por ejemplo, la alteración de la chaqueta de agua formada inicialmente. Esto sugiere que puede ser óptimo usar agua de grado farmacéutico estéril (por ejemplo, USP) y los potenciadores del procedimiento mencionados anteriormente en los procedimientos de fabricación.

10 Los nanocristales de oro producidos de acuerdo con esta invención también pueden utilizarse para aplicaciones industriales donde la reactividad de oro es importante (por ejemplo, procedimientos catalíticos y/o electroquímicos), pero productos de grado farmacéutico no son requeridos. Cuando se preparan para usos no farmacéuticos, los nanocristales de oro se pueden hacer en una variedad más amplia de solventes y con una variedad más amplia de potenciadores de procedimiento, dependiendo de la aplicación.

20 De acuerdo a los procedimientos aquí, los nanocristales de oro se pueden cultivar de una manera que proporciona características de superficie única e identificable tal como índice bajo extendido espacialmente, planos de cristal {111}, {110} y/o {100} y grupos de dichos planos (y sus equivalentes). Las formas de nanocristales de oro preparadas de acuerdo con los procedimientos descritos aquí incluyen, pero no se limitan a, triángulos (por ejemplo, tetraedros), pentágonos (por ejemplo, bipirámides o decaedros), hexágonos (por ejemplo, bipirámides hexagonal, icosaedros, octaedros), diamante (por ejemplo, octaedros, varias bipirámides alargadas, tetraedros fusionados, vistas laterales de bipirámides) y "otros". El porcentaje de nanocristales (es decir, cultivados por varias modalidades expuestas aquí) que contiene los planos de cristal de índice bajo extendido espacialmente mencionado anteriormente y con superficies "limpias" es otra característica novedosa de la invención. Además, el porcentaje de tetraedros y/o bipirámides pentagonales formado o presentes en las suspensiones nanocristalinas es/son también únicas.

30 En una modalidad preferida el porcentaje de bipirámides pentagonales es al menos aproximadamente 5%, o está en un intervalo de aproximadamente 5% - 35%, y más generalmente al menos aproximadamente 10%, o está en un intervalo de aproximadamente 10% - 35%, y aún más generalmente, al menos aproximadamente 15%, o está en un intervalo de aproximadamente 15% - 35% y todavía más normalmente, al menos aproximadamente 25% y en algunos casos al menos aproximadamente 30%.

35 En otra modalidad preferida el porcentaje de tetraedros es al menos 5%, o está en un intervalo de aproximadamente 5% - 35%, y más generalmente al menos aproximadamente 10%, o está en un intervalo de aproximadamente 10% - 35% y aún más generalmente, al menos aproximadamente 15%, o está en un intervalo de aproximadamente 15% - 35%, y todavía más normalmente, al menos aproximadamente 25%, y en algunos casos al menos aproximadamente 30%.

45 Aún además, la combinación de bipirámides pentagonales y tetraedros es al menos aproximadamente 15%, o está en un intervalo de aproximadamente 15% - 50% y más generalmente al menos aproximadamente 20%, o está en un intervalo de aproximadamente 20% - 50% y aún más normalmente, al menos aproximadamente 30%, o está en un intervalo de aproximadamente 30% - 50% y todavía más normalmente, al menos aproximadamente 35% y en algunos casos al menos aproximadamente 45%.

50 Aún además, la combinación de bipirámides pentagonales, tetraedros, octaedros y hexagonal es al menos aproximadamente 50%, o está un intervalo de aproximadamente 50% - 85% y más normalmente al menos aproximadamente 60%, o está en un intervalo de aproximadamente 60% - 85% y aún más normalmente, al menos aproximadamente 70%, o está en un intervalo de aproximadamente 70% - 85% y aún más normalmente, al menos aproximadamente 70% y en algunos casos al menos aproximadamente 80%.

55 Cualquier tamaño promedio deseado de nanocristales de oro debajo de 100 nm se puede proveer. Los intervalos de tamaño cristalino más deseable incluyen aquellos que tienen un tamaño de cristal promedio o "modo" (como medido y determinado por técnicas específicas descritas detalladamente aquí y reportados como "diámetro promedio TEM") que es predominantemente menor de 100 nm y más usualmente menor de 50 nm, incluso más usualmente menor de 30 nm y en muchas de las modalidades preferidas descritas aquí, el modo de la distribución de tamaño de nanocristal es menor de 21 nm y dentro de aún un intervalo más preferible de 8-18nm.

60 Suspensiones nanocristalinas de oro o coloides resultantes se puede prever que tienen o se ajustan a tener intervalos de pH objetivo. Cuando se prepara con, por ejemplo, un potenciador de procedimiento de bicarbonato de sodio, en las cantidades descritas en detalle aquí, el intervalo de pH es usualmente 8-9, que se puede ajustar como desee.

65 La naturaleza y/o cantidad del cambio superficial (es decir, positivo o negativo) sobre las nanopartículas o nanocristales formados puede tener una gran influencia en el comportamiento y/o efectos de la

nanopartícula/suspensión o coloide. Por ejemplo, coronas de proteína tal como coronas de albúmina formadas *in vivo* pueden ser influenciadas por carga superficial o características superficiales de una nanopartícula. Dichas cargas superficiales son comúnmente referidas como "potencial zeta". Se sabe que cuanto mayor sea el potencial zeta (ya sea positivo o negativo), mayor será la estabilidad de las nanopartículas en la solución (es decir, la suspensión es más estable). Controlando la naturaleza y/o cantidad de cargas superficiales de nanopartículas o nanocristales formados, puede controlar el desempeño de tales suspensiones de nanopartículas.

Potencial Zeta es conocido como una medida del potencial electro-cinético en sistemas coloidales y también es referido como una carga superficial de partículas. Potencial Zeta es la diferencia de potencial que existe entre la capa estacionaria de líquido y el fluido dentro del cual se dispersa la partícula. Un potencial zeta a menudo se mide en milivoltios (es decir, mV). El valor del potencial zeta de aproximadamente 20-25mV es un valor arbitrario que ha sido elegido para determinar si o no una partícula dispersada es estable en un medio de dispersión. Así, cuando se hace referencia aquí a "potencial zeta", debe entenderse que el potencial zeta referido es una descripción o cuantificación de la magnitud de la carga eléctrica presente en la doble capa.

El potencial zeta se calcula a partir de la movilidad electroforética mediante la ecuación de Henry:

$$U_E = \frac{2\epsilon z f(ka)}{3\eta}$$

donde z es el potencial zeta, U_E es la movilidad electroforética, ϵ es una constante dieléctrica, η es una viscosidad, $f(ka)$ es la función de Henry. Para aproximadamente de Smoluchowski $f(Ka) = 1.5$.

Potenciales zeta ("ZP") para los nanocristales de oro preparados de acuerdo con métodos aquí usualmente tienen un ZP de al menos - 20mV, más usualmente al menos aproximadamente - 30 mV, aún más usualmente, al menos aproximadamente - 40 mV y aún más usualmente al menos aproximadamente - 50 mV.

II. Uso de nanocristales de oro novedosos

Los nanocristales de oro de la presente invención pueden usarse para tratar cualquier trastorno para el cual terapia de oro es conocido que es efectiva, que incluye un amplio intervalo de trastornos inflamatorios y autoinmunes, así como ciertas enfermedades infecciosas y cáncer. Descripciones de muchos de estos usos se proporcionan en el antecedente de la invención, anteriormente, o de lo contrario, con más detalle a continuación.

El sujeto a tratarse puede ser humano u otro animal tal como un mamífero. Sujetos no humanos incluyen, pero no se limitan a primates, animales de ganado (por ejemplo, ovejas, vacas, caballos, cerdos, cabras), animales domésticos (por ejemplo, perros, gatos), aves y otros animales (por ejemplo, ratones, ratas, conejillos de indias, conejos).

De manera importante, ahora se ha descubierto sorprendentemente como parte de esta invención que las nanopartículas de oro (y en particular los nanocristales de oro descritos en detalle aquí) inhiben el factor inhibitorio de migración de macrófagos ("MIF"). Se cree que esta es la primera descripción de dicha actividad de nanopartículas de oro, y puede proporcionar una base científica para entender el intervalo de usos médicos para composiciones de oro hasta la fecha. También proporciona una base científica para concluir que las nanopartículas de oro serán eficaces contra otras enfermedades que son mediadas por el factor inhibitorio de migración de macrófagos. Además, se ha detectado que estos nanocristales de oro inhiben IL-6, pero no IL-10. Debido a que MIF y/o IL-6 se indica en una gran variedad de condiciones y/o vías de señalización biológicas, tal hallazgo confirma que los nanocristales de oro será efectivos para el tratamiento o prevención de enfermedades o condiciones resultantes de la activación celular patológica, tales como condiciones inflamatorias (que incluyen inflamatoria crónica), condiciones autoinmunes, ciertas infecciones, reacciones de hipersensibilidad y/o enfermedades o condiciones cancerosas.

MIF es que una citoquina multifuncional derivada de macrófago importante en un número de eventos pro-inflamatorios. MIF es descrito originalmente como un producto de T-linfocitos activados que inhibe la migración aleatoria de macrófagos. Mientras MIF inicialmente se encuentra que activa macrófagos en sitios inflamatorios, MIF ha demostrado ahora que media un intervalo de agentes de señalización en el sistema inmune. MIF ha demostrado que se expresa en enfermedades o condiciones humanas y animales que incluyen infección, inflamación, lesión, isquemia y/o malignidad. MIF parece tener una función clave en la proliferación celular, diferenciación celular, angiogénesis y cicatrización de heridas. MIF también parece mediar la actividad glucocorticoide (esteroides) por contrarrestar al menos algunos de sus efectos anti-inflamatorios.

Como se muestra en los ejemplos 25 y 26, las composiciones nanocristalinas de la presente invención son muy efectivas en los modelos animales para CIA y EAE. Una conexión entre estos dos modelos animales (así como estado de enfermedad humana) es la presencia de MIF.

Estudios recientes han indicado que antagonismo de anticuerpo monoclonal de MIF puede ser útil en el tratamiento de sepsis, ciertos tipos de cánceres e hipersensibilidad de tipo retardada. Parece que la sepsis es accionada por una sobre-reacción de la inflamación y el sistema inmunológico. En determinadas infecciones, en el ataque por microorganismos, el sistema inmune innato reacciona primero, con lo cual se moviliza los neutrófilos, macrófagos y las células asesinas naturales ("células NK"). Citoquinas (y MIF) así desempeñan una importante función como mediadores, que regulan la activación y diferenciación de estas células. Por último, el sistema inmune innato interactúa con el sistema inmune adaptativo vía estas y otras moléculas de estimulación, sobre la cual el sistema inmune adaptativo tiene la capacidad de construir una memoria inmunológica, además de proporcionar protección específica del patógeno.

MIF es visto como un importante mediador en la sepsis, como MIF incita la producción de TNF, otras citoquinas pro-inflamatorias y eicosanoides, inducen la expresión de TLR-4, que reconoce LPS y parece resistir en la activación de la respuesta inmune innata. MIF y glucocorticoides actúan como antagonistas son al menos parcialmente responsables de la regulación de la reacción inflamatoria. MIF tiene un efecto inhibitorio sobre glucocorticoides, que normalmente inhiben la inflamación.

Antagonismo terapéutico de MIF puede proporcionar efectos de "reducción de esteroides" o incluso puede ser terapéutico en enfermedades "resistentes a esteroides". A diferencia de otras moléculas pro-inflamatorias, tales como ciertas citoquinas, la expresión y/o liberación de MIF se acopla (por ejemplo, puede ser inducida por) glucocorticoides. MIF parece ser capaz de antagonizar los efectos de los glucocorticoides. MIF tiene una función principal en la regulación de citoquinas pro-inflamatorias. Esto ha demostrado ser el caso de macrófagos que secretan TNF, IL-1.beta., IL-6 e IL-8. MIF también regula la liberación de IL-2. MIF también tiene una función en la regulación de la proliferación de células T. *In vivo*, MIF ejerce un efecto glucocorticoide-antagonista poderoso en modelos que incluyen choque endotóxico y artritis experimental (por ejemplo, artritis inducida por colágeno o modelos "CIA", tal como el utilizado en un ejemplo más adelante aquí y modelos de otras condiciones inflamatorias y enfermedades inmunes incluyendo colitis, esclerosis múltiple (es decir, el modelo EAE discutido con mayor detalle en ejemplo 26), aterosclerosis, glomerulonefritis, uveítis y ciertos cánceres).

Además, MIF recientemente ha demostrado ser importante en el control de las interacciones leucocito-endoteliales. Leucocitos interactúan con células endoteliales vasculares a fin de ganar egresos de la vasculatura en tejidos. La función de MIF en estos procedimientos ha sido demostrado que afecta migración y adhesión leucocito-endotelial. Estos procedimientos parecen ser una parte esencial de casi todas las enfermedades inflamatorias, y también para las enfermedades menos bien-identificadas como inflamatorias incluyendo, por ejemplo, aterosclerosis.

MIF también se expresa en plantas (así "MIF" puede referirse a MIF de plantas) y cuando sea apropiado, las suspensiones de nanocristales de oro inventivos (por ejemplo, que comprenden nanocristales de metal basados en oro y/o mezclas de nanocristales de oro y otros metales y/o aleaciones de nanocristales de oro con otros metales y/o métodos de terapia de combinación) pueden utilizarse en aplicaciones botánicas/agrícolas tales como el control de cultivo.

MIF es una citoquina clave en el cambio de la naturaleza de la respuesta inmune. La respuesta inmune tiene dos mecanismos efectores. La respuesta inmune Th1 genera células T citotóxicas que eliminan patógenos y células dañadas/desaparecidas. La respuesta Th2 genera anticuerpos facilitan la fagocitosis y activan el complemento. La función de MIF para determinar la polarización del sistema inmune es dependiente de otras citoquinas tal como IL-10. IL-10 es una citoquina anti-inflamatoria potente que bloquea la acción de MIF sobre células Th1 y conduce a la generación de una respuesta de Th2. En ausencia de IL-10 MIF estimulará células Th1 para producir una respuesta citotóxica. IL10 se produce por monocitos y células B en respuesta a la estimulación, con lo cual MIF es, por ejemplo, independientemente producido y almacenado en la glándula pituitaria y células T. MIF por tanto desempeña una función importante en enfermedades mediada por célula citotóxica T - tales como artritis reumatoide y Crohns, y enfermedades mediadas por el anticuerpo tales como trombocitopenia idiopática.

Sin desear ser ligado por cualquier teoría en particular o explicación, cuando se hace referencia aquí a "una o más vías de señalización" debe entenderse en el sentido de que MIF, o al menos una proteína asociada con MIF (por ejemplo, incluyendo sitios receptores tal como sitios receptores de CD74) es/son implicados en el sistema inmune innato (por ejemplo, células NK y fagocito, proteínas de complemento (por ejemplo, C5a) y/o vías inflamatorias) y el sistema inmune adaptativo (por ejemplo, citotoxicidad dependiente de célula T (Th1) y vías de anticuerpo (Th2)). Por ejemplo, cuando MIF está involucrado en la vía de señalización Th1 que genera células citotóxicas T otras proteínas tales como, por ejemplo, IL6, TNF y otras citoquinas también se involucran.

Cuando la vía de señalización Th1 es hiperactiva, una variedad de enfermedades pueden resultar, tales como las enfermedades reumáticas, enfermedades del tejido conectivo, vasculitis, condiciones inflamatorias, enfermedades vasculares, enfermedades oculares, enfermedades pulmonares, cánceres, enfermedades renales, trastornos del sistema nervioso, complicaciones de trastornos infecciosos, enfermedades alérgicas, enfermedades óseas, enfermedades de la piel, diabetes de tipo 1, enfermedad de Crohn, MS y enfermedades gastrointestinales, etc. En consecuencia, reduciendo la cantidad de función MIF asociada con esta vía de señalización de Th1 particular, las condiciones de enfermedad crónica pueden ser mitigadas.

En contraste, otra vez sin desear ligar por cualquier teoría particular o explicación, cuando la vía de señalización de Th2 es sobre-activa, la producción de varios anticuerpos ocurre conduciendo a enfermedades tales como, por ejemplo e incluyendo, anemia hemolítica, ITP (púrpura trombocitopénica idiopática), enfermedad hemolítica del recién nacido, etc. Además, sobre-actividad de esta vía de señalización Th2 puede resultar en una sub-actividad de la vía de Th1, así permitiendo que varios parásitos o cánceres prosperen. Por ejemplo, en el caso de malaria cuando la sobre-producción de uno o varios homólogos de MIF conduce a la generación de una respuesta de anticuerpo ineficaz que es ineficaz contra el parásito (por ejemplo, es plausible que una variedad de formas de cristal u homólogos de MIF (o sus equivalentes) se hace o presenta por una variedad de bacterias, parásitos, virus, hongos, etc., cada uno de los cuales puede tener diferente reactividad relativa a, por ejemplo, MIF humano "ordinario", y que pueden alterar la respuesta inmune de huésped para crear al menos ambientes locales de "privilegio inmune"). En consecuencia, reduciendo la cantidad de función MIF asociada con esta vía de señalización de Th2 particular, otras condiciones de enfermedad pueden ser mitigadas.

Aún además, sin desear ligar a cualquier teoría particular o explicación, MIF también tiene un papel en la conducción de la vía de señalización asociada con la inmunidad innata. Esta vía implica la activación de las células asesinas naturales ("NK"), fagocitos y otros tipos de células patógenas no específicas y ciertas proteínas tales como las proteínas de complemento (por ejemplo, C5a). Exceso de MIF (y/o homólogos de MIF), o efectos similares de la misma, puede resultar en indeseable sobre-expresión o sobre-reacción en esta vía de señalización particular como se observa en múltiples insuficiencias de órgano como consecuencia de la sepsis. Los ejemplos incluyen el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). En consecuencia, reduciendo la cantidad de actividad de MIF asociada con esta vía de señalización particular muchas enfermedades inflamatorias pueden mitigarse.

En consecuencia cuando MIF endógeno está presente (por ejemplo, en exceso bajo las condiciones ambientales locales), como se mide por, por ejemplo, técnicas de medición de fluido corporal conocidas tal como ELISA, espectroscopia, etc., es posible que una o más vías de señalización del sistema inmune innatas o adaptativas pueden sobre-expresar o sobre producir componentes inflamatorios/inmunológicos. Si por ejemplo, una o más formas de MIF presente causa la producción de una respuesta citotóxica T excesiva, o una respuesta de anticuerpos excesiva o una respuesta de células fagocito/NK exageradas, pueden provocar enfermedades humanas. Cuando, por ejemplo, se expresan demasiadas células citotóxicas T, puede producir una variedad de enfermedades inflamatorias crónicas. Del mismo modo cuando Th2 excesivo o respuestas innatas son facilitadas por MIF, otras enfermedades se producen.

Aún más, se conoce también que parásitos de malaria y otros parásitos tal como nematodos y gusanos filarial, y algunos canceres producen ciertos tipos de exógenos o MIF no regulados u homólogos de MIF. Una vez más, sin desear unir a cualquier teoría particular o explicación, parece que la expresión exógena de MIF, o sus homólogos, conduce a la estimulación de la vía de señalización Th2, y puede ser un intento por el parásito, o el tumor, (es decir, "el invasor") para crear un estado donde se activa la respuesta inmune por MIF o sus homólogos tal que esta vía de señalización particular activada es no perjudicial para el tumor o el parásito, etc.

Con respecto a por ejemplo, un parásito de malaria, el parásito puede estimular la vía de señalización de Th2 proporcionando exceso de MIF exógeno resultante en la producción de anticuerpos en lugar de células T citotóxicas. Sin embargo, dichos anticuerpos normalmente no dañan el parásito. Por lo tanto, el parásito parece crear al menos un área local de privilegio inmune. En este sentido si una vía alternativa, tal como, por ejemplo, la vía de Th1 o la vía de célula (NK) asesina natural, puede reactivarse, podría entonces producirse daños al parásito (por ejemplo, el sistema inmune podría eliminar el parásito). Sin embargo, si se crean anticuerpos en exceso u otros productos inmunes/inflamatorios, por ejemplo, como un resultado de la activación preferencial de la vía de Th2, es posible que los anticuerpos en exceso finalizarán el entrelazamiento a varios sitios de la célula o activación de otras moléculas inmunológicas. Cuando se produce dicho entrelazamiento o activación, podría provocar una gran respuesta inflamatoria. Sin desear ligar a cualquier teoría en particular o explicación, es posible que esta respuesta inflamatoria sea precisamente la respuesta que se produce en las mujeres que están embarazadas y están infectadas con malaria, haciéndolas vulnerables a la malaria severa y la anemia de malaria. Se cree que las mujeres embarazadas son particularmente susceptibles a este efecto, debido a los efectos inmunológicos de la placenta para promover una respuesta de Th2 y secuestrar parásitos en esta zona privilegiada inmune.

Una vez más, sin desear a ligar a cualquier teoría particular o explicación, las células cancerosas también expresan MIF aparentemente en un intento de controlar al menos parcialmente la respuesta inmune control y/o promover su propio crecimiento. En este sentido, parece que las células cancerosas también están intentando manipular el sistema inmune para seguir la vía de señalización de Th2, en contraste con la vía de señalización de Th1 que puede dañar o eliminar las células cancerosas. Por ejemplo, causando que privilegio inmune local sea creado, no existe riesgo particular (o poco) para las células cancerosas. Por el contrario, si MIF es para estimular la vía de señalización de Th1, a continuación puede provocar una respuesta celular/inflamatoria de citoquinas, que causa daño o muerte a las células cancerosas (por ejemplo, el tumor podría ser naturalmente eliminado por el sistema inmunológico).

Una vez más, sin desear ligar a cualquier teoría particular o explicación, los niños poseen un sistema inmune inmaduro, particularmente las vías de Th1 e innatos. Esta inmadurez en algunos niños resulta en el metabolismo de

MIF alterado. Por lo tanto, parece que la modulación de MIF en niños podría resultar en la prevención o mejora de enfermedades infecciosas o inflamatorias.

5 En consecuencia, sin desear ligar a cualquier teoría particular o explicación, las suspensiones de nanocrisales de oro inventivas de la presente invención pueden utilizarse para modificar una o más vías de señalización (por ejemplo, vía de señalización de Th1, vía de señalización Th2 y/o vía de inmunidad innata) solos o en combinación con otras terapias que modulan las vías de señalización. Así, al interactuar o controlar el MIF (u homólogo de MIF) asociado con una o más vías de señalización, varias respuestas inmunológicas pueden activarse o puede desactivarse. En consecuencia, la respuesta a lo largo de las vías de señalización Th1 y Th2 para la creación de células citotóxicas T o anticuerpos puede ser activada, o puede ser desactivada (por ejemplo, el interruptor de Th1-Th2 puede ser controlado para dirigir más o menos de la vía inmune que se invoca). Del mismo modo, el sistema inmune innato e inflamación resultante pueden ser activados o pueden ser desactivados.

15 Con el conocimiento de que una o más vías de señalización se pueden activar/desactivar, así pueden ocurrir muy importantes tratamientos terapéuticos. Por ejemplo, una variedad de puntos finales de sustituto puede ser monitoreada o examinada por una variedad de diferentes enfermedades, incluyendo, por ejemplo, muchos cánceres. Por ejemplo, el antígeno, "antígeno carcino-embriionario" o "CEA" es un marcador de punto final sustituto conocido por la cantidad de tumor o la cantidad de carga tumoral presente en una variedad de diferentes cánceres. Por ejemplo, se sabe que cuanto mayor sea la cantidad de CEA, más tumores aquí están asociados con cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, etc. En este sentido, la cantidad de antígeno carcino-embriionario puede medirse, por ejemplo, al extraer sangre y analizar la presencia de CEA mediante técnicas conocidas que incluyen, por ejemplo, ELISA y ciertas técnicas de espectroscopía. En este sentido, una vez que la sangre se extrae y se hace una medición para determinar la cantidad de CEA, el grado de tratamiento requerido (por ejemplo, la dosis, duración y/o la cantidad) se pueden accionar al monitorear el cambio en la cantidad de CEA medido. Por ejemplo, si se toma 15-45 ml de 10 ppm de producto 2 - 3 veces al día, el monitoreo de la cantidad de CEA puede causar un incremento en dosificación, o una disminución en la dosificación, dependiendo del resultado deseado.

30 Asimismo, el cáncer de próstata tiene un punto final de sustituto conocido de "antígeno específico de próstata" o "PSA". Este punto final sustituto también puede monitorearse al extraer sangre y buscar para el mismo por técnicas de ELISA.

35 Aún además, varios cánceres, tipo melanoma (por ejemplo, ocular, etc.) también expresan antígenos por ejemplo "GP100" y/o "Melan-A". Estos puntos finales sustitutos también pueden determinarse al extraer sangre de un paciente y después medir por ELISA similar o técnicas espectrográficas para la cantidad de antígeno presente. En todos los casos, la presencia del antígeno puede causar un incremento/disminución en la cantidad de tratamiento terapéutico provisto.

40 El siguiente "cuadro A" establece un número de conocidos "marcadores tumorales" y cánceres asociados, así como cuando se extraen las muestras biológicas para medir dichos marcadores.

<u>Cuadro A</u>		
<u>Marcadores tumorales comunes actualmente en uso</u>		
<u>Marcadores tumorales</u>	<u>Cánceres</u>	<u>Muestra usual</u>
<u>AFP</u> (Proteína Alfa-feto)	Hígado, célula germinal, <u>cáncer de ovarios</u> o <u>testes</u>	Sangre
<u>B2M</u> (microglobulina beta-2)	<u>Mieloma múltiple y linfomas</u>	Sangre
<u>CA 15-3</u> (antígeno de cáncer 15-3)	<u>Cáncer de mama</u> y otro, que incluyen pulmón, ovario	Sangre
<u>CA 19-9</u> (antígeno de cáncer 19-9)	<u>Pancreático</u> , algunas veces colorrectal y ductos biliares	Sangre
<u>CA-125</u> (Antígeno de cáncer 125)	<u>Ovario</u>	Sangre
Calcitonina	Carcinoma medular de tiroides	Sangre
<u>CEA</u> (antígeno carcino-embriionario)	<u>Colorrectal</u> , pulmón, <u>mama</u> , tiroides, pancreático, <u>hígado</u> , cerviz, y vejiga	Sangre
<u>Cromagranina (CgA)</u>	<u>Tumores neuroendócrinos</u> (tumores carcinoides, neuroblastoma)	Sangre
<u>Receptores de estrógeno</u>	Mama	Tejido
<u>hCG</u> (gonadotropina coriónica humana)	Enfermedad testicular y trofoblástico	Sangre, orina
<u>Her-2/neu</u>	<u>Mama</u>	Tejido
Inmunoglobulinas monoclonales	<u>Mieloma múltiple</u> y macroglobulinemia de Waldenstrom	Sangre orina
<u>Receptores de progesterona</u>	Mama	Tejido
<u>PSA</u> (antígeno específico de próstata), total y libre	<u>Próstata</u>	Sangre
<u>Tiroglobulina</u>	<u>Tiroides</u>	Sangre

Marcadores tumorales	Cánceres	Muestra usual
Otros marcadores tumorales menos ampliamente usados		
BTA (antígeno de tumor de vejiga)	Vejiga	Orina
CA 72-4 (antígeno de cáncer 72-4)	Ovario	Sangre
Protrombina Des-gamma-carboxi (DCP)	<u>Carcinoma hepatocelular (HCC)</u>	Sangre
EGFR (Her-1)	Tumores sólidos, tal como del pulmón (célula no pequeña), cabeza y cuello, colon, páncreas o mama	Tejido
NSE (enolasa específica de neurona)	Neuroblastoma, cáncer de pulmón de célula a pequeña	Sangre
NMP22	Vejiga	Orina
Fosfatasa de ácido prostático (PAP)	Cáncer de próstata metastásica, cáncer de pulmón	Sangre
<u>Péptidos relacionados con mesotelina soluble (SMRP)</u>	Mesotelioma	Sangre

5 Aún además, diversas enfermedades de disfunción inmune e inflamación, como artritis reumatoide y enfermedad de Crohn pueden evaluarse utilizando marcadores inflamatorios tal como proteína reactiva C (CRP) o velocidad de sedimentación de eritrocitos (ESR). También puntos finales sustitutos también se pueden determinar extrayendo sangre de un paciente y después midiendo por ELISA visual o técnicas espectrográficas para la cantidad de marcador presente. En todos los casos, el cambio en un marcador inflamatorio/inmune puede causar un incremento/disminución en la cantidad de tratamiento terapéutico provisto.

10 Aún además, varias enfermedades basadas en anticuerpos, tipo anemia hemolítica o enfermedad de Rhesus, se pueden monitorear por la concentración de anticuerpos específicos presentes. Estos puntos finales sustitutos también pueden determinarse al extraer sangre de un paciente y después medir, por ELISA similar o técnicas espectrográficas, por la cantidad de anticuerpo presente. En todos los casos, la presencia de anticuerpos puede causar una incremento/disminución en la cantidad de tratamiento terapéutico provisto.

15 Inhibidores o modificadores de MIF y/o uno o más de vías de señalización de MIF también puede usarse en dispositivos implantables tal como stents. En consecuencia, un aspecto adicional la presente invención proporciona un dispositivo implantable, preferiblemente un stent, que comprende:

- 20 (i) un reservorio que contiene al menos un compuesto de compuesto de base metálica que comprende soluciones de oro o coloides y sus mezclas y aleaciones; y
(ii) medios para liberar o eluir el inhibidor o modificador del reservorio.

25 De acuerdo con la invención por lo tanto, existe una variedad de indicaciones que las terapias basadas en oro nanocrystalino de la presente invención tendrá eficacia deseable contra que incluyen diversas enfermedades autoinmunes, tumores, o condiciones inflamatorias agudas o crónicas o enfermedades, trastornos, síndromes, estados, tendencias o predisposiciones, etc., seleccionados del grupo que comprende:

- 30 enfermedades reumáticas (incluyendo pero no limitado a artritis reumatoide, osteoartritis, artritis psoriática, enfermedad de Still) espondiloartropatías (incluyendo pero no limitado a espondilitis anquilosante, artritis reactiva, síndrome de Reiter), artropatías cristalina (incluyendo pero no limitado a gota, pseudogota, enfermedad de depósito de pirofosfato de calcio), enfermedad de Lyme, polimialgia reumática;
enfermedades del tejido conectivo (incluyendo pero no se limitan a lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, escleroderma, polimiositis, dermatomiositis, síndrome de Sjogren);
35 vasculitis (incluyendo pero no limitado a poliarteritis nodosa, granulomatosis de Wegener, síndrome de Churg-Strauss);
condiciones inflamatorias o tendencias que incluyen consecuencias de trauma o isquemia;
sarcoidosis;
enfermedades vasculares incluyendo enfermedad vascular aterosclerótica e infarto de miocardio, aterosclerosis y enfermedad vascular oclusiva (incluyendo pero no limitadas a aterosclerosis, enfermedad cardíaca isquémica,
40 infarto de miocardio, apoplejía, enfermedad vascular periférica) y restenosis de stent vascular;
enfermedades oculares que incluyen uveítis, enfermedad corneal, iritis, iridociclitis y cataratas;
enfermedades autoinmunes (incluyendo pero no limitadas a diabetes mellitus, tiroiditis, miastenia gravis, colangitis esclerosante, cirrosis biliar primaria);
enfermedades pulmonares (incluyendo pero no limitadas a enfermedades pulmonares intersticiales difusas,
45 pneumoconiosas, alveolitis fibrosante, asma, bronquitis, bronquiectasia, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de dificultad respiratoria en adulto);
cánceres primario o metastásico (incluyendo pero no limitado a cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de vejiga, cáncer de riñón, linfoma, cáncer de pulmón, melanoma, mieloma múltiple, cáncer de mama, cáncer de estómago, leucemia, cáncer cervical y cáncer metastásico);

enfermedades renales incluyendo glomerulonefritis, nefritis intersticial;
 trastornos del eje hipotalámico-pituitario-adrenal;
 trastornos del sistema nervioso que incluyen esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de
 Parkinson, enfermedad de Huntington;
 5 enfermedades caracterizadas por angiogénesis modificada (por ejemplo, retinopatía diabética, artritis
 reumatoide, cáncer) y endometriosis;
 enfermedades infecciosas, incluyendo pero no limitadas a bacterias, parásitos o virales, incluyendo VIH, VHB,
 VHC, tuberculosis, malaria y gusanos (incluyendo la FDA actual designada enfermedades olvidadas del mundo
 en desarrollo);
 10 complicaciones de los trastornos infecciosos que incluyen choque endotóxico (séptico), choque exotóxico
 (séptico), choque infeccioso (true séptico), complicaciones de malaria (por ejemplo, malaria cerebral y anemia),
 otras complicaciones de infección y enfermedad pélvica inflamatoria;
 rechazo de trasplantes, enfermedad de injerto contra huésped;
 enfermedades alérgicas, incluyendo alergias, enfermedades atópicas, rinitis alérgica;
 15 enfermedades óseas (por ejemplo, osteoporosis, enfermedad de Paget);
 enfermedades de la piel que incluyen psoriasis, eczema, dermatitis atópica, activación de células dérmicas
 inducida por UV(B) (por ejemplo, quemaduras, cáncer de piel);
 diabetes mellitus y sus complicaciones;
 dolor, disfunción testicular y cicatrización;
 20 enfermedades gastrointestinales, que incluyen enfermedad inflamatoria intestinal (que incluyen pero no limitadas
 a colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn), úlcera péptica, gastritis, esofagitis, enfermedad del hígado (incluyendo
 pero no limitada a cirrosis y hepatitis).

En una modalidad, la enfermedad o condición se selecciona del grupo que consiste de artritis reumatoide,
 25 osteoartritis, lupus eritematoso sistémico, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple, psoriasis,
 eczema, uveítis, diabetes mellitus, glomerulonefritis, enfermedad vascular aterosclerótica e infarto al miocardio,
 asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, VIH, VHB, VHC, tuberculosis, malaria, gusanos y cánceres.

III. Composiciones farmacéuticas

30 Composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad efectiva de los nanocristales de oro para tratar cualquiera
 de las condiciones médicas descritas en esta aplicación también se proveen. En una modalidad preferida, los
 nanocristales de oro se administran en un líquido de suministro oral, en donde los nanocristales de oro permanecen
 en el agua de fabricación que puede ser concentrada o reconstituida, pero preferible no secada hasta el punto en
 35 que las superficies de los nanocristales de oro llegan a ser completamente secas o tienen sus superficies de otra
 manera alteradas desde su estado prístino de fabricación.

Basado en experimentos, parece que los nanocristales de oro presentes son una forma más potente de oro que los
 40 materiales basados en oro de la técnica previa, incluyendo productos farmacéuticos basados en oro FDA aprobados,
 y coloides de oro FDA-aprobados, debido a las superficies cristalinas muy activas sustancialmente limpias. Debido a
 esto, se espera que dosis significativamente más bajas de los nanocristales presentes se puedan utilizar, más que
 los niveles de dosis requeridos por composiciones de la técnica previa, que incluyen el producto oro oral Auranofina.

Por ejemplo, en el modelo de ratón de artritis inducida por colágeno ampliamente aceptado, una dosis estándar es
 45 40 mg/kg/día de Auranofina, que es aproximadamente 1 mg/ratón/día de Auranofina y 0.30 mg/día de oro contenido
 en Auranofina. Este nivel de dosis de Auranofina estándar parece dar una respuesta equivalente a la que resulta de
 una dosis de 0.06 mg/día de los nanocristales de oro de la presente invención (ejemplo 25). De esta manera, en tal
 experimento, los nanocristales presentes se calcula que son 17 veces más potentes que la Auranofina y 5 veces
 50 más potentes que las especies oro contenidas en Auranofina.

El nivel de dosis aprobado por FDA estándar para Auranofina en humanos es 6 mg/día, o 0.9 mg/kg/día. El oro
 contenido en estos niveles de dosis humana de Auranofina es 1.74 mg o 0.025 mg/kg. Dada la potencia relativa de
 los nanocristales de oro novedosos comparada con la de Auranofina, como se muestra en el modelo animal vivo, un
 nivel de dosis humana aproximado para el nanocristal de oro novedoso puede calcularse dividiendo el nivel de dosis
 55 humana para Auranofina por el factor de potencia relativa de 17X o al dividir el nivel de dosis humana del oro
 contenido en la Auranofina por el factor de potencia relativa de 5X. Esto resulta en un nivel de dosis humana
 aproximado para los nanocristales de oro novedosos de 0.35 mg/día, frente a 6 mg/día requeridos para Auranofina y
 1.74 mg/día requeridos para el oro contenido en Auranofina. 0.35 mg/día, para un ser humano de 70 kg, es una
 dosis de 0.005 mg/kg/día.

Es normal en el desarrollo de niveles de dosificación establecer un intervalo de una orden de magnitud o más que
 rodea una dosis estimada de mg/kg. En este caso, si la dosis base sugerida aproximada es 1/17 que de la dosis de
 base de Auranofina, o 0.348 mg/día, que es 0.005 mg/kg/día, esto sugiere que un intervalo de dosificación efectiva
 para eficacia tipo Auranofina con los nanocristales novedosos puede lograrse en los niveles de dosificación de 0.005
 65 mg/kg/día, y una mayor eficacia en niveles en el intervalo de 0.01 mg/kg/día o 0.25 mg/kg/día.

Es importante reconocer que en productos farmacéuticos el objetivo es establecer la dosis mínima necesaria para lograr eficacia, minimizando así el potencial para toxicidad o complicaciones. Un nuevo producto administrado oralmente con potencia significativamente mayor puede lograr eficacia en niveles de dosis inferiores a aquellas de los productos de la técnica previa, y/o puede lograr mayor eficacia sustancialmente en niveles de dosis equivalente.

Además, se observa en ensayos animales que los niveles de toxicidad de los nanocristales novedosos son bajos, incluso en niveles de dosis máxima, lo que significa que incluso en niveles de dosis superior existe menos toxicidad que con productos actuales tales como Auranofina.

También se ha observado en ratones que un efecto terapéutico se observa más rápido que con Auranofina, que tiene un comienzo típico de acción de semanas, en comparación con los días para los nanocristales presentes (véase ejemplo 25). Esto es una ventaja importante en el uso, ya que significa que pacientes disfrutan de alivio muy pronto y es mucho más probable que continúen cumpliendo con el régimen y así continúan para beneficio del producto.

Además se ha observado que los presentes nanocristales de oro tienen un mejor índice terapéutico que Auranofina debido a la menor dosis requerida para lograr eficacia y la toxicidad inferior asociada.

También es importante reconocer que tienen un valor real como un tratamiento farmacéutico, un producto debe estar fabricado bajo fabricación de alto grado farmacéutico, origen y estándares de control de calidad, como se define por la FDA como práctica de buena manufactura (GMP). Las nanopartículas de oro convencionales son hechas por una variedad de métodos, la mayoría de los cuales involucran procedimientos de reducción química. Parece que ninguna reducción química actual u otros procedimientos convencionales para la producción de nanopartículas de oro que cumplen con GMP, y dada la naturaleza de estos procedimientos, parece que el cumplimiento de GMP, si es posible, será extremadamente difícil y requerirá mucho tiempo, dinero e ingeniería inventiva para lograrse. El procedimiento por el cual se producen nanocristales de oro novedosos está diseñado para el cumplimiento de GMP, estableciendo otro gran diferencia y ventaja de los nanocristales de oro presentes.

Mientras que los ensayos clínicos son necesarios para confirmar la dosis terapéuticamente efectiva, es razonable concluir que las dosis que varían de 0.05 mg o más (o 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg o más) a 10 mg o más por dosificación (una vez, dos veces, o varias veces al día) son efectivas en un humano para tratar cualquiera de las condiciones descritas aquí. Dada la baja toxicidad de estos nanocristales de oro, para trastornos más problemáticos es adecuado utilizar un nivel de dosis más alta, incluyendo pero no limitado a dosificaciones de 10 mgs o más, tal como 20 mg o más por dosificación.

Cualquier concentración de nanocristales de oro se puede proporcionar de acuerdo con la invención. Por ejemplo, las concentraciones de estos nanocristales de oro pueden ser pocas partes por millón (es decir, $\mu\text{g/ml}$ o mg/l) hasta unas cien ppm, pero están usualmente en el intervalo de 2-200 ppm (es decir, $2 \mu\text{g/ml}$ - $200 \mu\text{g/ml}$) y con más frecuencia en el intervalo de 2-50 ppm (es decir, $2 \mu\text{g/ml}$ - $50 \mu\text{g/ml}$). Una concentración conveniente usual puede ser alrededor de 5-20 $\mu\text{g/ml}$ y más usualmente aproximadamente 8-15 $\mu\text{g/ml}$.

Composiciones farmacéuticas se provee que son apropiadas para uso tópico o sistémico, incluyendo oral, intravenoso, subcutáneo, intra-arterial, bucal, inhalación, aerosol, propelente u otro líquido adecuado, etc., como se describe además aquí, incluyendo geles específicos o cremas discutidas en el ejemplo 23.

Alternativamente, dosificaciones adecuada de ingrediente activo puede encontrarse dentro del intervalo de aproximadamente 0.1 ng por kg de peso corporal a aproximadamente 1 g por kg de peso corporal por dosificación. La dosificación es usualmente en el intervalo de $1 \mu\text{g}$ a 1 g por kg de peso corporal por dosificación, tal como está en el intervalo de 1 mg a 1 g por kg de peso corporal por dosificación. En una modalidad, la dosificación está en el intervalo de 1 mg a 500 mg por kg de peso corporal por dosificación. En otra modalidad, la dosificación está en el intervalo de 1 mg a 250 mg por kg de peso corporal por dosificación. En aún otra modalidad preferida, la dosificación está en el intervalo de 1 mg a 100 mg por kg de peso corporal por dosificación, tal como hasta 50 mg por kg de peso corporal por dosificación. En aún otra modalidad, la dosificación está en el intervalo de $1 \mu\text{g}$ a 1 mg por kg de peso corporal por dosificación.

Cantidades de dosificación adecuadas y regímenes de dosificación se pueden determinar por el médico tratante o veterinario y pueden depender del nivel deseado de inhibición y/o modificación de la actividad, la condición particular a ser tratada, la gravedad de la condición, si la dosificación es preventiva o terapéutica, así como la edad general, salud y peso del sujeto.

Los nanocristales de oro contenidos, por ejemplo, en un medio acuoso, coloide, suspensión, espuma, gel, pasta, líquido, crema o lo similar, pueden ser administrados en una dosis única o una serie de dosis. Si bien es posible que para el medio acuoso que contiene los nanocristales en base metálica que se administra solo en, por ejemplo, forma coloidal, puede ser aceptable para incluir la mezcla de ingrediente activo con otras composiciones y/o terapias. Además, varias composiciones farmacéuticas pueden agregarse al o los ingredientes activos/suspensiones/coloides.

En consecuencia, normalmente, las suspensiones de nanocristales de oro o coloides inventivos (por ejemplo, que comprenden metal basado en oro acuoso y/o mezclas de oro con otros metales y/o aleaciones de oro con otros metales y/o un método de terapia de combinación) se administran junto con un segundo agente terapéutico. Más usualmente, el segundo agente terapéutico comprende un glucocorticoide.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende las suspensiones de nanocristales de oro o coloides (por ejemplo, que comprenden metal basado en oro acuoso y/o mezclas de oro y/o aleaciones de oro con otros metales y/o un método de terapia de combinación) junto con un portador farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente. La formulación de dichas composiciones es bien conocida a aquellos de experiencia en la técnica. La composición puede contener aditivos farmacéuticamente aceptables tal como portadores, diluyentes o excipientes. Estos incluyen, en su caso, todos los solventes convencionales, agentes de dispersión, rellenos, generadores sólidos, agentes de recubrimiento, agentes antifúngicos y/o agentes antibacterianos, agentes de penetración cutánea, ibuprofeno, quetoprofeno, agentes tensoactivos, agentes de absorción e isotónicos y lo similar. Se entenderá que las composiciones de la invención también pueden incluir a otros agentes fisiológicamente activos complementarios. Aún además, también se puede utilizar una gran variedad de suplementos dietéticos y portadores homeopáticos. Específicamente, opciones de esos ingredientes pueden basarse en parte en funcionalidad conocida o uso de estos ingredientes tal que cuando se combina con ingredientes activos de la invención, efectos aditivos o sinérgicos pueden lograrse.

El portador debe ser farmacéuticamente aceptable en el sentido de ser compatible con otros ingredientes en las suspensiones de nanocristales de oro inventivas y no dañinos (por ejemplo, tóxicos en cantidades terapéuticamente activas) al sujeto. Composiciones incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, inhalación, nasal, transdérmica, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intraespinal, intravenosa e intradérmica). Las composiciones convenientemente pueden presentarse en forma de dosificación unitaria y pueden ser preparadas por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia, homeopatía y/o suplementos dietéticos. Estos métodos incluyen la etapa de traer en asociación los nanocristales basados en metálicos inventivos o suspensiones con el portador que constituye uno o más ingredientes de accesorios. En general, las composiciones se preparan uniformemente e íntimamente incorporadas en asociación de uno o más ingredientes activos en la solución/coloide bajo condiciones no reactivas apropiadas que minimizan o eliminan, en la medida posible, las reacciones negativas o adversas.

Dependiendo de la enfermedad o condición a ser tratada, puede o no puede ser deseable para las suspensiones de nanocristales de oro inventivas o coloides para cruzar la barrera sangre/cerebro.

Así, las suspensiones de nanocristales de oro o coloides de la invención presente pueden fabricarse para ser de tamaño deseable, paneles de cristal deseables y/o formas deseables o distribuciones de forma, etc. (como se describe en otra parte aquí) para ayudar a cruzar la barrera sangre/cerebro.

Suspensiones de nanocristales de oro de acuerdo con la presente invención adecuadas para administración oral se presentan normalmente como una solución estable, coloide o una suspensión parcialmente estable en agua. Sin embargo, estos nanocristales de oro también pueden incluirse en un líquido no acuoso, como unidades discretas tal como cápsulas líquidas, sobres o incluso tabletas (por ejemplo, suspensiones de secado fuera o coloides para resultar en nanocristales basados en oro de ingrediente activo siempre que dicho procedimiento no afecta negativamente la funcionalidad de las superficies de nanocristales de oro prístino) cada uno que contiene una cantidad predeterminada, de, por ejemplo, el ingrediente activo de nanocristal de oro; como un polvo o gránulos; como una solución, coloide o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite líquida. El ingrediente activo de nanocristal de oro también puede combinarse en un bolo, electuario o pasta.

Una tableta hecha de las suspensiones de nanocristales de oro inventivas o coloides (por ejemplo, que comprenden nanocristales basado en oro acuosos y/o aleaciones de oro con otros metales y/o un método de terapia de combinación) y otros materiales o compuestos pueden hacerse mediante, por ejemplo, primero secar la suspensión o coloide, colectar el material seco residual y por compresión o moldeado, forzando el polvo en una tableta adecuada o similares. Por ejemplo, tabletas comprimidas se pueden preparar mediante compresión en una máquina adecuada de los nanocristales de ingrediente activo, por ejemplo, los nanocristales en base metálica, en una forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con un aglutinante (por ejemplo, diluyente inerte, conservador, desintegrante (por ejemplo, glicolato almidón de sodio, polivinilpirrolidona entrelazado, carboximetilcelulosa sódica entrelazada)) agente de dispersión o activo de superficie. Tabletadas moldeadas también pueden realizarse mediante, por ejemplo, moldear o prensar en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Las tabletas opcionalmente pueden ser recubiertas o marcadas y pueden formularse para proporcionar liberación lenta o controlada del ingrediente activo aquí usando, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en variación de proporciones para proporcionar el perfil de liberación deseado. Tabletadas opcionalmente pueden ser provistas con un recubrimiento entérico, para proveer para liberación en partes del intestino diferente del estómago.

Composiciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden suspensiones o coloides que contienen uno o más ingredientes activos de nanocrystal de oro en una base con sabor, tal como sacarosa y acacia o goma de tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo de nanocrystal de oro en una base inerte tal como una gelatina y una glicerina, o sacarosa y goma de acacia; y enjuagues bucales que comprenden el ingrediente activo de nanocrystal de oro en un portador líquido adecuado.

La suspensiones de nanocrystal de oro inventivas o coloides (por ejemplo, que comprenden metal basado en oro acuoso y/o mezclas de oro y otros metales y/o aleaciones de oro con otros metales y/o un método de terapia de combinación) puede también administrarse intranasalmente o vía inhalación, por ejemplo por medio de atomizador, aerosol o nebulizador para causar que uno o más constituyentes en la solución o coloide (por ejemplo, los nanocrystal de oro) estén, por ejemplo, contenidos dentro de una niebla o rociador.

Composiciones adecuadas para administración tópica a la piel pueden comprender los nanocrystal de oro de la invención suspendidos en cualquier portador adecuado o base y pueden ser en forma de lociones, geles, cremas, pastas, ungüentos y similares. Portadores adecuados incluyan aceite mineral, propilenglicol, polioxietileno, polioxipropileno, cera emulsionante, monoesterato de sorbitan, polisorbato 60, cera de cetil ésteres, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico, carbopol y agua. Dispositivos transdérmicos, tal como parches, también pueden utilizarse para administrar los compuestos de la invención.

Composiciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base de portador adecuada que comprende, por ejemplo, la manteca de cacao, gelatina, glicerina o polietilenglicol.

Composiciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones rociadoras que contienen además del ingrediente activo dichos portadores como son conocidos en la técnica por ser apropiados.

Composiciones adecuadas para administración parenteral incluyen suspensiones de inyección estéril isotónica acuosas y no acuosas o coloides que puedan contener antioxidantes, reguladores de pH, bactericidas y solutos que procesen la composición isotónica con la sangre del recipiente destinado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas, que pueden incluir agentes de suspensión y agentes de espesamiento. Las composiciones pueden presentarse en contenedores sellados de dosis unitaria o dosis múltiple, por ejemplo, ampollas y viales y pueden almacenarse en una condición de secado por congelación (liofilizado) que requiere solamente la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Pueden prepararse soluciones de inyección extemporánea, coloides y suspensiones a partir de polvos estériles, gránulos y tabletas del tipo descrito previamente.

Composiciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o unidad, la sub-dosis diaria, como aquí anteriormente descrita, o su fracción apropiada, del ingrediente activo.

Debe entenderse que además de los ingredientes activos de nanocrystal de oro particularmente se ha mencionado anteriormente, las composiciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de composición en cuestión, por ejemplo, aquellos adecuados para administración oral pueden incluir dichos agentes adicionales como aglutinantes, edulcorantes, espesantes, agentes saborizantes, agentes de desintegración, agentes de recubrimiento, preservativos, lubricantes, agentes de retardo de tiempo y/o agentes de liberación de posición. Edulcorantes adecuados incluyen sucrosa, lactosa, glucosa, aspartame o sacarina. Agentes de desintegración adecuados incluyen almidón de maíz, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, goma xantano, bentonita, ácido algínico o agar. Agentes saborizantes adecuados incluyen aceite de menta, aceite de menta fresca, cereza, naranja o saborizante de frambuesa. Agentes de recubrimiento adecuados incluyen polímeros o copolímeros de ácido acrílico y/o ácido metacrílico y/o sus ésteres, ceras, alcoholes grasos, zeina, laca o gluten. Conservadores adecuados incluyen benzoato de sodio, vitamina E, alfa-tocoferol, ácido ascórbico, metil parabeno, propil parabeno o bisulfito de sodio. Lubricantes adecuados incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico, oleato de sodio, cloruro de sodio o talco. Agentes de retardo de tiempo adecuados incluyen mono estearato de glicerilo o distearato de glicerilo.

Además, al seguir el procedimiento de fabricación electroquímico inventivo de la invención, estos nanocrystal metálicos basados en oro pueden alearse o combinarse con otros metales en líquidos tal que "recubrimientos" de oro pueden ocurrir en otros metales (u otras especies no metálicas tales como SiO₂, por ejemplo) o alternativamente, nanocrystal basados en oro pueden ser recubierto por otros metales. En tales casos, compuestos mixtos basados en oro o aleaciones pueden resultar dentro de un coloide o suspensión. Además, ciertos compuesto mixtos que incluyen oro y otros metales se pueden formar.

Aún además, suspensiones de nanocrystal metálicos basados en oro o coloides de la presente invención pueden ser mezclados o combinados con otras soluciones de base metálica o coloides para formar la solución novedosa o mezclas coloidales (por ejemplo, en este caso, especies metálicas distintas pueden aún ser percibidas).

65

IV. Método de fabricación de nanocristales de oro

- Se proporciona un novedoso procedimiento para producir estos nanocristales de oro únicos. El procedimiento implica la creación de los nanocristales de oro en agua. En una modalidad preferida, el agua contiene un "potenciador del procedimiento" agregado que no enlaza significativamente a los nanocristales formados, sino que más bien facilita nucleación/crecimiento de cristal durante el procedimiento de crecimiento estimulado electroquímicamente. El potenciador de procedimiento sirve importante funciones importantes en el procedimiento, que incluye proporcionar iones cargados en la solución electroquímica para permitir los cristales a cultivarse. Estos procedimientos electroquímicos novedosos pueden ocurrir en un lote, procedimientos continuos o semi-continuos. Estos procedimientos producen concentraciones nanocristalinas de oro controladas, tamaños de nanocristal controlados e intervalos de tamaño de nanocristal controlados; así como formas de nanocristal controlados y distribuciones de forma de nanocristal controladas. Montajes de fabricación novedosos se proporcionan para producir estos nanocristales de oro.
- En una modalidad preferida, las suspensiones de nanocristal a base de oro o coloidales o se hacen o cultivan mediante técnicas electroquímicas, ya sea en un lote, procedimiento semi-continuo o continuo, en donde la cantidad, tamaño promedio de partícula, el plano o planos de cristal y/o formas de partículas y/o distribuciones de forma de partícula son controladas y/u optimizadas para lograr una alta actividad biológica y baja toxicidad celular/biológica (por ejemplo, un mayor índice terapéutico). Deseables tamaños de cristal promedios incluyen una variedad de diferentes intervalos, pero la mayoría de los intervalos deseables incluyen tamaños de cristal promedios que son en su mayoría menos de 100 nm y más usualmente, para muchos usos, menos de 50 nm y más aún por lo general para una variedad de, por ejemplo, usos orales, menos de 30 nm, y en muchas de las modalidades preferidas descritas aquí, el modo para la distribución del tamaño de nanocristales es menor de 21 nm y dentro de aún un intervalo más preferible de 8-18nm, como se mide por el secados de dichas soluciones y la construcción de histogramas de tamaño de partícula de las mediciones de TEM (como se describe con más detalle aquí). Además, las partículas deseablemente contienen los planos de cristal, tal como planos de cristal deseables, incluyendo cristales que tienen {111}, {110} y/o {100} facetas, lo cual puede resultar en formas de cristal deseable y distribuciones de forma de cristal deseables y un mejor rendimiento que partículas en esféricas de oro o de forma aleatoria.
- Además, siguiendo los procedimientos de fabricación electroquímico inventivo de la invención, estos nanocristales metálicos a base de oro se puede alear o combinar con otros metales en líquidos de tal manera que "recubrimientos" de oro pueden ocurrir en otros metales (u otras especies no metálicas tales como SiO₂, por ejemplo) o, alternativamente, nanocristales a base de oro pueden ser recubiertos por otros metales. En tales casos, compuestos mixtos a base de oro o aleaciones pueden resultar dentro de un coloide o suspensión.
- Además, ciertos compuestos mixtos que incluyen oro y otros metales también se pueden formar.
- Aún además, suspensiones de nanocristales a base de oro o coloides de la presente invención pueden ser mezclados o combinados con otras soluciones en base metálica o coloides para formar una solución novedosa o mezclas coloidales (por ejemplo, en este caso, las distintas especies de metal aún se pueden percibir).
- Métodos para elaborar suspensiones de nanocristales en base metálica novedosas o coloides de acuerdo con la invención se refieren en general a nuevos métodos y nuevos dispositivos para la fabricación continua, semi-continua y por lote de una variedad de constituyentes en un líquido que incluye partículas de tamaño micrométrico, nanocristales, especies iónicas y composiciones en base acuosa de la misma, incluyendo, nanocristales/líquido(s), solución(es), coloide(s) o suspensión(es). Los constituyentes y nanocristales producidos pueden comprender una variedad de composiciones posibles, concentraciones, tamaño, paneles de cristal (por ejemplo, planos de cristal de índice bajo extendido espacialmente) y/o formas, que en conjunto pueden causar que las composiciones inventivas exhiban una variedad de nuevas e interesantes propiedades físicas, catalíticas, biocatalíticas y/o biofísicas. Los líquidos utilizados y creados/modificados durante el procedimiento pueden jugar un papel importante en la fabricación de, y/o el funcionamiento de los componentes (por ejemplo, nanocristales) de forma independiente o sinérgica con los líquidos que los contienen. Las partículas (por ejemplo, nanocristales) se causa que estén presentes (por ejemplo, creados y/o el líquido está predispuesto a su presencia (por ejemplo, condicionado)) en al menos un líquido (por ejemplo, agua), por ejemplo, suelen utilizar en por lo menos un plasma ajustable (por ejemplo, creado por al menos una fuente de energía AC y/o DC), cuyo plasma ajustable se comunica con al menos una porción de una superficie del líquido. Sin embargo, constituyentes eficaces (por ejemplo, nanocristales) suspensiones o coloides se puede lograr sin el uso de plasmas también.
- Electrodos a base de metal de varias composiciones y/o configuraciones únicas o arreglos son los preferidos para uso en la formación del plasmas ajustables, pero electrodos basados en no metálicos también puede ser utilizado por al menos una porción del procedimiento. La utilización de al menos una técnica de procesamiento electroquímico ajustable simultáneamente sustancialmente y/o posterior también se prefiere. Electrodos basados en metal de varias composiciones y/o configuraciones únicas son preferidos para uso en las técnicas de procesamiento electroquímico. Los campos eléctricos, campos magnéticos, campos electromagnéticos, la electroquímica, pH, potencial zeta, constituyentes químicos/cristales presentes, etc., son sólo algunas de las variables que pueden ser afectados positivamente por el o los plasmas ajustable y/o técnicas de procesamiento electroquímico ajustable de la invención.

Varios plasmas ajustables y/o técnicas electroquímicas ajustables se prefieren en muchas modalidades de la invención para lograr muchas de las ventajas de procesamiento de la presente invención, así como muchos de los nanocristales novedosos y composiciones de nanocristales que resultan de la práctica de las enseñanzas de las modalidades preferidas para hacer un conjunto casi ilimitado de soluciones acuosas inventivas, suspensiones y/o coloides.

En las modalidades de procedimiento continuo de la invención, al menos un líquido, por ejemplo agua, fluye hacia, a través y fuera de un miembro de concentración mínima de dicho líquido es procesado, acondicionado, modificado y/o efectuado por dicho al menos un plasma ajustable y/o que al menos una técnica electroquímica ajustable. Los resultados del procesamiento continuo incluyen nuevos constituyentes en el líquido, partículas de tamaño micrométrico, componentes iónicos, nanocristales (por ejemplo, nanocristales basados en metálico) del tamaño novedosos y/o controlable, radio hidrodinámico, concentración, tamaños de cristal e intervalos de tamaño de cristal, los planos del cristal de índice bajo extendido espacialmente, formas cristalinas y la distribución de formas de cristales y, composición, potencial zeta, pH y/o propiedades, dicha mezcla nanocristal/líquido que se produce de una manera eficiente y económica.

En una modalidad preferida, el procedimiento involucra la nucleación y crecimiento de los nanocristales de oro en agua que contiene un "potenciador de procedimiento" o "potenciador del procesamiento" (usualmente un material inorgánico), que no se unen de manera significativa a los nanocristales formados, sino que facilita la nucleación/crecimiento durante el procedimiento de crecimiento estimulado electroquímico. El potenciador de procedimiento sirve como una función importante en el procedimiento que incluye proveer iones cargados en la solución electroquímica para permitir que los cristales se cultiven. El potenciador de procedimiento es críticamente un compuesto o compuestos que permanecen en solución, y/o no se forma un recubrimiento (por ejemplo, un recubrimiento orgánico), y/o no afecta negativamente los nanocristales formados o la suspensión o suspensiones formadas, y/o se destruyen, evaporan, o se pierde de otra manera el procedimiento electroquímico. Un potenciador de procedimiento preferido es bicarbonato de sodio. Ejemplos de otros potenciadores de procedimiento son carbonato de sodio, bicarbonato de potasio, carbonato de potasio, fosfato de trisodio, fosfato de disodio, fosfato monosódico, fosfatos de potasio u otras sales del ácido carbónico o lo similar. Potenciadores del procedimiento adicionales puede ser sales, que incluyen sodio o potasio, de bisulfito o sulfito. Sin embargo otros potenciadores de procedimientos para hacer nanocristales de oro para aplicaciones médicas bajo ciertas condiciones puede ser otras sales, que incluyen sodio o potasio, o cualquier material que ayuda en los procedimientos de crecimiento electroquímico aquí descritos; y cualquier otro material que no es sustancialmente incorporado o en la superficie de nanocristales de oro, y no imparte toxicidad a los nanocristales o a la suspensión que contiene los nanocristales.

Intervalos de concentración deseables para el potenciador de procesamiento incluyen usualmente 0.01 - 20 gramos/galón (0.0026- 2.1730 mg/ml), más usualmente, 0.1 - 7.5 gramos/galón (0.0264 - 1.9813 mg/ml) y más usualmente, 0.5 - 2.0 gramos/galón (0.13210 - 0.5283 mg/ml).

Por ejemplo, ciertos potenciadores de procesamiento pueden disociarse en iones positivos (cationes) y en iones negativos (aniones). Los aniones y/o cationes, dependiendo de una variedad de factores incluyendo la composición líquida, concentración de iones, campos aplicados, frecuencia de campos aplicados, forma de onda de los campos aplicados, temperatura, pH, zeta potencial, etc., será navegar o moverse hacia electrodos de carga opuesta. Cuando dichos iones se encuentran en o cerca de dichos electrodos, los iones pueden tomar parte en una o más reacciones con el electrodo(s) y/u otros constituyentes, ubicado en o cerca de dichos electrodos. A veces, los iones pueden reaccionar con uno o más materiales en los electrodos (por ejemplo, cuando NaCl se utiliza como un potenciador de procesamiento, varios cloruros de metales (MCl, MCl₂, etc.) pueden formar). Tales reacciones pueden ser deseables en algunos casos o no deseables en otros. Además, a veces los iones presentes en una solución entre los electrodos no pueden reaccionar para formar un producto, tales como MCl, MCl₂, etc., sino que pueden influir en el material en el electrodo (o cerca del electrodo) para formar nano-cristales metálicos que son "crecidos" a partir de material proporcionado por el electrodo. Por ejemplo, ciertos iones metálicos pueden entrar en el líquido 3 del electrodo 5 y ser causa de venir juntos (por ejemplo, nucleato) para formar constituyentes (por ejemplo, iones, nanocristales, etc.) en el líquido 3.

Además, es importante seleccionar un potenciador de procedimiento que no impartirá toxicidad al nanocristal de oro o el líquido que el cristal está en maximizar la aceptabilidad farmacéutica. Por ejemplo, para ciertas aplicaciones, iones cloruro puede ser no deseados si crea sales de cloruro de oro, que pueden tener toxicidad.

Además, dependiendo de los productos formados específicos, secado, concentración y/o secado por congelación también se pueden utilizar para eliminar al menos una porción de, o sustancialmente todo, el líquido de suspensión, que resulta en, por ejemplo, nanocristales deshidratados completamente sustancialmente o parcialmente. Si soluciones, suspensiones o coloides son completamente deshidratados, las especies a base de metal deben ser capaces de ser rehidratadas mediante la adición de líquido (por ejemplo, de composición similar o diferente de la que se elimina). Sin embargo, no todas las composiciones/coloides de la presente invención pueden ser totalmente deshidratadas sin afectar negativamente el rendimiento de la composición/coloide. Por ejemplo, muchos nanocristales formados en un líquido tienden a agruparse o permanecer juntos (o adherirse a las superficies), cuando se secan. Si dicha agrupación no es reversible durante una etapa de rehidratación posterior, se debe evitar

la deshidratación.

En general, es posible concentrar, varios pliegues, ciertas soluciones, suspensiones o coloides de oro se hacen de acuerdo con la invención, sin desestabilizar la composición. Sin embargo, la evaporación completa es difícil de lograr debido a, por ejemplo, efectos de aglomeración. En muchas modalidades descritas en este documento, estos efectos de aglomeración parecen comenzar en un volumen aproximado de 30% del volumen de referencia inicial o de partida que se remueve de la suspensión o coloide. Adicionalmente, se puede evaporar un determinado volumen de líquido y posteriormente reconstituir o añadir de vuelta la cantidad de líquido evaporado para lograr un producto muy similar, caracterizado por, por ejemplo, técnicas FAAS, DLS, y UV-Vis. Por ejemplo, dos suspensiones de 500 ml de oro coloidal nanocristalino, obtenido mediante técnicas similares a las de fabricación de GB-139 (discutidos con más detalle en la sección de ejemplos en este documento) se colocan en cada vaso de vidrio y se calientan en una placa caliente hasta que hierva. Las suspensiones se evaporan a 300 ml y 200 ml, respectivamente, y luego reconstituido con la cantidad de líquido que se ha retirado (es decir, con agua purificada por ósmosis inversa y desionización ("DI/RO") agua en cantidades de 200 ml y 300 ml respectivamente) y posteriormente caracterizadas. Adicionalmente, en otro ejemplo, dos suspensiones GB-139 se evaporan de nuevo a 300 ml y 200 ml y luego caracterizados sin rehidratación. Se encuentra que estos procedimientos de deshidratación tienen poco o ningún efecto perjudicial en los tamaños de nanocristales o formas de nanocristales (es decir, el intervalo de tamaño de nanocristales y las distribuciones de forma de nanocristales no cambian dramáticamente cuando el coloide GB-139 se deshidrata, o deshidratadas y rehidratadas a su concentración de oro inicial o nivel de ppm).

Un aspecto importante de la invención consiste en la creación de al menos un plasma ajustable, cuyo plasma ajustable se localiza entre al menos un electrodo colocado adyacente a (por ejemplo, anteriormente) al menos una porción de la superficie de un líquido (por ejemplo, agua) y al menos una porción de la superficie del líquido por sí mismo. El líquido se coloca en comunicación eléctrica con al menos un segundo electrodo (o una pluralidad de segundos electrodos) causando que la superficie del líquido funcione como un electrodo, por lo tanto tomando parte en la formación del plasma ajustable. Esta configuración tiene ciertas características similares a una configuración de descarga de barrera dieléctrica, salvo que la superficie del líquido es un participante electrodo activo en esta configuración.

Cada plasma ajustable utilizado puede ser ubicado entre al menos un electrodo situado encima de una superficie del líquido y una superficie del líquido debido a al menos un electrodo conductor eléctricamente que se encuentra en algún lugar dentro (por ejemplo, al menos parcialmente dentro) del líquido. Por lo menos una fuente de energía (en una modalidad preferida, al menos una fuente de voltios y amperios tal como un transformador o fuente de energía) está conectada eléctricamente entre al menos un electrodo localizado por encima de la superficie del líquido y al menos un electrodo en contacto con superficie del líquido (por ejemplo, localizado al menos parcialmente, o totalmente sustancialmente, dentro del líquido). El electrodo o electrodos pueden ser de cualquier composición adecuada y configuración física adecuada (por ejemplo, tamaño y forma) que resulta en la creación de un plasma deseable entre el electrodo o electrodos situados sobre la superficie del líquido y por lo menos una porción de la superficie del líquido por sí mismo.

La energía aplicada (por ejemplo, voltaje y amperaje) entre el electrodo o electrodos (por ejemplo, incluyendo la superficie del líquido que funciona como al menos un electrodo para formar el plasma) puede ser generada por cualquier fuente adecuada (por ejemplo, el voltaje de un transformador), incluyendo tanto las fuentes AC y DC y las variantes y sus combinaciones. En general, el electrodo o combinación de electrodos situados dentro (por ejemplo, al menos parcialmente debajo de la superficie del líquido) participa en la creación de un plasma que proporciona voltaje y corriente al líquido o solución. Sin embargo, el plasma ajustable se encuentra actualmente entre por lo menos una porción del electrodo o electrodos situados sobre la superficie del líquido (por ejemplo, en una punta o su punto) y una o más porciones o áreas de la superficie líquida por sí mismo. En este sentido, el plasma ajustable se puede crear entre los electrodos mencionados anteriormente (es decir, aquellos localizados arriba de al menos una porción de la superficie del líquido y una porción de la superficie líquida por sí mismo) cuando un voltaje de ruptura del gas o vapor alrededor y/o entre el electrodo o electrodos y la superficie del líquido se logra o mantiene.

En una modalidad de la invención, el líquido comprende agua (o agua que contiene determinados potenciadores de procesamiento), y el gas entre la superficie del agua y el electrodo(s) sobre la superficie del agua (es decir, este gas o atmósfera que interviene en la formación del plasma ajustable) se compone de aire. El aire puede ser controlado para contener diversos contenidos de agua o una humedad deseada que puede resultar en diferentes composiciones, concentraciones, distribuciones de tamaño del cristal y/o distribuciones de forma de cristal de constituyentes (por ejemplo, nanocristales) se producen de acuerdo con la presente invención (por ejemplo, cantidades diferentes de ciertos constituyentes en el plasma ajustable y/o en la solución o suspensión puede ser una función del contenido de agua en el aire localizado sobre la superficie del líquido), así como diferentes tiempos de procesamiento requeridos para obtener ciertas concentraciones de varios constituyentes en el líquido, etc. Aspectos específicos del plasma ajustable se discuten en mayor detalle en los ejemplos 5-7.

El campo eléctrico de distribución en presiones y temperaturas estándar para el aire seco es de aproximadamente 3MV/m, o aproximadamente 30kV/cm. Así, cuando el campo eléctrico local alrededor de, por ejemplo, un punto metálico excede aproximadamente 30kV/cm, un plasma puede ser generado en el aire seco. La ecuación (1)

proporciona la relación empírica entre el campo eléctrico de ruptura "E_c" y la distancia "d" (en metros) entre dos electrodos:

$$E_c = 3000 + \frac{1.35}{d} \text{ kV / m} \quad \text{Ecuación 1}$$

5 Por supuesto, el campo eléctrico de distribución "E_c" variará en función de las propiedades y la composición del gas o vapor situado entre los electrodos. En este sentido, en una modalidad preferida, donde agua (o agua que contiene un potenciador de procesamiento) es el líquido, cantidades importantes de vapor de agua puede ser intrínsecamente presentes en el aire entre los "electrodos" (es decir, entre al menos un electrodo localizado encima de la superficie del agua y la superficie del agua por sí misma, que funciona como un electrodo para la formación de plasma) y dicho vapor de agua debe tener un efecto en al menos el campo eléctrico de distribución necesario para crear un plasma entre estos. Además, una mayor concentración de vapor de agua puede ser causada al estar presente a nivel local y alrededor del plasma creado por la interacción del plasma ajustable con la superficie del agua. La cantidad de "humedad" en y alrededor del plasma creado se puede controlar o ajustar por una variedad de técnicas que se discuten en mayor detalle más adelante aquí. Del mismo modo, ciertos componentes presentes en cualquier líquido pueden formar al menos una porción de los constituyentes que forman el plasma ajustable situado entre la superficie del líquido y el electrodo o electrodos localizados adyacentes (por ejemplo, a lo largo) de la superficie del líquido. Los constituyentes en el plasma ajustable, así como las propiedades físicas del plasma por sí mismo, pueden tener una influencia dramática en el líquido, así como en ciertas técnicas de procesamiento (que se examinan en mayor detalle más adelante aquí).

La potencia del campo eléctrico creado en y cerca de los electrodos está usualmente en un máximo en una superficie de un electrodo y por lo general disminuyen con la distancia incrementada entre estos. En los casos que involucran la creación de un plasma ajustable entre una superficie del líquido y al menos un electrodo o electrodos situados junto a (por ejemplo, más arriba) al líquido, una porción del volumen de gas entre el electrodo o electrodos situados encima de una superficie de un líquido y por lo menos una porción de la superficie del líquido por sí misma puede contener un campo eléctrico distribuido suficiente para crear el plasma ajustable. Estos campos eléctricos creados pueden influir, por ejemplo, en el comportamiento del plasma ajustable, el comportamiento del líquido (por ejemplo, la influencia del estado de cristal del líquido) el comportamiento de constituyentes en el líquido, etc.

En este sentido, la figura 1A muestra una modalidad de un electrodo fuente de punto 1 que tiene una forma en sección transversal triangular localizada a una distancia "x" encima de la superficie 2 de un líquido 3 que fluye, por ejemplo, en la dirección "F". Un plasma ajustable 4 se puede generar entre la punta o el punto 9 del electrodo 1 y la superficie 2 del líquido 3, cuando una fuente de energía adecuada 10 está conectada entre el electrodo fuente de punto 1 y el electrodo 5, cuyo electrodo 5 se comunica con el líquido 3 (por ejemplo, es al menos parcialmente debajo de la superficie 2 del líquido 3).

La región de plasma ajustable 4, creada en la modalidad mostrada en la figura 1A puede normalmente tener una forma que corresponde a una estructura tipo cono o una estructura tipo elipsoide, por lo menos una porción del procedimiento, y en algunas modalidades de la invención, se puede mantener la forma (por ejemplo, forma tipo cono) por prácticamente todo el procedimiento. El volumen, intensidad, constituyentes (por ejemplo, composición), actividad, localizaciones precisas, etc., del plasma o plasmas ajustables 4 variarán dependiendo de un número de factores, incluyendo pero no limitados a, la distancia "x", la composición física y/o química del electrodo 1, la forma del electrodo 1, la fuente de energía 10 (por ejemplo, DC, AC, AC rectificado, polaridad aplicada de DC y/o forma de onda de AC rectificado, AC o DC rectificadas, RF, etc.), la potencia aplicada por la fuente de energía (por ejemplo, los voltios aplicados, que es por lo general de 1000 - 5000 voltios, y más típicamente 1000 - 1500 voltios, los amperios aplicados, velocidad de electrones, etc.) la frecuencia y/o magnitud de los campos eléctricos y/o magnéticos creados por la fuente de energía aplicada o ambiente, campos eléctricos, magnéticos o electromagnéticos, campos acústicos, la composición del gas suministrado o de origen natural o atmósfera (por ejemplo, aire, nitrógeno, helio, oxígeno, ozono, reducción de atmósferas, etc.) entre y/o alrededor del electrodo 1 y la superficie 2 del líquido 3, temperatura, presión, volumen, velocidad de flujo del líquido 3 en la dirección "F", características espectrales, composición del líquido 3, conductividad del líquido 3, área de sección transversal (por ejemplo, volumen) del líquido cerca y alrededor de los electrodos 1 y 5, (por ejemplo, la cantidad de tiempo (es decir, tiempo de permanencia), el líquido 3 se permite interactuar con el plasma ajustable 4 y la intensidad de dichas interacciones), la presencia de flujo de atmósfera (por ejemplo, flujo de aire) en o cerca de la superficie 2 del líquido 3 (por ejemplo, ventilador o ventiladores o medios de movimiento atmosférico proporcionados), etc., (se discuten en mayor detalle más adelante en este documento).

La composición del electrodo o electrodos 1 involucrados en la creación del plasma o plasmas ajustables 4 de la figura 1A, en una modalidad preferida de la invención, son composiciones basadas en metal (por ejemplo, metales tal como oro y/o aleaciones o mezclas de los mismos, etc.), pero los electrodos 1 y 5 pueden ser hechos de cualquier material adecuado compatible con los diversos aspectos (por ejemplo, parámetros de procesamiento) de

las invenciones descritas aquí. En este sentido, mientras la creación de un plasma 4 en, por ejemplo, el aire sobre la superficie 2 de un líquido 3 (por ejemplo, agua), por lo general, producirá por lo menos algo de ozono, así como las cantidades de óxido de nitrógeno y otros componentes (discutidas en mayor detalle en otra parte aquí). Estos componentes producidos pueden ser controlados y puede ser útiles o perjudiciales para la formación y/o desempeño de los constituyentes resultantes en el líquido (por ejemplo, nanocristales) y/o suspensiones de nanocristales o coloides producidos y pueden necesitar ser controlados por una variedad de técnicas diferentes, discutidas en mayor detalle más adelante en este documento. Además, el espectro de emisión de cada plasma 4, como se muestra, por ejemplo, en los ejemplos 5-7, es también una función de factores similares (discutidos con mayor detalle más adelante aquí). Como se muestra en la figura 1A, el plasma ajustable 4 actualmente entra en contacto con la superficie 2 del líquido 3. En esta modalidad de la invención, el material (por ejemplo, metal) del electrodo 1 puede comprender una porción del plasma ajustable 4 (por ejemplo, y así ser parte del espectro de emisión del plasma) y puede ser causado, por ejemplo, para ser "pulverizado" sobre y/o en el líquido 3 (por ejemplo, agua). En consecuencia, cuando el metal o metales se utiliza como electrodo(s) 1, una variedad de constituyentes (tal como aquellos mostrados en los ejemplos 5-7) se pueden formar en el plasma eléctrico, lo que resulta en algunos constituyentes que llegan a ser parte del líquido de procesamiento 3 (por ejemplo, agua), incluyendo pero no limitado a, metal o metales elementales, iones metálicos, ácidos de Lewis, ácidos de Bronsted-Lowry, óxidos metálicos, nitruros metálicos, hidruros metálicos, hidratos metálico y/o carburos metálicos, etc., se pueden encontrar en el líquido de 3 (por ejemplo, por lo menos una porción del procedimiento y puede ser capaz de participar en reacciones simultáneas/posteriores), dependiendo del conjunto particular de condiciones de operación asociadas con el plasma ajustable 4 y/u operaciones de procesamiento electroquímico posteriores. Dichos constituyentes pueden ser transitoriamente presentes en el líquido de procesamiento 3 o pueden ser semi-permanentes o permanentes. Si estos constituyentes son transitorios o semi-permanente, entonces el momento de las reacciones posteriores (por ejemplo, las reacciones electroquímicas) con tales constituyentes formados pueden influir en los productos finales producidos. Si estos constituyentes son permanentes, no debe afectar negativamente el rendimiento deseado de los nanocristales de ingrediente activo.

Además, dependiendo de, por ejemplo, potencia de campo eléctrico, magnético y/o electromagnético dentro y alrededor del líquido 3 y el volumen de líquido 3 expuestos a dichos campos (discutidos con más detalla más adelante aquí), la construcción física y química de los electrodos 1 y 5, la atmosfera (de origen natural o suministrada), composición líquida, mayor o menor cantidad de materiales de electrodo (por ejemplo, metales o derivados de metales) se pueden encontrar en el líquido 3. En ciertas situaciones, el o los materiales (por ejemplo, metales o compuestos mixtos de metales) o constituyentes (por ejemplo, ácidos de Lewis, ácidos de Bronsted-Lowry, etc.) que se encuentran en el líquido 3 (permanente o de forma transitoria), o en el plasma 4, puede tener efectos muy deseables, en cuyo caso cantidades relativamente grandes de estos materiales serán deseables, mientras que en otros casos, ciertos materiales encontrados en el líquido 3 (por ejemplo, sub-productos) pueden tener indeseables efectos, y por lo tanto cantidades mínimas de materiales pueden ser deseadas en el producto final a base de líquido. En consecuencia, la composición del electrodo puede jugar un papel importante en los materiales que se forman de acuerdo con las modalidades descritas aquí. La interacción entre estos componentes de la invención se discute en mayor detalle más adelante aquí.

Aún además, el electrodo o electrodos 1 y 5 pueden ser de composición química similar (por ejemplo, tienen el mismo elemento químico como su constituyente principal) y/o configuración mecánica o composiciones totalmente diferentes (por ejemplo, tienen diferentes elementos químicos, como su constituyente principal) a fin de lograr diferentes composiciones y/o estructuras de líquidos y/o efectos específicos discutidos más adelante aquí.

La distancia "y" entre el o los electrodos 1 y 5, o 1 y 1 (mostrados más adelante aquí) o 5 y 5 (mostrados más adelante aquí) es un aspecto importante de la invención. En general, cuando se trabaja con fuentes de energía capaz de generar un plasma bajo la condición de operación, la ubicación de la menor distancia "y" entre las porciones más cercanas del o los electrodos utilizados en la presente invención debe ser mayor que la distancia "x" con el fin de prevenir un arco no deseado o la formación de una corona no deseada o plasma que ocurre entre el electrodo (por ejemplo, el o los electrodos 1 y los electrodos 5) (a menos que algún tipo de aislamiento eléctrico se proporciona entre los mismos). Características de la invención en relación con el diseño de electrodo, la localización del electrodo y las interacciones de electrodo entre una variedad de electrodos se discuten en mayor detalle más adelante aquí.

La energía aplicada a través de la fuente de energía 10 puede ser cualquier energía adecuada que crea un plasma ajustable deseable 4 bajo todas las condiciones del procedimiento de la presente invención. En una modalidad preferida de la invención, una corriente alterna de un transformador de salto se utiliza. Transformadores preferidos 60 (véase por ejemplo, figuras 16D-16L) para su uso en varias modalidades descritas aquí, tienen una regulación de voltaje de salida deliberadamente débil hecha posible por el uso de derivaciones magnéticas en el transformador 60. Estos transformadores 60 se conocen como transformadores de señal de neón. Esta configuración limita el flujo de corriente en los electrodos 1/5. Con un gran cambio en el voltaje de carga de salida, el transformador 60 mantiene la corriente de carga de salida dentro de un intervalo relativamente estrecho.

El transformador 60 está clasificado por su voltaje de circuito abierto secundario y corriente de corto circuito secundario. Voltaje de circuito abierto (OCV) aparece en las terminales de salida del transformador 60 sólo cuando

conexión eléctrica no está presente. Del mismo modo, la corriente de cortocircuito es sólo procedente de las terminales de salida si un corto se coloca a través de aquellas terminales (en cuyo caso el voltaje de salida es igual a cero). Sin embargo, cuando se conecta una carga a través de estas mismas terminales, el voltaje de salida del transformador 60 debe caer en algún lugar entre cero y la OCV nominal. De hecho, si el transformador 60 se ha cargado correctamente, este voltaje será de aproximadamente la mitad de la OCV nominal.

El transformador 60 se conoce como un diseño referenciado de punto medio balanceado (por ejemplo, también conocido formalmente como tierra de punto medio balanceado). Esto es más comúnmente encontrado en transformadores clasificados en medio a alto voltaje y más transformadores de 60 mA. Este es solo el tipo de transformador aceptable en un sistema "cableado de retorno de punto medio". El transformador "balanceado" 60 tiene una bobina primaria 601 con dos bobinas secundarias 603, uno en cada lado de la bobina primaria 601 (como se muestra en general, en la vista esquemática en la figura 16G). Este transformador 60 se puede realizar de muchas maneras, como dos transformadores. Así como el punto medio no balanceado referencia núcleo y bobina, un extremo de cada bobina secundaria 603 se conecta al núcleo 602 y posteriormente a la caja del transformador y el otro extremo de la bobina secundaria 603 está conectado a un cable de salida o terminal. Por lo tanto, sin presencia del conector, un transformador de 15,000 voltios no cargado de este tipo, medirá aproximadamente 7,500 voltios de cada terminal secundaria a la caja del transformador, pero medirá aproximadamente 15,000 voltios entre las dos terminales de salida. Estos transformadores 60 ejemplares se utilizan para formar plasmas 4 descritos en los ejemplos aquí. Sin embargo, otros transformadores adecuados (o fuentes de energía) también debe entenderse como que entran en las medidas y límites de la invención. Además, estos transformadores 60 son utilizados exclusivamente en los ejemplos 1-4 aquí. Sin embargo, diferentes transformadores AC 50 y 50a (discutidos en algún lado aquí) se utilizan para los electrodos 5/5' en la mayoría de los otros ejemplos descritos aquí.

En otra modalidad preferida, una fuente AC rectificadora crea un electrodo cargado positivamente 1 y una superficie cargada negativamente 2 del líquido 3. En otra modalidad preferida, una fuente AC rectificadora crea un electrodo cargado negativamente 1 y una superficie cargada positivamente 2 del líquido 3. Además, otras fuentes de energía tal como fuentes de energía RF y/o fuentes de energía de microondas también se pueden utilizar con la presente invención. En general, la combinación de electrodo(s) de los componentes 1 y 5, tamaño físico y forma del electrodo(s) 1 y 5, el procedimiento de fabricación de electrodos, masa de electrodos 1 y/o 5, la distancia "x" entre la punta 9 de electrodo 1 sobre la superficie 2 del líquido 3, la composición del gas entre la punta del electrodo 9 y la superficie 2, la velocidad de flujo (si hay) y/o dirección del flujo "F" del líquido 3, la cantidad de líquido 3 proporcionada, el tipo de fuente de energía 10, frecuencia y/o forma de onda de salida de energía de la fuente de energía 10, contribuyen al diseño, y por lo tanto los requerimientos de energía (por ejemplo, distribución de campo eléctrico) necesario para obtener un plasma 4 controlado o ajustable entre la superficie 2 del líquido 3 y la punta del electrodo 9.

En una referencia adicional a las configuraciones mostradas en la figura 1A, portadores de electrodos 6a y 6b son capaces de ser bajados y elevados por cualquier medio adecuado (y de esta manera los electrodos son capaces de ser bajados y elevados). Por ejemplo, los portadores de electrodos 6a y 6b son capaces de ser bajados y elevados en y a través de un miembro aislante 8 (mostrado en la sección transversal). La modalidad mecánica mostrada aquí incluye roscas de tornillos macho/hembra. Las porciones 6a y 6b pueden ser cubiertas por, por ejemplo, porciones de aislamiento eléctrico adicional 7a y 7b. Las porciones de aislamiento eléctrico 7a y 7b pueden ser de cualquier material adecuado (por ejemplo, plástico, policarbonato, poli(metilmacrilato), poliestireno, acrílicos, policloruro de vinilo (PVC), nylon, caucho, materiales fibrosos, etc.) que previenen las corrientes no deseadas, voltaje, arco, etc., que pueden ocurrir cuando unas interfaces individuales con portadores de electrodos 6a y 6b (por ejemplo, intentos de ajustar la altura de los electrodos). Del mismo modo, el miembro de aislamiento 8 puede ser hecho de cualquier material adecuado que evita que eventos eléctricos indeseables (por ejemplo, arco, fusión, etc.) se produzcan, así como cualquier material que es estructuralmente y ambientalmente adecuado para la práctica de la presente invención. Los materiales típicos incluyen plásticos estructurales, tales como policarbonatos, plexiglás (poli(metil metacrilato)), poliestireno, acrílicos y lo similar. Materiales adecuados adicionales para su uso con la presente invención se discuten en mayor detalle aquí.

La figura 1C muestra otra modalidad para elevar y bajar los electrodos 1, 5. En esta modalidad, porciones de aislamiento eléctrico 7A y 7B de cada electrodo se mantienen en su lugar por un ajuste de presión existente entre el mecanismo de fricción 13a, 13b y 13c, y las porciones 7a y 7b. El mecanismo de fricción 13a, 13b y 13c, se puede hacer de, por ejemplo, acero para muelles, caucho flexible, etc., siempre y cuando el suficiente contacto o fricción se mantenga entre ambos.

Técnicas preferidas para elevar y/o bajar de forma automática los electrodos 1, 5 se discuten más adelante aquí. La fuente de energía 10 puede ser conectada en cualquier forma eléctrica conveniente a los electrodos 1 y 5. Por ejemplo, los cables 11a y 11b puede estar situados dentro de al menos una porción de los portadores de electrodos 6b (y/o porciones de aislamiento eléctrico 7a, 7b) con un objetivo primario que se logra de conexiones eléctricas entre las porciones 11a, 11b y por lo tanto los electrodos 1, 5.

La Figura 2A muestra otro esquema de una modalidad preferida de la invención, en donde un dispositivo de control inventivo 20 está conectado a los electrodos, 1 y 5, de manera que el dispositivo de control 20 de forma remota (por

ejemplo, mediante un comando de otro dispositivo o componente) eleva y/o baja los electrodos 1, 5 en relación con la superficie 2 del líquido 3. El dispositivo de control inventivo 20 se analiza con más detalle más adelante aquí. En un aspecto preferido de la invención, los electrodos 1 y 5 pueden ser, por ejemplo, remotamente bajados y controlados, y también pueden ser monitoreados y controlados por un controlador adecuado o computadora (no mostrado en la figura 2A), que contienen un programa de software adecuado (discutido en detalle más adelante aquí). En este sentido, la figura 2B muestra una configuración de electrodos similar a la mostrada en la figura 2A, excepto que un cono de Taylor "T" se utiliza para la conexión eléctrica entre el electrodo 5 y la superficie 2 (o superficie efectiva 2') del líquido 3. En consecuencia, las modalidades mostradas en las figuras 1A, 1B y 1C deben ser consideradas como que son un aparato controlado manualmente para el uso con las técnicas de la presente invención, mientras que las modalidades mostradas en las figuras 2A y 2B se debe considerar que incluyen un aparato automático o montaje 20, que de forma remota puede elevar y bajar los electrodos 1 y 5 en respuesta a los comandos apropiados. Además, las modalidades preferidas de la figura 2A y figura 2B de la invención también puede utilizar el monitoreo por computadora de la distancia "x" de las puntas 9 de los electrodos 1 (y puntas 9' de los electrodos 5) lejos de la superficie 2, o monitoreo por computadora y/o control de la velocidad en la cual el electrodo 5 se hace avanzar en/a través del líquido 3 (discutido con más detalle aquí). Por lo tanto, los comandos apropiados para elevar y/o bajar los electrodos 1 y 5 pueden provenir de un operador individual y/o un dispositivo de control adecuado tal como un controlador o una computadora (no mostrada en la figura 2A).

La figura 3A corresponde en gran parte a las figuras 2A y 2B, sin embargo, las figuras 3B, 3C y 3D muestran diferentes configuraciones de electrodos alternativas que pueden ser utilizadas en conexión con ciertas modalidades preferidas de la invención. Figura 3B muestra esencialmente un montaje de electrodo de imagen en el espejo del montaje de electrodo mostrado en la figura 3A. En particular, como se muestra en la figura 3B, con respecto a la dirección "F" correspondiente a la dirección de flujo del líquido 3, el electrodo 5 es el primer electrodo que se comunica con el fluido 3 cuando fluye en la dirección longitudinal "F" y hace contacto con el plasma 4 creado en el electrodo 1 siguiente. La figura 3C muestra dos electrodos 5a y 5b situados en el fluido 3. Esta configuración de electrodo particular corresponde a otra forma modalidad preferida de la invención. En particular, como se discute en mayor detalle aquí, la configuración del electrodo mostrada en la figura 3C se puede utilizar solo, o en combinación con, por ejemplo, las configuraciones de electrodo mostradas en las figuras 3A y 3B. Del mismo modo, una cuarta configuración de electrodos posible se muestra en la figura 3D. En esta figura 3D, no se muestra el electrodo(s) 5, pero solo los electrodos 1a y 1b se muestran. En este caso, dos plasmas ajustables 4a y 4b se presentan entre las puntas de electrodos 9a y 9b y la superficie 2 del líquido 3. Las distancias "xa" y "xb" pueden ser aproximadamente la misma o puede ser sustancialmente diferente, siempre y cuando cada distancia "xa" y "xb" no exceda la distancia máxima para cuyo plasma 4 se puede formar entre las puntas de electrodos 9a/9b y la superficie 2 del líquido 3. Como se discute anteriormente, la configuración de electrodo mostrada en la figura 3D se puede utilizar solo o en combinación con una o más de las configuraciones de electrodo mostradas en las figuras 3A, 3B y 3C. La conveniencia de utilizar las configuraciones de electrodos particulares en combinación unas con otras con respecto a la dirección de flujo de fluido "F" se discute en mayor detalle más adelante aquí.

Del mismo modo, un conjunto de configuraciones de electrodo manualmente controlables, que corresponde en general a la figura 1A, se muestran en las figuras 4A, 4B, 4C y 4D, todos los cuales se muestran en una vista en sección transversal parcial. Específicamente, figura 4A corresponde a la figura 1A. Además, la figura 4B corresponde en la configuración de electrodo a la configuración de electrodo mostrada en la figura 3B, figura 4C corresponde a la figura 3C y figura 4D corresponde a la figura 3D. En esencia, las configuraciones de electrodo manual mostradas en las figuras 4A-4D pueden resultar funcionalmente en materiales similares producidos de acuerdo con ciertos aspectos de la invención de la invención como aquellos materiales producidos correspondiente configuraciones de electrodo ajustables remotamente (por ejemplo, controlados a distancia por computadora o medios controladores) mostrados en las figuras 3A-3D. La conveniencia de utilizar varias combinaciones de configuración de electrodos se discute en mayor detalle más adelante aquí.

Las figuras 5A-5E muestran vistas en perspectiva de diferentes configuraciones de electrodos deseables para el electrodo 1 mostrado en las figuras 1A-4D (así como en otras figuras y modalidades discutidas más adelante aquí). Las configuraciones de electrodo mostradas en las figuras 5A-5E son representativas de un número de configuraciones diferentes que son útiles en diversas modalidades de la presente invención. Criterios para la selección del electrodo apropiado para el electrodo 1 incluyen, pero no se limitan a las siguientes condiciones: la necesidad para una punta muy bien definida o punto 9, composición, limitaciones mecánicas, la capacidad de crear formas del material que comprende el electrodo 1, acondicionamiento (por ejemplo, tratamiento térmico o recocido) del material que compone el electrodo 1, conveniencia, los constituyentes introducidos en el plasma 4, la influencia en el líquido 3, etc. En este sentido, una pequeña masa de material que comprende los electrodos 1 mostrada en, por ejemplo, las figuras 1A-4D pueden, en la creación de los plasmas ajustables 4 de acuerdo con la presente invención (discutido en mayor detalle más adelante aquí), el aumento de las temperaturas de operación, donde el tamaño y/o forma o del electrodo o electrodos 1 pueden verse afectados negativamente. En este sentido, por ejemplo, si el electrodo 1 es de masa relativamente pequeña (por ejemplo, si el electrodo o electrodos 1 se hacen de oro y pesan aproximadamente 0.5 gramos o menos) e incluyen una punta muy fina como la punta 9, entonces es posible que en ciertos conjuntos de condiciones utilizadas en las varias modalidades aquí que una punta fina (por ejemplo, un alambre delgado que tiene un diámetro de sólo unos pocos milímetros y se expone a unos pocos cientos a unos miles de voltios, o una pieza de forma triangular de metal) puede ser incapaz de funcionar como el

electrodo 1 (por ejemplo, el electrodo 1 puede deformar indeseablemente o fundir), en ausencia de algún tipo de interacciones adicionales (por ejemplo, medios internos de enfriamiento o medios externos de enfriamiento tal como un ventilador, etc.) En consecuencia, la composición de (por ejemplo, el material que comprende) el electrodo o electrodos 1 puede afectar la forma física de electrodo adecuados posibles, debido a por ejemplo, puntos de fusión, sensibilidad de presión, reacciones del medio ambiente (por ejemplo, el ambiente local del plasma ajustable 4 podría causar químicos indeseables, mecánicos y/o erosión electroquímica del electrodo(s)), etc.

Además, se debe entender que en modalidades preferidas alternativas de la invención, puntos afilados bien definidos no siempre son necesarios para la punta 9. En este sentido, el electrodo 1 mostrado en la figura 5E comprende una punta redondeada 9. Cabe señalar que electrodos en forma de arco o redondeados parcialmente también pueden funcionar como el electrodo 1 debido a que el plasma ajustable 4, que se crea en las modalidades inventivas mostradas aquí (véase, por ejemplo, figuras 1A-4D), se pueden crear a partir de electrodos redondeados o electrodos con las características más agudas o más señaladas. Durante la práctica de las técnicas inventivas de la presente invención, tal como plasmas ajustables puede colocarse o puede estar ubicados en varios puntos del electrodo 1 mostrado en la figura 5E. En este sentido, la figura 6 muestra una variedad de puntos "a-g", que corresponden a los puntos de inicio 9 para los plasmas 4a-4g que se producen entre el electrodo 1 y la superficie 2 del líquido 3. En consecuencia, debe entenderse que una variedad de tamaños y formas que corresponden a un electrodo 1 puede ser utilizada de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención. Aún más, hay que señalar que las puntas 9, 9' de los electrodos 1 y 5, respectivamente, mostradas en varias figuras aquí, pueden ser mostradas como un punto relativamente agudo o un extremo relativamente cerrado. A menos que aspectos específicos de estas puntas de electrodos 9, 9' se discutan en mayor detalle contextual, la forma actual de puntas de electrodo 9, 9' se muestra en las figuras no se debe dar gran importancia.

Figura 7A muestra una vista en perspectiva en sección transversal de la configuración de electrodo correspondiente a la que se muestra en la figura 2A (y figura 3A) contenida dentro de un miembro de conducto 30. Este miembro de conducto 30 tiene un líquido 3 suministrado en él desde la parte trasera identificada como 31 de la figura 7A y la dirección del flujo "F" está fuera de la página hacia el lector y hacia el área de sección transversal identificada como 32. El miembro de conducto 30 se muestra aquí como una pieza unitaria de un material, pero se podría ser hecho de una pluralidad de materiales ajustados juntos y, por ejemplo, fijado (por ejemplo, pegado, fijado mecánicamente, etc.) por cualquier medio aceptable para la unión de materiales el uno con el otro. Además, el miembro de conducto 30 mostrado aquí es de forma rectangular o de sección transversal cuadrada, pero puede comprender una variedad de diferentes y más deseables formas en sección transversal (discutidas en mayor detalle más adelante aquí). En consecuencia, la dirección de flujo del fluido 3 está fuera de la página hacia el lector y el líquido que fluye pasa cada uno de los electrodos 1 y 5, que son, en esta modalidad, localizados sustancialmente en línea con cada otro en relación con la dirección de flujo longitudinal "F" del fluido 3 dentro del miembro de conducto 30. Esto causa que el líquido 3 experimente primero una interacción con el plasma ajustable con el plasma ajustable 4 (por ejemplo, una reacción de condicionamiento) y posteriormente, entonces al fluido condicionado 3 se le permite interactuar con el electrodo o electrodos 5. Aspectos específicos deseables de estas interacciones electrodo/líquido y colocaciones de electrodo o ubicaciones de electrodo dentro del miembro de conducto 30 se discuten en mayor detalle aquí.

La figura 7B muestra una vista en perspectiva en sección transversal de la configuración del electrodo mostrado en la figura 2A (así como en la figura 3A), sin embargo, estos electrodos 1 y 5 se giran en la página 90 grados en relación con los electrodos 1 y 5 mostrados en las figuras 2A y 3A. En esta modalidad de la invención, el líquido 3 hace contacto con el plasma ajustable 3 generado entre el electrodo 1 y la superficie 2 del líquido 3, y el electrodo 5 en forma sustancial el mismo punto a lo largo de la dirección del flujo longitudinal "F" (es decir, fuera de la página) del miembro de conducto 30. La dirección del líquido 3 que fluye es longitudinalmente a lo largo del miembro de conducto 30 y está fuera del papel hacia el lector, como en la figura 7A. Diversos aspectos deseables de esta configuración de electrodos se discuten en mayor detalle más adelante aquí.

La figura 8A muestra una vista en perspectiva en sección transversal de la misma modalidad mostrada en la figura 7A. En esta modalidad, como en la figura 7A, el fluido 3 primero interactúa con el plasma ajustable 4 creado entre el electrodo 1 y la superficie 2 del líquido 3. Por lo tanto el plasma influye o condiciona el fluido 3, que ha sido cambiado (por ejemplo, condicionado, modificado o preparado) por el plasma ajustable 4, por lo tanto se comunica con el o los electrodos 5 lo que permite diferentes reacciones electroquímicas que se producen, estas reacciones están influenciadas por el estado (por ejemplo, composición química, pH, estructura física o cristal, estado(s) excitado(s), etc., de fluido 3 (y constituyentes, semi-permanente o permanente, dentro del fluido 3)) discuten en mayor detalle aquí. Una modalidad alternativa se muestra en la figura 8B. Esta modalidad corresponde esencialmente en la disposición general de aquellas modalidades que se muestran en las figuras 3B y 4B. En esta modalidad, el fluido 3 en primer lugar se comunica con el electrodo 5, y posteriormente el líquido 3 se comunica con el plasma ajustable 4 creado entre el electrodo 1 y la superficie 2 del líquido 3. En esta modalidad, el fluido 3 puede haber sido modificado antes de interactuar con el electrodo 5.

Figura 8C muestra una vista en perspectiva en sección transversal de dos electrodos 5a y 5b (que corresponde a las modalidades mostradas en las figuras 3C y 4C) en donde la dirección del flujo longitudinal "F" del fluido 3 hace contacto con el primer electrodo 5a y por lo tanto hace contacto con el segundo electrodo 5B en la dirección "F" del flujo de fluidos.

Del mismo modo, la figura 8D es una vista en perspectiva en sección transversal y corresponde a las modalidades mostradas en las figuras 3D y 4D. En esta modalidad, el fluido 3 se comunica con un primer plasma ajustable 4a creado por un primer electrodo 1a y posteriormente, se comunica con un segundo plasma ajustable 4b creado entre un segundo electrodo 1b y la superficie 2 del fluido 3.

Figura 9A muestra una vista en perspectiva en sección transversal, y corresponde con la configuración del electrodo mostrada en la figura 7B (y en general a la configuración de electrodo mostrada en las figuras 3A y 4A, pero se gira 90 grados en relación a esto). Todas las configuraciones de electrodo mostradas en las figuras 9A-9D están situadas de tal manera que los pares de electrodos mostrados se localizan sustancialmente en el mismo punto longitudinal a lo largo del miembro de conducto 30A, como en la figura 7B.

Del mismo modo, figura 9B corresponde en general a la configuración de electrodos mostrada en las figuras 3B y 4B, y se gira 90 grados en relación con la configuración mostrada en la figura 8B.

Figura 9C muestra una configuración de electrodos que corresponde generalmente a las figuras 3C y 4C, y se gira 90 grados en relación con la configuración de electrodo mostrada en la figura 8C.

Figura 9D muestra una configuración de electrodos que corresponde generalmente a las figuras 3D y 4D y se gira 90 grados en relación con la configuración del electrodo mostrada en la figura 8D.

Las configuraciones de electrodos mostradas generalmente en las figuras 7A-7B, 8A-8D y 9A-9D, todas pueden crear resultados diferentes (por ejemplo, efectos condicionantes diferentes para el fluido 3, diferentes valores de pH en el fluido 3, tamaños de nanocristales diferentes y distribución de tamaño, diferentes formas de nanocristales y distribuciones de forma de nanocristales, y/o cantidades de los constituyentes (por ejemplo, materia de nanocristal) se encuentran en el fluido 3, diferente funcionamiento de las combinaciones de fluido/nanocristal (por ejemplo, diferentes efectos biológicos/biocatalíticos), diferentes potenciales zeta, etc.) como una función de una variedad de características que incluyen la orientación de electrodo y la posición en relación a la dirección de flujo de fluido "F", forma en sección transversal y tamaño del miembro de conducto 30, y/o cantidad del líquido 3 dentro del miembro de conducto 30 y/o velocidad de flujo del líquido 3 dentro del miembro de conducto 30 y en/alrededor de los electrodos 5a/5b, el grosor de los electrodos, el número de pares de electrodos proporcionados y su posicionamiento en el miembro de conducto 30 con respecto uno con otro así como su profundidad en el líquido 3 (es decir, la cantidad de contacto con el líquido 3), la velocidad de movimiento de los electrodos en/a través del líquido 3 (que mantiene o ajusta el perfil de superficie o forma, si los electrodos), la potencia aplicada a los pares de electrodo, etc. Además, las composiciones de electrodo, tamaño, forma o formas específicas, número de diferentes tipos de electrodos proporcionados, voltaje aplicado, amperaje aplicado y/o logrado dentro del líquido 3, fuente AC (y frecuencia de fuente AC y la forma de onda AC, ciclo de trabajo, etc.), fuente DC, fuente RF (y frecuencia de fuente RF, el ciclo de trabajo, etc.), la polaridad de electrodo, etc., pueden influir en las propiedades del líquido 3 (y/o los nanocristales formados o contenidos en el líquido 3) conforme el líquido 3 hace contacto, interactúa con y/o fluye más allá de estos electrodos 1, 5 y por lo tanto las propiedades resultantes de los materiales (por ejemplo, los nanocristales producidos y/o la suspensión o coloide) produce los mismos. Adicionalmente, el miembro de conducto que contiene líquido 30, en algunas modalidades preferidas, contiene una pluralidad de las combinaciones de electrodos mostradas en las figuras 7A-7B, 8A-8D y 9A-9D. Estos montajes de electrodos pueden ser toda misma configuración o pueden ser una combinación de varias configuraciones de electrodos diferentes (discutidas con mayor detalle más adelante aquí). Además, las configuraciones de electrodos de forma secuencial se pueden comunicar con el fluido "F" o pueden al mismo tiempo, o en paralelo comunicarse con el fluido "F". Configuraciones de electrodos preferidos y ejemplares diferentes se muestran en las figuras adicionales más adelante aquí y se discuten en mayor detalle más adelante aquí en conjunción con diferentes constituyentes formados (por ejemplo, nanocristales y soluciones o suspensiones de nanocristales o coloides producidos de estos).

Figura 10A muestra una vista en sección transversal del miembro de conducto que contiene líquido 30 mostrado en las figuras 7A-7B, 8A-8D y 9A-9D. Este miembro de conducto 30 tiene una sección transversal que corresponde a la de un rectángulo o un cuadrado y los electrodos (no mostrados en la figura 10A) pueden ser posicionado adecuadamente en el mismo.

Del mismo modo, varias modalidades de sección transversal alternativa adicional para el miembro de conducto que contiene líquido 30 se muestran en las figuras 10B, 10C, 10D y 10E. La distancia "S" y "S" para la modalidad preferida mostrada en cada una de las figuras 10A-10E medidas, por ejemplo, entre aproximadamente 0.25" y aproximadamente 6" (aproximadamente 0.6 cm - 15 cm). La distancia "M" varía desde aproximadamente 0.25" a aproximadamente 6" (aproximadamente 0.6 cm - 15 cm). La distancia "R" varía entre 1/2" a aproximadamente 7" (aproximadamente 1.2 cm de aproximadamente 17.8 cm). Todas estas modalidades (así como las configuraciones adicionales que representan modalidades alternativas están dentro de medidas y límites de esta descripción inventiva) pueden ser utilizadas en combinación con los otros aspectos inventivos de la invención. Cabe señalar que la cantidad de líquido 3 contenido dentro de cada uno de los miembros de conducto que contienen líquido 30 es una función no sólo de la profundidad "d", sino también una función de la sección transversal actual. Brevemente, la cantidad de líquido 3 presente en y alrededor del electrodo(s) 1 y 5 puede influir en uno o más efectos del plasma ajustable 4 en el líquido 3, así como la interacción o interacciones electroquímicas del electrodo de 5 con el líquido 3.

Además, la velocidad de flujo del líquido 3 en y alrededor del electrodo(s) 1 y 5 también puede influir en muchas de las propiedades de los nanocristales formados en los coloides o suspensiones resultantes. Estos efectos incluyen no sólo efectos condicionantes de plasma ajustable 4 (por ejemplo, interacciones de los campos eléctricos y magnéticos de plasma, interacciones de la radiación electromagnética del plasma, creación de diversas especies químicas (por ejemplo, ácidos de Lewis, ácidos de Bronsted-Lowry) en el líquido, cambios de pH, variaciones de temperatura del líquido (por ejemplo, flujo de líquido lento puede resultar en mayores temperaturas del líquido y/o el contacto mayor o tiempo de permanencia con o alrededor de los electrodos 1/5 que también puede influir deseablemente en productos finales producidos, tales como el tamaño/forma de los nanocristales formados, etc.) en el líquido 3, sino también en la concentración o interacción del plasma ajustable 4 con el líquido 3. Del mismo modo, la influencia de muchos aspectos del electrodo 5 en el líquido 3 (por ejemplo, interacciones electroquímicas, temperatura, etc.) también es, al menos parcialmente, una función de la cantidad de líquido yuxtapuesto con el o los electrodos 5. Todos estos factores pueden influir en el equilibrio que existe entre la nucleación y crecimiento de los nanocristales que crecen en el líquido 3, resultando en, por ejemplo, tamaño de partícula y control de intervalo de tamaño y/o forma de partícula y el control de intervalo de forma.

Además, concentraciones de campo eléctrico y magnético fuertes también efectuarán la interacción del plasma 4 con el líquido 3 así como el efecto de la interacción del electrodo 5 con el líquido 3. Algunos aspectos importantes de estas interacciones importantes se discuten en mayor detalle más adelante aquí. Además, un miembro de conducto 30 puede comprender más de una forma en sección transversal a lo largo de toda su longitud longitudinal. La incorporación de múltiples formas en sección transversal a lo largo de la longitud longitudinal de un miembro de conducto 30 pueden resultar en, por ejemplo, variar el campo o concentración o efectos de reacción (por ejemplo, crecimiento de cristal/efectos de nucleación) que se producen por las modalidades inventivas descritas aquí (discutidas con mayor detalle más adelante aquí). Además, un miembro de conducto 30 no puede ser lineal o "en forma de I", sino que puede ser "en forma de Y" o "en forma de Ψ ", con cada porción de "Y" (o " Ψ ") con una diferente (o similar) forma en sección transversal y/o un conjunto de dimensiones y/o un conjunto de condiciones de reacción que se producen aquí.

Además, la temperatura inicial del líquido 3 que entra en el miembro de conducto 30 también puede afectar una gran variedad de propiedades de productos producidos de acuerdo con la descripción aquí. Por ejemplo, diferentes temperaturas del líquido 3 pueden afectar los tamaños de nanocristales y formas de nanocristales, concentración o cantidades de varios constituyentes formados (por ejemplo, constituyentes transitorios, semipermanentes o permanentes), pH, potencial zeta, etc. Del mismo modo, los controles de temperatura a lo largo de al menos una porción de, o sustancialmente todo, el miembro de conducto 30 puede tener efectos deseados. Por ejemplo, proporcionar enfriamiento localizado, propiedades resultantes de los productos formados (por ejemplo, tamaños de nanocristales y/o formas de nanocristales) se pueden controlar. Temperaturas de líquido 3 preferibles durante su procesamiento están entre puntos de congelación y ebullición, más usualmente, entre la temperatura ambiente y puntos de ebullición, y aún más usualmente, entre aproximadamente 40 - 98 grados C, y más usualmente, entre aproximadamente 50 - 98 grados C. Dicha temperatura puede ser controlada, por ejemplo, medios convencionales para enfriamiento localizado en o cerca de varias porciones del aparato de procesamiento.

Además, ciertos potenciadores de procesamiento también puede ser añadido o mezclados con el líquido(s) 3. Los potenciadores de procesamiento incluyen tanto sólidos como líquidos (y gases y en algunos casos). El potenciador o potenciadores de procesamiento pueden proporcionar ciertas ventajas de procesamiento y/o características del producto final. Alguna porción del potenciador o potenciadores de procesamiento, pueden funcionar, influenciar o formar parte de, por ejemplo, cristales de semillas deseables (o promover cristales de semillas deseables, o ser involucrados en la creación de un sitio de nucleación) y/o promotores de crecimiento de plano de cristales/prevenir en los procedimientos de crecimiento electroquímico de la invención, o simplemente funcionan como un regulador de corriente o energía en los procedimientos electroquímicos de la invención. Potenciadores de procesamiento que también pueden afectar deseablemente las condiciones de corriente y/o voltaje entre los electrodos 1/5 y/o 5/5.

Un potenciador de procesamiento preferido es bicarbonato de sodio. Ejemplos de otros potenciadores de procesamiento son carbonato de sodio, bicarbonato de potasio, carbonato de potasio, fosfato trisódico, fosfato disódico, fosfato monosódico, fosfato de potasio u otras sales del ácido carbónico o lo similar. Potenciadores de procesamiento adicionales pueden ser sales, que incluyen sodio o potasio, de bisulfito o sulfito. Aún otros potenciadores de procesamiento para hacer nanocristales de oro para aplicaciones médicas bajo ciertas condiciones puede ser de otras sales, que incluyen sodio o potasio, o cualquier material que ayude en los procedimientos de crecimiento electroquímico aquí descritos; y cualquier material que no es sustancialmente incorporado en o dentro de la superficie del nanocristal de oro, y no imparte toxicidad a los nanocristales o a la suspensión que contiene los nanocristales. Potenciadores de procesamiento pueden ayudar en una o más de las reacciones electroquímicas descritas aquí, y/o puede ayudar a lograr una o más propiedades deseables en productos formados de acuerdo a las enseñanzas aquí.

Por ejemplo, ciertos potenciadores de procesamiento pueden disociarse en iones positivos (cationes) y los iones negativos (aniones). Los aniones y/o cationes, dependiendo de una variedad de factores incluyendo la composición líquida, concentración de iones, campos aplicados, frecuencia de campos aplicados, forma de onda del campo aplicado, temperatura, pH, potencial zeta, etc., navegará o se moverá hacia electrodos cargados opuestamente.

5 Cuando dichos iones se encuentran en o cerca de dichos electrodos, los iones pueden tomar parte en una o más reacciones con el electrodo o electrodos y/u otros constituyentes, ubicado en o cerca de dicho electrodo(s). A veces, los iones pueden reaccionar con uno o más materiales en el electrodo (por ejemplo, cuando NaCl se utiliza como un potenciador de procesamiento, varios cloruros de metales (MCl, MCl₂, etc.) pueden formarse). Tales reacciones pueden ser deseables en algunos casos o no deseables en otros. Además, algunas veces los iones presentes en una solución entre los electrodos no pueden reaccionar para formar un producto tal como MCl, MCl₂, etc., sino que pueden influir en el material del electrodo (o cerca del electrodo) para formar nano-cristales metálicos que son "cultivados" a partir de material proporcionado por el electrodo. Por ejemplo, ciertos iones metálicos pueden entrar en el líquido 3 del electrodo 5 y ser causa de reunirse (por ejemplo, nucleato) para formar constituyentes (por ejemplo, iones, nanocristales, etc.) dentro del líquido 3.

15 En el caso de oro, una variedad de planos de superficie extendida de la cual el crecimiento de cristal puede ocurrir están disponibles, siempre que las impurezas (tal como, por ejemplo, impurezas orgánicas) no inhiben o previenen dicho crecimiento. Mientras que oro es conocido por tener una estructura cúbica centrada (fcc) de cara, los nanocristales de oro que se cultivan de acuerdo a los métodos de la presente invención, no son cristales simples y suelen ser usualmente hermanados para resultar en una variedad de formas nanocristalinas deseable y altamente reactivas o distribuciones de forma. Por ejemplo, las superficies de cristal único {111}, {100} y {110} se encuentran entre las superficies más frecuentemente estudiadas y bien comprendidas. La presencia de ciertas especies tales como iones (por ejemplo, añadir o ser donados por electrodo 5) en procedimiento de nucleación/crecimiento de cristal electroquímico puede influir (por ejemplo, nuclear y/o promover el crecimiento de nanocristales formados específicamente o distribuciones de forma de nanocristales) la presencia o ausencia de una o más de tales superficies extendidas. Un ion determinado (por ejemplo, anión) bajo ciertas condiciones de campo puede ayudar en la presencia de más {111} superficies extendidas o planos relativos a otras superficies de cristal que pueden resultar en la presencia de ciertas formas nanocristalinas con respecto a otras formas (por ejemplo, más formas de decaedro en relación con otras formas, tal como tetraedros, icosaedros, octaedros, o la combinación o combinaciones de ciertas formas cristalinas en relación con otras formas cristalinas, etc.) Al controlar la presencia o ausencia (por ejemplo, cantidades relativas) de dichas caras, las formas de cristal (por ejemplo, placas hexagonales, octaedros, tetraedros y bipirámides pentagonales (es decir, decaedros)) y/o tamaños de cristal o planos de cristal extendidos que contienen tales caras, formas de nanocristales, pueden así ser relativamente controladas. El control del tamaño y la forma de nanocristales (así como las propiedades de superficie de los nanocristales) pueden controlar su función o funciones en una variedad de sistemas, incluyendo sistemas biológicos.

35 Específicamente, la presencia de ciertas formas nanocristalinas (o distribuciones de forma) que contienen planos de cristal de índice bajo extendido específico pueden causar diferentes reacciones (por ejemplo, diferentes reacciones biocatalíticas y/o biofísicas y/o causan diferentes vías de señalización biológica que son activas/inactivas en relación con la ausencia de dichas nanopartículas formadas) y/o diferentes reacciones de forma selectiva pueden ocurrir bajo condiciones sustancialmente idénticas. Una forma cristalina de una nanopartícula de oro (por ejemplo, una estructura bipiramidal pentagonal o decaedro, o tetraedro que contiene planos {111}) puede resultar en un conjunto de reacciones que pueden ocurrir (por ejemplo, unirse a una proteína particular u homólogo y/o que afectan a una vía de señalización biológica particular de una proteína o una citoquinas), mientras que una forma cristalina diferente (por ejemplo, un octaedro contiene los mismos o diferentes planos de cristal, tal como {111} o {100}) puede resultar en un punto final de reacción diferente (es decir, un efecto de vía de señalización o biocatalítica diferente). Más dramáticamente, la falta de resultados de plano de crecimiento de cristal extendido resulta en una nanopartícula de forma esférica (por ejemplo, tal como las realizadas por los procedimientos clásicos homogéneos de reducción química) afecta de manera significativa el desempeño de la nanopartícula (por ejemplo, con respecto a un nanocristal de plano extendido). Estas diferencias en el desempeño pueden ser debido a las diferentes resonancias de plasmón de superficie y/o la intensidad de dichas resonancias. Por lo tanto, al controlar la cantidad (por ejemplo, concentración), tamaños de nanocristales, la presencia o ausencia de ciertos planos de cristal de crecimiento extendido y/o formas nanocristalinas o distribuciones de forma, ciertas reacciones (por ejemplo, reacciones biológicas y/o vías de señalización biológica) pueden ser deseablemente influenciadas y/o controladas. Este control puede resultar en la prevención y/o tratamiento de una variedad de diferentes enfermedades o indicaciones de que son una función de ciertas reacciones biológicas y/o vías de señalización (discutido más adelante aquí).

55 Además, ciertos potenciadores de procesamiento también pueden incluir materiales que pueden funcionar como portadores de carga, pero no pueden ser ellos mismos iones. Específicamente, partículas basadas en metálicas, ya sea introducidas o formadas *in situ* (por ejemplo, nucleación/crecimiento, homogéneo o heterogéneo) por las técnicas de procesamiento electroquímico descritas aquí, también pueden funcionar como portadores de carga, nucleadores de cristal y/o promotores de crecimiento, que pueden resultar en la formación de una variedad de diferentes formas cristalinas (por ejemplo, placas hexagonales, octaedros, tecaedros, bi-pirámides pentagonales (decaedros), etc.) Una vez más, la presencia de tamaños de partículas de cristal particulares, planos de cristal extendidos y/o formas o distribuciones de forma de dichos cristales, pueden deseablemente influir en ciertas reacciones (por ejemplo, al unirse a una proteína particular u homólogo de proteína y/o afectar a una vía de señalización biológica particular como una vía inflamatoria o una vía proteasomal) de que ocurra. Además, dado que los potenciadores de procesamiento de la presente invención no contemplan aquellas moléculas basadas en orgánico tradicionales utilizadas en técnicas de química de reducción tradicional, la falta de tales reductores químicos (o agente tensoactivo añadido) significa que las superficies de los nanocristales cultivados en la invención

son muy "limpias" respecto a las nanopartículas que se forman por los métodos tradicionales de reducción química. Debe entenderse que cuando se utiliza el término "limpio" con respecto a las superficies de nanocristales o cuando se utiliza la frase "sustancialmente libre de impurezas orgánicas o películas" (o una frase similar), lo que significa es que los nanocristales formados no tienen constituyentes químicos adheridos o unidos a sus superficies, que (1) alteran el funcionamiento del nanocristal y/o (2) forman una capa, superficie o película que cubre una porción significativa (por ejemplo, al menos 25% del cristal, o más generalmente, al menos 50% del cristal). En modalidades preferidas, las superficies de nanocristal son completamente libres de cualquiera de los contaminantes orgánicos que materialmente cambiar su funcionalidad. Se debe entender además que componentes incidentales que son causados para adherirse a nanocristales de la invención y no negativamente o materialmente afectan el funcionamiento de los nanocristales inventivos, debe considerarse que están dentro de las medidas y límites de la invención. Un ejemplo de una superficie de nanocristal que está completamente libre de impurezas orgánicas o películas se muestra en el ejemplo 5 aquí.

La falta de químicos añadidos (por ejemplo, orgánicos) permite el crecimiento de los átomos de oro en los planos de cristal extendido resultantes en las distribuciones de forma cristalina novedosas y también afecta el desempeño de los nanocristales *in vivo* (por ejemplo, afecta la corona de proteína formada alrededor de las nanopartículas/nanocristales en, por ejemplo, suero). Por ejemplo, pero sin desear ligarse a cualquier teoría particular o explicación, formación de corona de proteína puede controlar la ubicación de una nanopartícula/nanocristal *in vivo*, así como controlar el plegamiento de proteína de control de proteínas en o cerca de las superficies de nanopartícula/nanocristal. Tales diferencias en rendimiento pueden deberse a factores tales que incluyen, pero sin limitarse a, superficie de carga, resonancia de plasmón de superficie, efectos epitaxiales F, capas dobles de superficie, zonas de influencia y otros.

Aún además, una vez que un cristal de semillas ocurre en el procedimiento y/o un conjunto de planos de cristal extendidos empieza a crecer (por ejemplo, la nucleación homogénea) o un cristal de semilla se proporciona por separado (por ejemplo, nucleación heterogénea) la cantidad de tiempo que una partícula formada (por ejemplo, un átomo de metal) se permite vivir en o cerca de uno o más electrodos en un procedimiento electroquímico puede resultar en el tamaño de estos nanocristales que aumenta como una función del tiempo (por ejemplo, átomos de metal pueden montarse en nanocristales de metal y, si no hay impedimentos por ciertos constituyentes orgánicos en el líquido, pueden crecer en una variedad de formas y tamaños). La cantidad de tiempo que están presentes las condiciones de nucleación/crecimiento de cristal puede controlar la o las formas y tamaño(s) de nanocristales cultivados. En consecuencia, tiempo de vida en/alrededor de electrodos, velocidades de flujo líquido, formas en sección transversal mínima, etc., todo contribuyen a las condiciones de crecimiento de nanocristal, como se explica en otra parte aquí.

En una modalidad preferida el porcentaje de bipirámides pentagonales es al menos aproximadamente 5% o está en un intervalo de aproximadamente 5% - 35%, y más generalmente al menos aproximadamente 10%, o está en un intervalo de aproximadamente 10% - 35% y aún más generalmente, al menos aproximadamente 15%, o está en un intervalo de aproximadamente 15% - 35% y todavía más normalmente, por lo menos aproximadamente 25% y en algunos casos al menos aproximadamente 30%.

En otra modalidad preferida el porcentaje de tetraedros es al menos aproximadamente 5%, o está en un intervalo de aproximadamente 5% - 35%, y más generalmente al menos aproximadamente 10%, o está en un intervalo de aproximadamente 10% - 35% y aún más generalmente, al menos aproximadamente 15%, o está en un intervalo de aproximadamente 15% - 35% y todavía más normalmente, al menos aproximadamente 25% y en algunos casos al menos aproximadamente 30%.

Aún además, la combinación de bipirámides pentagonales y tetraedros es al menos aproximadamente 15%, o está en un intervalo de aproximadamente 15% - 50% y más generalmente al menos aproximadamente 20%, o está en un intervalo de aproximadamente 20% - 50% y aún más generalmente, al menos aproximadamente 30%, o está en un intervalo de aproximadamente 30% - 50% y todavía más normalmente, al menos aproximadamente 35% y en algunos casos al menos aproximadamente 45%.

Aún además, la combinación de bipirámides pentagonales, tetraedros, octaedros y hexagonales es al menos aproximadamente 50%, o está en un intervalo de aproximadamente 50% - 85% y más generalmente al menos aproximadamente 60%, o está en un intervalo de aproximadamente 60% - 85% y aún más generalmente, al menos aproximadamente 70%, o está en un intervalo de aproximadamente 70% - 85% y aún más usualmente, al menos aproximadamente 70% y en algunos casos al menos aproximadamente 80%.

En muchas de las modalidades preferidas aquí, se utilizan una o más fuentes de AC. La tasa de cambio de polaridad "+" sobre un electrodo para "-" polaridad en el mismo electrodo se conoce como Hertz, Hz, frecuencia o ciclos por segundo. En los Estados Unidos, la frecuencia de salida estándar es 60 Hz, mientras que en Europa es predominantemente 50 Hz. Como se muestra en los ejemplos aquí, también puede influir en la frecuencia en tamaño y/o forma de nanocristales formados de acuerdo con las técnicas electroquímicas descritas aquí. Frecuencias preferibles son 5-1000 Hz, más generalmente, 20-500 Hz, aún más usualmente, 40-200 Hz y aún más usualmente, 50-100 Hz. Por ejemplo y sin desear ligarse a cualquier teoría particular o explicación, cristales nucleados o en

crecimiento pueden tener primero fuerzas atractivas ejercidas sobre ellos (o sobre constituyentes de crecimiento de cristal, tales como iones o átomos, tomando parte en la formación de la cristales) debido a, por ejemplo, cargas diferentes se atraen y entonces las fuerzas repulsivas se ejercen sobre dichos constituyentes (por ejemplo, debido a que cargas similares se repelen). Estos factores también juegan claramente una función importante en la nucleación y/o crecimiento de cristal de nanocristales novedosos formados por afectar el tamaño de partículas y/o formas; así como permitir que los cristales se formen sin la necesidad de reductores o agentes tensoactivos (es decir, que necesitan agregarse para tomar parte en las técnicas de química de reducción de la técnica previa) causando que las superficies de nanocristales sean libres de dichas especies químicas añadidas. La falta de recubrimientos basados en orgánicos en la superficie nanocristales en crecimiento altera (y en algunos controla) su función biológica.

Además, la particular forma de onda que se utiliza para una frecuencia específica también afecta a las condiciones de crecimiento de nanocristales y así los efectos de tamaño de nanocristal y/o forma o formas. Mientras que E.U.A. utiliza una frecuencia de CA estándar de 60 Hz, también utiliza una forma de onda estándar de una onda "senoidal". Como se muestra en los ejemplos en este documento, cambiar la forma de onda de una onda senoidal a una onda cuadrada o una onda triangular también afecta las condiciones de cristalización de nanocristales y así afecta los tamaños y formas de nanocristales resultantes. Formas de onda preferidas incluyen ondas senoidales, ondas cuadradas y ondas triangulares, sin embargo deben considerarse formas de onda híbridas dentro de los límites y medidas de la invención.

Aún además, el voltaje aplicado en las técnicas electroquímicas novedosas descritas aquí también puede afectar los tamaños y formas nanocristalinas. Un intervalo de voltaje preferido es 20-2000 voltios, un intervalo de voltaje más preferido es 50-1000 voltios y un intervalo de voltaje aún más preferido es 100-300 voltios. Además del voltaje, los amperajes utilizados normalmente con estos voltajes son 0.1 -10 Amps, un intervalo de amperaje más preferido es 0.1-5 Amps y un intervalo de amperaje aún más preferido es 0.4-1 Amps.

Aún además, el "ciclo activo" utilizado para cada forma de onda aplicada en técnicas electroquímicas novedosas descritas aquí también puede afectar los tamaños y formas nanocristalinas. En este sentido, sin desear ligar a cualquier teoría particular o explicación, la cantidad de tiempo que un electrodo es positivamente polarizado puede resultar en un primer conjunto de reacciones, mientras un conjunto diferente de reacciones puede ocurrir cuando el electrodo está polarizado negativamente. Ajustando la cantidad de tiempo que los electrodos están polarizados positiva o negativamente, tamaño(s) o forma(s) de nanocristales cultivados pueden ser controlados. Además, la velocidad a la cual un electrodo se convierte en + o - es también una función de forma de onda y también influyen tamaño(s) o forma(s) del nanocristal.

Temperatura también puede desempeñar un papel importante. En algunas de las modalidades preferidas descritas aquí, la temperatura de punto de ebullición del agua es aproximada en al menos una porción del recipiente de procesamiento donde los nanocristales de oro son nucleados y cultivados. Por ejemplo, la temperatura de agua de salida en los ejemplos de procesamiento aquí varías de 60°C - 99°C. Sin embargo, como se explica en otra parte aquí, intervalos de temperatura diferentes son también deseables. Temperatura puede influir el producto resultante (por ejemplo, tamaño y/o forma de nanocristales), así como la cantidad de producto resultante (es decir, nivel de ppm de nanocristales en la suspensión o coloide). Por ejemplo, aunque es posible enfriar el líquido 3 en miembro de conducto 30 por una variedad de conocidas técnicas (como se describe en algunos de los ejemplos aquí), muchos de los ejemplos aquí no enfrían el líquido 3, resultando en la evaporación de una porción del líquido 3 durante su procesamiento.

Figura 11A muestra una vista en perspectiva de una modalidad de sustancialmente todos los miembros de conducto 30 mostrados en la figura 10B incluyendo una porción de entrada o extremo de entrada 31 y una porción de salida o extremo de salida 32. La dirección de flujo "F" discutida en otras figuras en el presente documento corresponde a un líquido que entra en o cerca del extremo 31 (por ejemplo, utilizando un medio adecuado para suministrar el fluido en el miembro de conducto 30 en o cerca de la porción de entrada 31) y que sale del miembro de conducto 30 hasta el extremo 32. Figura 11B muestra el miembro de conducto 30 de figura 11A que contiene tres dispositivos de control 20a, 20b y 20c unido de manera removible al miembro de conducto 30. La interacción y operaciones de los dispositivos de control 20a, 20b y 20c que contienen los electrodos 1 y/o 5 se discuten en mayor detalle más adelante en este documento. Sin embargo, en una modalidad preferida de la invención, los dispositivos de control 20, puede conectarse de manera removible a la porción superior del miembro de conducto 30 de modo que los dispositivos de control 20 son capaces de ser colocados en diferentes posiciones a lo largo del miembro de conducto 30, con lo cual afecta determinados parámetros de procesamiento, constituyentes producidos (por ejemplo, tamaños y formas de nanocristales), reactividad de constituyentes producidos, así como nanocristales/fluidos producidos de los mismos.

Figura 11C muestra una vista en perspectiva de una cubierta de dispositivo de control de atmósfera 35'. El dispositivo o cubierta de control de atmósfera 35' ha unido a esto una pluralidad de dispositivos de control 20a, 20b y 20c conectados de manera controlable al electrodo(s) 1 y/o 5. La cubierta 35' está destinada a proporcionar la capacidad para controlar la atmósfera dentro y/o a lo largo de una porción sustancial de (por ejemplo, más del 50% de) la dirección longitudinal del miembro de conducto 30, tal que cualquier plasma(s) ajustable(s) 4 creado(s) entre

cualquier electrodo(s) 1 y superficie 2 del líquido 3 pueden ser una función de los parámetros anteriormente discutidos de voltaje, corriente, densidad de corriente, polaridad, etc. (como se discute en más detalle aquí), así como una atmósfera controlada (también discutida con más detalle en otra parte aquí).

5 Figura 11D muestra el aparato de la figura 11C que incluyen un medio de soporte adicional 34 para soportar el miembro de conducto 30 (por ejemplo, en una porción exterior de los mismos), así como el soporte (al menos parcialmente) de los dispositivos de control 20 (no mostrados en la figura 11D). Debe ser entendido por el lector que pueden cambiarse varios detalles con respecto a, por ejemplo, las formas en sección transversal mostradas para el miembro de conducto 30, controles de atmósfera (por ejemplo, la cubierta 35') y medios de soporte externo (por ejemplo, medios de soporte 34) que están dentro de los límites y medidas de esta descripción, algunos de los cuales se discuten en mayor detalle más adelante aquí.

15 Figura 11E muestra una configuración alternativa del miembro de conducto 30. Específicamente, el miembro de conducto 30 se muestra en vista en perspectiva y es "en forma de Y". Específicamente, el miembro de conducto 30 comprende porciones superiores 30a y 30b y una porción de fondo 30c. Asimismo, entradas 31a y 31b se proporcionan junto con una salida 32. Una porción 30d que corresponde al punto donde 30a y 30b satisfacen 30c.

20 Figura 11F muestra el mismo miembro de conducto "en forma de Y" mostrado en la figura 11E, salvo que la porción 30d de la figura 11E se muestra ahora como una sección de mezclado más definida 30d'. En este sentido, ciertos constituyentes fabricados o producidos en el líquido 3 en uno o todos, por ejemplo, las porciones 30a, 30b y/o 30c, puede ser deseable que se mezclen juntas en el punto 30d (o 30d'). Esa mezcla puede ocurrir naturalmente en la intersección 30d mostrada en la figura 11E (es decir, sección no específica o especial 30d' pueden ser necesaria), o puede ser controlada más específicamente en la porción 30d'. Debe entenderse que la porción 30d' podría ser formada en cualquier forma efectiva, como cuadrada, circular, rectangular, etc., y ser de profundidad igual o diferente respecto a otras porciones del miembro de conducto 30. En este sentido, el área 30d podría ser una zona de mezclado o zona posterior de reacción o una zona donde puede agregarse un potenciador de procesamiento. Más detalles de las interacciones 30d y 30d' se discuten más adelante aquí.

30 Figuras 11G y 11H muestran a un miembro de conducto "en forma de ψ " 30. Específicamente, se ha añadido una nueva porción 30c. Otras características de figuras 11G y 11H son similares a aquellas características que se muestra en 11E y 11F.

35 Debe entenderse que puede existir una variedad de diferentes formas y/o secciones transversales para el miembro de conducto 30, uno de los cuales puede producir resultados deseables en función de una variedad de consideraciones de diseño y producción. Por ejemplo, uno o más constituyentes producidos en las porciones 30a, 30b y/o 30c podría ser transitorio (por ejemplo, un cristal de semilla o punto de nucleación) y/o semi permanente (por ejemplo, nanocristales cultivados presentes en un coloide). Si tal constituyente(s) producido(s), por ejemplo, en porción 30a es para ser deseablemente y controlablemente reaccionado con uno o más constituyentes producidos en, por ejemplo, porción 30b, entonces un producto final (por ejemplo, propiedades de un producto final), que resulta de dicha mezcla puede ser una función de cuando los constituyentes formados en las porciones 30a y 30b son mezclados entre sí. También, la temperatura de los líquidos que entran en la sección 30d (o 30d') puede ser monitoreada/controlada para maximizar ciertas condiciones de procesamiento deseables y/o propiedades deseables de productos finales y/o minimizar determinados productos indeseables. Aún además, potenciadores de procesamiento pueden ser selectivamente utilizados en una o más de las porciones 30a, 30b, 30c, 30d (30d') y/o 30c (o en cualquier punto seleccionado o porción del miembro de conducto 30).

50 Figura 12A muestra una vista en perspectiva de un aparato de control de atmósfera local 35 que funciona como un medio para controlar una atmosfera local alrededor del electrodo establecido 1 y/o 5 para que diversos gases localizados pueden utilizarse para, por ejemplo, controlar y/o efectuar ciertos componentes en el plasma ajustable 4 entre electrodo 1 y superficie 2 del líquido 3, así como influir en las reacciones electroquímicas ajustables en y/o alrededor del electrodo o electrodos 5. Los orificios con salida 36 y 37 mostrados en el aparato de control de atmósfera 35 se proporcionan para permitir la comunicación externa en y a través de una porción del aparato 35. En particular, el orificio o entrada 37 se proporciona como una conexión de entrada para cualquier especie gaseosa que se introduce en el interior del aparato 35. El orificio 36 está previsto como un puerto de comunicación para los electrodos 1 y/o 5 que se extienden a través de este cuyos electrodos están conectados a, por ejemplo, el dispositivo de control 20 situado encima del aparato 35. Gases introducidos a través de la entrada 37 simplemente pueden proveerse a una presión positiva respecto a la atmósfera externa local y pueden dejarse escapar por cualquier medio adecuado o vía incluyendo, pero no limitada a, burbujeo alrededor de las porciones 39a y 39b del aparato 35, cuando dichas porciones son causadas, por ejemplo, al menos se sumergen parcialmente bajo la superficie 2 del líquido 3. Alternativamente, un segundo orificio o salida (no mostrada) puede suministrarse en otros lugares en el aparato de control de atmósfera 35. Generalmente, las porciones 39a y 39b pueden romper la superficie 2 del líquido 3 efectivamente causando que la superficie 2 actúe como parte del sello para formar una atmósfera localizada alrededor de los conjuntos de electrodos 1 y/o 5. Cuando entra una presión positiva de un gas deseado a través del puerto de entrada 37, pequeñas burbujas pueden ser causadas a las burbujas pasadas, por ejemplo, las porciones 39a y 39b. Alternativamente, gas puede salir a través de una salida adecuado en el aparato de control de atmósfera 35, como a través del orificio 36.

Figura 12B muestra una vista en perspectiva del primer aparato de control de atmósfera 35a en el primer plano del miembro de conducto 30 contenido dentro del alojamiento de soporte 34. Un segundo aparato de control de atmósfera 35B se incluye y muestra un dispositivo de control 20 localizado en este. "F" denota la dirección longitudinal del flujo del líquido a través del miembro de conducto 30. Si lo desea, las atmósferas controladas localmente (por ejemplo, de sustancialmente los mismos constituyentes químicos, tales como aire o nitrógeno o sustancialmente diferentes constituyentes químicos, tal como helio y nitrógeno) alrededor de conjuntos de electrodos diferentes 1 y/o 5 pueden lograrse.

Figura 13 muestra una vista en perspectiva de un aparato de control de atmósfera alternativo 38 en donde el miembro de conducto entero 30 y medio de soporte 34 están contenidos dentro del aparato de control de atmósfera 38. En este caso, por ejemplo, entrada gas 37 (37') puede ser proporcionada junto con salidas de gas 37a (37a'). La posición exacta de las entradas de gas 37 (37') y salidas de gas 37a (37a') en el aparato de control de atmósfera 38 es una cuestión de conveniencia, así como una cuestión de la composición de la atmósfera contenida aquí. En este sentido, si el gas es más pesado que el aire o más ligero que el aire, las ubicaciones de entrada y salida pueden ajustarse en consecuencia. Aspectos de estos factores se discuten en mayor detalle más adelante aquí.

Figura 14 muestra una vista esquemática del aparato general utilizado de acuerdo con las enseñanzas de algunas de las modalidades preferidas de la invención presente. En particular, esta figura 14 muestra una vista esquemática lateral del miembro de conducto 30 que contiene un líquido 3 en él. En la parte superior del miembro de conducto 30 descansa una pluralidad de dispositivos de control 20a-20d que son, en esta modalidad, unidas removibles a esto. Los dispositivos de control 20a-20d pueden naturalmente ser fijadas permanentemente en posición cuando se practican varias modalidades de la invención. El número exacto de los dispositivos de control de 20 (y electrodos correspondientes 1 y/o 5, así como las configuraciones de esos electrodos) y el posicionamiento o la ubicación de los dispositivos de control 20 (y electrodos correspondientes 1 y 5) son una función de varias modalidades preferidas de la invención discutidas con mayor detalle en otra parte en el presente documento. Sin embargo, en general, un líquido de entrada 3 (por ejemplo agua o agua purificada) se proporciona a un medio de transporte líquido 40 (por ejemplo, una bomba de líquido, gravedad o medios de bombeo de líquidos para bombear el líquido 3) tal como una bomba peristáltica 40 para bombear el líquido 3 en el miembro de conducto 30 en un primer extremo 31 del mismo. Exactamente cómo se introduce el líquido 3 se discute en mayor detalle en otra parte aquí. El medio de transporte de líquido 40 puede incluir cualquier medio para mover líquidos 3 incluyendo, pero no limitado a una alimentación de gravedad o medio hidrostático, un medio de bombeo, un medio regulador o de válvula, etc. Sin embargo, el medio de transporte de líquido 40 debe ser capaz de introducir confiablemente y/o controlablemente cantidades conocidas del líquido 3 en el miembro de conducto 30. La cantidad de tiempo que el líquido 3 está dentro del miembro de conducto 30 (por ejemplo, en o alrededor de uno o más electrodos 1/5) también influye en los productos producidos (por ejemplo, los tamaños y/o formas de los nanocristales cultivados).

Una vez que el líquido 3 se proporciona al miembro de conducto 30, medios para mover continuamente el líquido 3 dentro del miembro de conducto 30 pueden o no pueden ser necesarios. Sin embargo, un medio simple para mover continuamente el líquido 3 incluye el miembro de conducto 30 está situado en un ligero ángulo θ (por ejemplo, menos de un grado a unos pocos grados para un fluido de baja viscosidad 3, tal como agua) relativo a la superficie de apoyo sobre la cual se encuentra el miembro de conducto 30. Por ejemplo, una diferencia de altura vertical de menos de una pulgada entre una porción de entrada 31 y una porción de salida 32, espaciada por aproximadamente 6 pies (aproximadamente 1.8 metros) relativo a la superficie de soporte puede ser todo lo que se requiere, siempre y cuando la viscosidad del líquido 3 no sea demasiado alta (por ejemplo, cualquier viscosidad alrededor de la viscosidad del agua puede ser controlada por flujo de gravedad una vez que esos fluidos son contenidos o ubicados dentro del miembro de conducto). En este sentido, figuras 15A y 15B muestran dos ángulos aceptables θ_1 y θ_2 , respectivamente, para el miembro de conducto 30 que puede procesar varias viscosidades incluyendo fluidos de baja viscosidad, tal como el agua. La necesidad de un mayor ángulo θ podría ser el resultado del procesamiento de un líquido 3 que tiene una viscosidad superior a la del agua; la necesaria para que el líquido 3 transite a través de 30 en una velocidad más rápida, etc. Además, cuando viscosidades del líquido 3 aumentan tal que la gravedad por sí sola no es suficiente, otros fenómenos tal como usos específicos de la presión hidrostática de cabeza o presión hidrostática también pueden utilizarse también para lograr el flujo de fluido deseable. Además, medios adicionales para mover el líquido 3 a lo largo del miembro de conducto 30 también podrían proporcionarse dentro del miembro de conducto 30. Tales medios para mover el fluido incluyen medios mecánicos tales como palas, ventiladores, propulsores, hélice, etc., medios acústicos tal como transductores, medios térmicos tales como calentadores y/o enfriadores (que pueden tener beneficios de procesamiento adicionales), etc., también son deseables para su uso con la invención presente.

Figura 14 muestra también un tanque de almacenamiento o recipiente de almacenamiento 41 en el extremo 32 del miembro de conducto 30. Dicho recipiente de almacenamiento 41 puede ser cualquier recipiente aceptable y/o medios de bombeo hechos de uno o más materiales los cuales, por ejemplo, no interactúan negativamente con el líquido 3 (o constituyentes contenidos aquí) producidos dentro del miembro de conducto 30. Materiales aceptables incluyen, pero no se limitan a plásticos tal como polietileno de alta densidad (HDPE), vidrio, metales (tal como ciertos grados de acero inoxidable). Además, mientras que un tanque de almacenamiento 41 se muestra en esta modalidad, el tanque 41 debe entenderse como que incluye un medio para distribuir o embotellar directamente o envasar el fluido 3 procesado en el miembro de conducto 30.

Figuras 16A, 16B y 16C muestran una vista en perspectiva de una modalidad preferida de la invención. En estas figuras 16A, 16B y 16C, ocho dispositivos de control separados 20a-20h se muestran con más detalle. Estos dispositivos de control 20 pueden utilizar una o más de las configuraciones de electrodo mostradas en, por ejemplo, las figuras 8A, 8B, 8C y 8D. La colocación precisa y operación de los dispositivos de control 20 (y los electrodos correspondientes 1 y/o 5) se discuten con más detalle en otras partes aquí. Figura 16B incluye el uso de dos dispositivos de distribución de aire y manejo de aire (por ejemplo, ventiladores 342a y 342b). Estos dispositivos de manejo de aire pueden ayudar a eliminar, por ejemplo, aire húmedo producido alrededor de los electrodos 1/5. Específicamente, en algunos casos ciertas cantidades de humedad son deseables, pero en otros casos, la excesiva humedad localizada podría ser indeseable. Asimismo, figura 16C incluye el uso de dos dispositivos de distribución de aire o manejo de aire 342c y 342d.

Los dispositivos de control de electrodo mostrados generalmente en, por ejemplo, las figuras 2A-2B, 3A-3D, 14 y 16A-16L se muestran con mayor detalle en las figuras 17D, 17E, 17F, 17M y 17N. En particular, estas figuras 17D, 17E, 17F, 17M y 17N muestran una vista en perspectiva de varias modalidades de los dispositivos de control inventivos 20.

Primero, se hace referencia específica a las figuras 17D, 17E y 17F. En cada uno de estas tres figuras, una porción de base 25 se proporciona, dicha porción de base con una porción superior 25' y una porción inferior 25". La porción de base 25 se hace de un material plástico rígido adecuado que incluye, pero no se limita a, materiales hechos de plásticos estructurales, resinas, poliuretano, polipropileno, nylon, teflón, polivinilo, etc. Una pared divisoria 27 está prevista entre dos montajes de ajuste de electrodo. La pared divisoria 27 puede hacerse de materiales similares o distintos de ese material que comprende la porción de base 25. Dos motores de servo-paso 21a y 21b se fijan a la superficie 25' de la porción de base 25. Los motores de paso 21a, 21b podrían ser cualquier motor de paso capaz de moverse ligeramente (por ejemplo, en una base de 360 grados, ligeramente menos o ligeramente más de 1 grado) tal que un movimiento circunferencial de motores de etapa 21a/21b resulta en una elevación vertical de reducción de un electrodo 1 o 5 que se comunica con ellos. En este sentido, un primer componente en forma de rueda 23a es la rueda de manejo conectada al eje de salida 231a del motor de dirección 21a tal que cuando el eje de manejo 231a gira, el movimiento circunferencial de la rueda 23a se crea. Además, una rueda de secundaria 24a es causada para presionar contra y hacia la rueda de manejo 23a dicho contacto de fricción existe entre estos. La rueda de manejo 23a y/o rueda secundaria 24a puede incluir una muesca o ranura en su porción exterior para ayudar a acomodar los electrodos 1, 5. La rueda secundaria 24a es causada al ser presionada hacia la rueda de manejo 23a por un resorte 285 situado entre las porciones 241a y 261a unida a la rueda secundaria 24a. En particular, un resorte enrollado 285 puede ser localizado alrededor de la porción del eje 262a que se extiende desde el bloque 261a. Resortes deben ser de suficiente tensión para resultar en una fuerza de fricción razonable entre la rueda de manejo 24a y la rueda secundaria tal que cuando el eje 231a gira una determinada cantidad, los montajes de electrodo 5a, 5b, 1a, 1b, etc., se moverán en dirección vertical respecto a la porción de base 25. Dicho movimiento rotacional o circunferencial de la rueda de manejo 23A resulta en una transferencia directa de cambios direccionales verticales en los electrodos 1, 5, mostrados aquí. Al menos una porción de la rueda de manejo debe hacerse de un material de aislamiento eléctrico; con lo cual la rueda secundaria 24a puede hacerse de un material conductor eléctricamente o un material de aislamiento eléctricamente, pero por lo general, un material de aislamiento eléctricamente.

Los motores de dirección 21a/21b pueden ser cualquier motor de dirección adecuado que es capaz de rotaciones pequeñas (por ejemplo, ligeramente por debajo de $1^\circ/360^\circ$ o ligeramente por encima de $1^\circ/360^\circ$) tal que pequeños cambios rotacionales en el eje de dirección 231a se traduce en cambios verticales pequeños en los montajes de electrodo. Un motor de dirección preferido incluye un motor de dirección fabricado por motor de paso 1MC17-S04 modelo de tecnologías RMS, que es un motor de paso con energía CC. Estos motores de paso 12a/21b incluyen una conexión RS-232 22a/22b, respectivamente, que permiten que los motores de paso sean accionados por un aparato de control remoto tal como una computadora o un controlador.

Las porciones 271, 272 y 273 son primariamente los ajustes de altura que ajustan la altura de la porción de base 25 relativa a los miembros de conducto 30. Las porciones 271, 272 y 273 pueden ser hechas de los mismos, similares o distintos materiales de la porción de base 25. Las porciones 274a/274b y 275a/275b también pueden hacerse del mismo, similar o diferente material de la porción de base 25. Sin embargo, estas porciones deben ser aisladas eléctricamente en que componentes de alambre de varios alojamientos asociados con el suministro de voltaje y la corriente a los montajes de electrodo 1a/1b, 5a/5b, etc.

El montaje de electrodo específicamente mostrado en la figura 17D comprende electrodos 5a y 5b (correspondientes a, por ejemplo, el montaje de electrodo que se muestra en la figura 3C). Sin embargo, este montaje de electrodo puede comprender electrodos 1 solamente, electrodos 1 y 5, electrodos 5 y 1 o electrodos 5 solamente. En este sentido, la figura 17E muestra a un montaje donde se proporcionan dos electrodos 1a/5a en lugar de dos electrodos 5a/5b mostrados en la figura 17D. Todos los demás elementos que se muestra en la figura 17E son similares a los mostrados en la figura 17D.

Con respecto al tamaño del dispositivo de control 20 mostrado en las figuras 17D, 17E y 17F, las dimensiones "L" y "W" pueden ser cualquier dimensión que adapta el tamaño de los motores de paso 21a y 21b y la anchura de los miembros de conducto 30. En este sentido, la dimensión "L" mostrada en la figura 17F necesita ser suficiente tal que

la dimensión "L" es al menos tan larga como el miembro de conducto 30 es amplia y por lo general ligeramente las larga (por ejemplo, 10-30%). La dimensión "W" mostrada en la figura 17F debe ser lo suficientemente amplia para alojar los motores de paso 21a/21b y no ser tan amplia como el espacio longitudinal sub-utilizada innecesariamente a lo largo de la longitud del miembro de conducto 30. En una modalidad preferida de la invención, la dimensión "L" es aproximadamente 7 pulgadas (aproximadamente 19 milímetros) y la dimensión "W" es aproximadamente 4 pulgadas (aproximadamente 10.5 milímetros). El grosor "H" de un miembro de base 25 es cualquier espesor suficiente que proporciona rigidez estructural, eléctrica y mecánica para el miembro de base 25 y debe ser del orden de aproximadamente 1/4" - 3/4" (aproximadamente 6 mm - 19 mm). Mientras que estas dimensiones no son críticas, las dimensiones proporcionan un entendimiento de tamaño generalmente de ciertos componentes de una modalidad preferida de la invención.

Además, en cada una de las modalidades de la invención mostradas en figuras 17D, 17E y 17F, un miembro de base 25 (y los componentes montados en estos), puede ser cubierto por una cubierta adecuada (que se muestra en la figura 17F) para aislar eléctricamente, así como crear un ambiente de protección local para todos los componentes conectados a un miembro de base 25. Tal cubierta 290 puede hacerse de cualquier material adecuado que proporciona seguridad apropiada y flexibilidad operacional. Materiales ejemplares incluyen plásticos similares a los utilizados para otras porciones del miembro de conducto 30 y/o el dispositivo de control 20 y es normalmente transparente. Este miembro de cubierta 290 también puede hacerse del mismo tipo de materiales utilizados para hacer la porción de base 25. La cubierta 290 también se muestra como que tiene 2 orificios con salida 291 y 292 aquí. Específicamente, estos orificios con salida pueden, por ejemplo, alinearse con porciones en exceso de, por ejemplo, electrodos 5, que pueden ser conectados a, por ejemplo, una bobina de alambre de electrodo (no mostrada en estos dibujos).

Figura 17M y 17N muestran una configuración alternativa para el dispositivo de control 20. En estos dispositivos, componentes igualmente numerados son esencialmente los mismos como aquellos componentes que se muestran en las figuras 17D, 17E y 17F. Las diferencias primarias entre los dispositivos de control 20 mostrados en figuras 17M y 17N es que mientras un patrón similar o polea de dirección 23a se proporciona, en lugar de proporcionar una rueda secundaria 24a o 241 como se muestra en las modalidades de las figuras 17D, 17E y 17F, un dispositivo de contacto eléctrico resiliente 242 se proporciona como se muestra en la figura 17M y como en 242a/242b en la figura 17N. En este sentido, las porciones 242, 242a y 242b proporcionan tensión resiliente para el alambre 5A o 5B que se proporciona entre este. Adicionalmente, este diseño de dispositivo de control hace que exista una conexión eléctrica entre las fuentes de energía 50/60 y los electrodos 1/5. El servo-motor 21a funciona como se discute anteriormente, pero un solo electrodo (figura 17M) o dos electrodos (figura 17N) son accionados por un motor de dirección servo único. En consecuencia, un motor de dirección único 21A puede reemplazar dos motores de dirección en el caso de la modalidad que se muestra en la figura 17N. Además, proporcionando el contacto eléctrico entre los alambres 1/5 y las fuentes de energía 50/60, se proporcionan todas las conexiones eléctricas en una superficie superior (es decir, la superficie más lejos del líquido 3, resultando en ciertas ventajas de diseño y producción.

Figuras 17D y 17E muestran un componente de material refractario 29. El componente 29 está conformado de, por ejemplo, componente refractario adecuado, incluyendo, por ejemplo, óxido de aluminio o similares. El componente refractario 29 puede tener un orificio con salida transverso que proporciona para conexiones eléctricas para los electrodos 1 y/o 5. Además un orificio con salida longitudinal está presente a lo largo de la longitud del componente refractario 29 tal que los montajes de electrodos 1/5 pueden extenderse a través de estos.

Figura 17E muestra una vista en perspectiva de la porción inferior del dispositivo de control 20. En esta figura 17E, un electrodo 1A se muestra como que se extiende a través de una primera porción refractaria 29a y un electrodo(s) 5a se muestra como que se extiende a través de una segunda porción refractaria 29b. En consecuencia, cada uno de los montajes de electrodo descritos aquí, así como aquellos referidos aquí, se pueden utilizar en combinación con las modalidades preferidas del dispositivo de control mostrado aquí.

A fin de que los dispositivos de control 20 sean accionados, dos procedimientos generales deben ocurrir. Un primer procedimiento involucra la activación eléctricamente de los electrodos 1 y/o 5 (por ejemplo, aplicar energía a esto de una fuente de energía preferida 10), y la segunda aparición de procedimiento general implica determinar, por ejemplo, cuánta energía se aplica a los electrodos y ajustar apropiadamente la altura de electrodo 1/5 en respuesta a tales determinaciones (por ejemplo, ajustar manualmente y/o automáticamente la altura de los electrodos 1/5); o ajustar la altura del electrodo o simplemente mover el electrodo en (por ejemplo, avanzar progresivamente los electrodos 5 a través del líquido 3) o fuera de contacto con el líquido 3, como una función del tiempo. En el caso de utilizar un dispositivo de control 20, instrucciones adecuadas se comunican al motor de paso 21 a través de los puertos RS-232 y 22a y 22b. Modalidades importantes de componentes del dispositivo de control 20, así como el procedimiento de activación de electrodo, se discuten aquí.

Una modalidad preferida de la invención utiliza los dispositivos de control automático 20 que se muestra en varias figuras aquí. Los motores de paso 21a y 21b mostrados en, por ejemplo, figuras 17D-17F, y 17M-17N están controlados por el circuito eléctrico cuyo diagrama en cada una de las figuras 17G-17J (por ejemplo, para conjuntos de electrodo 1/5 que hacen un plasma 4 o para conjuntos de electrodo 5/5); o están controlados por el circuito eléctrico diagramado en cada una de las figuras 17K y 17l para conjuntos de electrodos 5/5, en algunas modalidades aquí.

En particular, en esta modalidad, el circuito eléctrico de la figura 17J es un circuito de monitoreo de voltaje. Específicamente, la salida de voltaje de cada una de las patas de salida de la bobina secundaria 603 en el transformador 60 son monitoreados por los puntos "P-Q" y los puntos "P'-Q'". Específicamente, el resistor denotado por "R_L" corresponde a la resistencia interna del dispositivo de medición multi-medidor (no se muestra). Los voltajes de salida se miden entre los puntos "P-Q" y "P'-Q'" normalmente, para varias modalidades preferidas mostradas en los ejemplos más adelante aquí, intervalo entre aproximadamente 200 voltios y aproximadamente 4,500 voltios. Sin embargo, voltajes más altos y más bajos pueden trabajar con muchas de las modalidades descritas aquí. En los ejemplos 1-4 más adelante aquí, se han determinado voltajes objetivo deseables para cada conjunto de electrodos 1 y/o 5 en cada posición a lo largo de un miembro de conducto 30. Estos voltajes objetivo deseables se consiguen como voltajes aplicados actuales, utilizando, por ejemplo, el control de circuito que se muestra en las figuras 17G, 17H y 17I. Estas figuras 17G y 17H se refieren a conjuntos de relés controlados por un montaje de circuito Velleman K8056 (que tienen un microchip PIC16F630-I/P). En particular, un voltaje se detecta a través de ya sea ubicaciones "P-Q" o la "P"-Q" y dicho voltaje se compara con un voltaje de referencia predeterminado (actualmente comparado con un intervalo de voltaje objetivo). Si un voltaje medido a través de, por ejemplo, los puntos "P Q" se aproxima a un extremo alto de un intervalo objetivo de voltaje predeterminado, entonces, por ejemplo, el montaje de circuito Velleman K8056 provoca un servo-motor 21 (con referencia específica a la figura 17F) para girar en dirección del sentido del reloj para disminuir el electrodo 5a hacia y/o en el fluido 3. Por el contrario, podría un voltaje medido a través de cualquiera de los puntos "P-Q" o "P"-Q" aproximarse a un extremo inferior de un voltaje objetivo, entonces, por ejemplo, otra vez con referencia a la figura 17F, el motor servidor 21a causará que la rueda de dirección 23a gire en una posición en sentido contrario a las manecillas del reloj con lo cual eleva el electrodo 5a relativo al fluido 3.

Cada conjunto de electrodos en los ejemplos 1-4 de la invención tiene un intervalo de voltaje objetivo establecido. El tamaño o magnitud del intervalo aceptable varía en función de una cantidad entre aproximadamente 1% y 10%-15% del voltaje objetivo. Algunas modalidades de la invención son más sensibles a los cambios de voltaje y estas modalidades deben tener, por lo general, intervalos de voltaje aceptables más pequeños; mientras otras modalidades de la invención son menos sensibles al voltaje y deben tener, por lo general, mayores intervalos aceptables. En consecuencia, utilizando el diagrama del circuito mostrado en la figura 17J, salida de voltajes actuales de la bobina secundaria 603 del transformador 60 se miden en "R_L" (a través de las terminales "P-Q" y "P"-Q") y, a continuación, se comparan con los intervalos de voltaje predeterminados. El servo-motor 21 responde haciendo girar una cantidad predeterminada en dirección a las manecillas del reloj o una dirección contraria a las manecillas del reloj, según sea necesario. Además, con referencia específica a las figuras 17G-17J, se debe notar que un procedimiento de interrogación se produce de manera secuencial al determinar el voltaje de cada electrodo, ajuste de altura (si es necesario) y, a continuación, proceder al siguiente electrodo. En otras palabras, cada transformador 60 está conectado eléctricamente una manera mostrada en la figura 17J. Cada transformador 60 y puntos de medición asociados "P-Q" y "P"-Q" están conectados a un relé individual. Por ejemplo, los puntos "P Q" corresponden al número de relés 501 en la figura 17G y los puntos "P'-Q'" corresponden al relé 502 en la figura 17G. En consecuencia, dos relés son requeridos para cada transformador 60. Cada relé, 501, 502, etc., secuencialmente interroga un primer voltaje de salida de una primera pata de una bobina secundaria 603 y luego un segundo voltaje de salida de una segunda pata de la bobina secundaria 603; y dicha interrogación continúa en un primer voltaje de salida de un segundo transformador 60b en una primera pata de su bobina secundaria 603 y luego a una segunda pata de la bobina secundaria 603 y así sucesivamente.

La computadora o control lógico para las técnicas de ajuste de voltaje de interrogación descritas se consiguen por cualquier programa convencional o controlador, incluyendo, por ejemplo, en una modalidad preferida, etapas de programación de visual basic estándar en una PC. Tales pasos de programación incluyen interrogación, lectura, comparación y envío de un símbolo de activación apropiado para aumentar o disminuir el voltaje (por ejemplo, subir o bajar un electrodo relativo a la superficie 2 del líquido 3). Estas técnicas se deben entender por una persona con experiencia ordinaria en la técnica.

Además, en otra modalidad preferida de la invención utilizada en el ejemplo 16 para el conjunto de electrodos 5/5', los dispositivos de control automáticos 20 están controlados por los circuitos eléctricos de figuras 17H, 17I, 17K y 17L. En particular, el circuito eléctrico de la figura 17I es un circuito de monitoreo de voltaje usado para medir la corriente. En este caso, voltaje y corriente son el mismo valor numérico debido a la elección de una resistencia (discutida más adelante aquí). Específicamente, la salida de voltaje de cada uno de los transformadores 50 son monitoreados por los puntos "P-Q" y los puntos "P"-Q". Específicamente, el resistor denota por "R_L" corresponde a la resistencia interna del dispositivo de medición multi-dosificador (no mostrado). Los voltajes de salida se miden entre los puntos "P-Q" y "P"-Q" normalmente, para varias modalidades preferidas mostradas en los ejemplos más adelante en este documento, varían entre aproximadamente 0.05 voltios y aproximadamente 5 voltios. Sin embargo, voltajes superiores e inferiores pueden trabajar con muchas de las modalidades descritas aquí. Voltajes objetivo deseables se han determinado para cada electrodo 5/5' en cada posición a lo largo del miembro de conducto 30b'. Estos voltajes objetivo deseables se consiguen como voltajes aplicados actuales, utilizando, por ejemplo, el control de circuito que se muestra en las figuras 17H, 17I, 17K y 17L. Estas figuras 17A-17N se refieren a conjuntos de relés controlados por un montaje de circuito Velleman K8056 (que tienen un micro-chip PIC16F630-I/P).

En particular, en las modalidades del ejemplo 16 el servo-motor 21 está preparado para girar en un tiempo predeterminado específico a fin de mantener un perfil de electrodo deseable 5. El servo-motor 21 responde haciendo girar una cantidad predeterminada en un sentido de las manecillas del reloj. Específicamente el servo-motor 21 rota

una cantidad suficiente tal que aproximadamente .009 pulgadas (.229mm) del electrodo 5 avanza hacia y en la porción de receptor hembra o5 (que se muestra, por ejemplo en algunas de las figuras 20A-20H y 21A-21G). Así, el electrodo 5 avanza progresivamente a través del líquido 3. En una modalidad preferida discutida aquí, tal movimiento de electrodo 5 se produce aproximadamente cada 5.8 minutos. En consecuencia, la velocidad de movimiento vertical de cada electrodo 5 en la porción del receptor hembra o5 es aproximadamente 3/4 pulgadas (aproximadamente 1.9 cm) cada 8 horas. En consecuencia, una forma o perfil del electrodo constante sustancialmente 5 se mantiene por su avance constante o progresivo en y a través del líquido 3. Además, una vez que el avance final del electrodo 5 llega al extremo longitudinal de la porción del receptor humano o5, el electrodo 5 puede eliminarse desde el aparato de procesamiento. Alternativamente, un electrodo que colecta medios para coleccionar la porción "usada" del electrodo se pueden proporcionar.

Tales medios para coleccionar los electrodos 5 incluyen, pero no se limitan a, un dispositivo de bobinado o enrollado, y porción extendida o5, dispositivo de recorte o corte de alambre etc. Sin embargo, a fin de lograr perfiles de corriente/voltaje diferentes (y por lo tanto una variedad de diferentes tamaños y/o formas de nanocrystal, otras velocidades de movimiento de electrodo son también dentro de los límites y medidas de esta invención.

Además, con referencia específica a las figuras 17H, 17I, 17K y 17L, se debe notar que un procedimiento de interrogación se produce secuencialmente mediante la determinación del voltaje de cada electrodo, que en las modalidades del ejemplo 16, son equivalentes a los amps porque en la figura 17I las resistencias Ra y Rb son aproximadamente 1 ohm, en consecuencia, $V = I$. En otras palabras, cada transformador 50 está conectado eléctricamente en una manera mostrada en 17H, 17I, 17K y 17L. Cada transformador 50 y puntos de medición asociados "P-Q" y "P'-Q'" están conectados a dos relés individuales. Por ejemplo, los puntos "P-Q" corresponden al número de relé 501 y 501' en la figura 17K y los puntos "P'-Q'" corresponden al relé 502, 502' en la figura 17K. En consecuencia, relés son necesarios para cada conjunto de electrodos 5/5. Cada relé, 501/501' y 502/502', etc., interroga secuencialmente el voltaje de salida del transformador 50 y luego un segunda voltaje del mismo transformador 50 y así sucesivamente.

La computadora o control lógico para técnicas de ajuste de altura de electrodo descrito se consiguen por cualquier programa convencional o controlador, incluyendo, por ejemplo, en una modalidad preferida, pasos de programación de visual basic estándar utilizadas en una PC. Tales pasos de programación incluyen lectura y envío de un símbolo apropiado de activación para bajar un electrodo relativo a la superficie 2 del líquido 3. Estas técnicas se deben entender por una persona con experiencia ordinaria e la técnica.

DEFINICIONES

Para propósitos de la presente invención, los términos y expresiones siguientes, que aparecen en la especificación y reivindicaciones, pretenden tener los siguientes significados:

"Carbómero", como se usa aquí en el ejemplo 23, significa una clase de polímeros de ácido poliacrílico entrelazado derivado sintéticamente que proveen modificación reológica eficiente con auto-humectación incrementada para fácil uso. En general, una mezcla de carbómero/solvente se neutraliza con una base tal como trietanolamina o hidróxido de sodio para abrir completamente el polímero para lograr el engrosamiento, suspensión, y propiedades de estabilización de emulsión adecuadas para hacer cremas o geles.

"Sustancialmente limpio", como se usa aquí debe entenderse cuando se usa para describir medios de superficies de nanocristales que los nanocristales no han tenido de constituyentes químicos adheridos o unidos a sus superficies de dicha cantidad que alteraría materialmente el funcionamiento del nanocrystal en al menos una de sus propiedades importantes de los nanocristales de oro explicados en los ejemplos aquí. Alternativamente, el nanocrystal de oro no tiene una capa, superficie o película que cubre una porción significante (por ejemplo, al menos 25% del cristal, o en otra modalidad al menos 50% del cristal). También puede significar que las superficies de nanocrystal son completamente libres de cualquiera de los contaminantes orgánicos que materialmente cambian su funcionalidad sobre las superficies de cristal de oro desnudo. Debe entenderse que componentes incidentales que son causados a adheridos a nanocristales de la invención y no afectan negativamente o materialmente el funcionamiento de los nanocristales inventivos, deben considerarse que están dentro de los límites y medidas de la invención. El término también debe entenderse que un término relativo que hace referencia a la falta de moléculas basadas en orgánicas tradicionales (es decir, aquellas que se utilizan en las técnicas tradicionales de reducción química) en las superficies de los nanocristales cultivados de la invención.

Una "cantidad efectiva diagnosticada" como se usa aquí, significa una cantidad suficiente para unir a MIF para permitir la detección del complejo de compuesto MIF tal que el diagnóstico de una enfermedad o condición es posible.

Una "cantidad efectiva" como se usa aquí, significa una cierta cantidad de solución o compuesto que, cuando se administran de acuerdo con, por ejemplo, un régimen de dosificación deseado, proporciona la inhibición de citoquina MIF deseada o tratamiento o actividad terapéutica, o prevención de enfermedad/condición o vías de señalización MIF. La dosificación puede ocurrir en intervalos de minutos, horas, días, semanas, meses o años o continuamente a

través de cualquiera de estos períodos.

Como se usa aquí, "privilegio inmune" se refiere a un área o sitio dentro de un sistema de vida (por ejemplo, un cuerpo) que tolera la presencia de un antígeno que normalmente provoca una respuesta del sistema inmune (por ejemplo, una respuesta inmune inflamatoria).

El término "que recubre operablemente" un stent significa un recubrimiento de un stent en una forma que permite la liberación oportuna de los nanocristales de base metálica inventivos (por ejemplo, comprendiendo metal basado en oro acuoso y/o mezclas de oro y otros metales y/o aleaciones de oro con otros metales en el tejido circundante que se tratan una vez con el stent recubierto se administra.

Como se utiliza aquí, el término "potenciador de procesamiento" o "potenciado de procesamiento" o "potenciador de procedimiento" significa por lo menos un material (por ejemplo, sólido, líquido y/o gas) y normalmente significa un material inorgánico, cuyo material no enlaza significativamente a los nanocristales formados, pero más bien facilita la nucleación y/o crecimiento durante un procedimiento de crecimiento estimulado por electroquímica. El material sirve funciones importantes en el procedimiento, que incluye proporcionar iones cargados en la solución electroquímica para permitir a los cristales cultivarse. El potenciador de procedimiento es críticamente compuestos cuando quedan en solución, y/o no forman un recubrimiento (en una modalidad un recubrimiento orgánico), y/o no afecta negativamente a los nanocristales formados o las suspensiones formadas, y/o se destruyen, evaporan, o de lo contrario se pierden durante el procedimiento de crecimiento de cristal electroquímica.

El término "reducción de esteroide" como se usa aquí, significa proporcionar un material distinto de un esteroide en una terapia de combinación que reduce la cantidad de esteroides necesarios para ser efectivos para el tratamiento/prevenición de una indicación.

La frase "miembro de conducto" como se usa aquí debe entenderse como que significa una gran variedad de dispositivos de manejo de fluido que incluyen, tuberías, semi-tuberías, canales o ranuras que existen en materiales u objetos, conductos, ductos, tuberías, tolvas, mangueras y/o manguito de acoplamiento, mientras son compatibles con procedimientos electroquímicos descritos aquí.

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar ciertas modalidades de la invención, pero no deben interpretarse como limitación del alcance de la descripción como se define en las reivindicaciones anexadas.

Ejemplos 1-4

Fabricación de soluciones de nanopartículas/nanopartícula basados en oro GT032, GT031, GT019 y GT033

En general, cada uno de los ejemplos 1-4 utiliza ciertas modalidades de la invención asociadas con aparatos que generalmente se muestran en las figuras 16B, 16C y 16G. Diferencias específicas en el procesamiento y aparato serán evidentes en cada ejemplo. El miembro de conducto 30 se hace de plexiglás, todo de los cuales tienen un grosor de aproximadamente 3 mm-4 mm (aproximadamente 1/8"). La estructura de soporte 34 también se hace de plexiglás que es aproximadamente 1/4" de grosor (aproximadamente 6-7 mm). La forma en sección transversal del miembro de conducto 30 corresponde a esa forma mostrada en la figura 10B (es decir, una "V" truncada). La porción de base "R" de la "V" truncada mide aproximadamente 0.5" (aproximadamente 1 cm), y cada porción lateral "S", "S" mide aproximadamente 1.5" (aproximadamente 3.75 cm). La distancia "M" que separa las porciones laterales "S", "S" del miembro de conducto en forma de V 30 es aproximadamente 2 1/4" - 2 5/16" (aproximadamente 5.9 cm) (medido desde dentro a dentro). El grosor de cada porción también mide aproximadamente 1/8" (aproximadamente 3 mm) de grosor. La longitud longitudinal "Lt" (se refiere a la figura 11A) del miembro de conducto en forma de V 30 miden aproximadamente 6 pies (aproximadamente 2 metros) de largo desde el punto 31 al punto 32. La diferencia de altura vertical del extremo 31 del miembro de conducto 30 hacia el extremo 32 es aproximadamente 1/4-1/2" (aproximadamente 6-12.7 mm) sobre su longitud de 6 pies (aproximadamente 2 metros) (es decir, menos de 1°).

Agua purificada (discutida más adelante aquí) se utiliza como líquido de entrada en el ejemplo 1. En ejemplos 2-4, un potenciador de procesamiento se añade al líquido 3 que se introduce en el miembro de conducto 30. El potenciador de procesamiento específico añadido, así como las cantidades específicas de los mismos, son efectivos en estos ejemplos. Sin embargo, otros potenciadores de procesamiento y las cantidades de los mismos, debe considerarse dentro de los límites y medidas de esta descripción y estos ejemplos específicos no deben considerarse como limitantes del alcance de la invención. La profundidad "d" (referido en la figura 10B) del agua 3 en el miembro de conducto en forma de V 30 es aproximadamente 7/16" a aproximadamente 1/2" (aproximadamente 11 mm hasta aproximadamente 13 mm) en varios puntos a lo largo del miembro de conducto 30. La profundidad "d" es parcialmente controlada mediante el uso de dique 80 (mostrado en las figuras 15A y 15B). Específicamente, el dique 80 se proporciona cerca del extremo 32 y ayuda a crear la profundidad "d" (mostrada en la figura 10B) que es aproximadamente 7/6" - 1/2" (aproximadamente 11-13 mm) de profundidad. La altura "j" del dique 80 mide aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6 mm) y la longitud longitudinal "k" mide aproximadamente 1/2" (aproximadamente 13 mm). El ancho (no mostrado) es completamente a través de la dimensión inferior "R" del miembro de conducto 30. En consecuencia, el volumen total de agua 3 en el miembro de conducto en forma de V 30

durante su funcionamiento es aproximadamente 26 in^2 (aproximadamente 430 ml).

La velocidad de flujo del agua 3 en el miembro de conducto 30 es aproximadamente 90 ml/minuto. Debido a alguna evaporación dentro del miembro de conducto 30, el flujo fuera del miembro de conducto 30 es ligeramente menor, aproximadamente 60-70 ml/minuto. Dicho flujo de agua 3 en el miembro de conducto 30 se obtiene mediante la utilización de una dirección de bomba L/S Masterflex® 40 proporciona 0.1 caballos de fuerza, 10-600 rpm. El número de modelo de la bomba Masterflex® 40 es 77300-40. La dirección de bomba tiene un cabezal de bomba también hecha por Masterflex® conocida como fácil-carga modelo No. 7518-10. En términos generales, el cabezal de la bomba 40 se conoce como un cabezal peristáltico. La bomba de 40 y el cabezal se controlan por una dirección modular digital Masterflex® LS. El número de modelo para la dirección modular digital es 77300-80. Los establecimientos precisos en la dirección modular digital son, por ejemplo, 90 mililitros por minuto. Tubería Tygon® que tiene un diámetro de 1/4" (es decir, tamaño 06419-25) se colocan en el cabezal peristáltico. La tubería es hecha por Saint Gobain para Masterflex®. Un extremo de la tubería se suministra a un primer extremo 31 del miembro de conducto 30 por un medio de difusión de flujo situado en él. Los medios de difusión de flujo tienden a minimizar la perturbación y burbujas en el agua 3 introducidos en el miembro de conducto 30 así como cualquier condición de pulso generada por la bomba peristáltica 40. En este sentido, un reservorio pequeño sirve como los medios de difusión y se proporciona en un punto verticalmente por encima del extremo 31 del miembro de conducto 30 tal que cuando el reservorio se desborda, un flujo relativamente listo de agua 3 en el extremo 31 del miembro de conducto en forma de V 30 ocurre

Con respecto a las figuras 16B y 16C, 8 conjuntos de electrodos separados (conjunto 1, conjunto 2, conjunto 3, - conjunto 8) se conectados a 8 dispositivos de control separados 20. Cada uno de los cuadros 1A - 1D se refiere a cada uno de los 8 conjuntos de electrodo por "# de conjunto". Además, dentro de cualquier # de conjunto, electrodos 1 y 5, similares a los montajes de electrodo que se muestran en las figuras 3A y 3C se utilizan. Cada electrodo de conjuntos de 8 electrodos se establece para operar dentro del intervalo de voltaje objetivo específico. Voltajes objetivo actuales se enlistan en cada uno de los cuadros 1A - 1D. La distancia "c-c" (con referencia a la figura 14) de la línea central de cada conjunto de electrodos al conjunto de electrodos adyacente también está representado. Además, la distancia "x" asociada con cualquiera de los electrodos 1 utilizados también se reportan. Para cualquier electrodo 5's, ninguna distancia "x" se reporta. Otras distancias relevantes se reportan, por ejemplo, en cada uno de los cuadros 1A-ID.

La fuente de alimentación para cada conjunto de electrodo fue un transformador AC 60. Específicamente, la figura 16D muestra una fuente de alimentación de CA 62 conectada a un transformador de 60. Además, se proporciona un capacitor 61 que, por ejemplo, pueden ajustar los factores de pérdida en el circuito. La salida del transformador 60 está conectada a los electrodos 1/5, a través del dispositivo de control 20. Un transformador preferido para su uso con la invención presente es uno que utiliza la corriente alterna que fluye en una bobina primaria 601 para establecer un flujo magnético alterno en un núcleo 602 que conduce fácilmente el flujo.

Cuando una bobina secundaria 603 está situada cerca de la bobina primaria 601 y núcleo 602, este flujo vinculará la bobina secundaria 603 con la bobina primaria 601. Esta vinculación de la bobina secundaria 603 induce un voltaje a través de las terminales secundarias. La magnitud del voltaje en las terminales secundarias está relacionada directamente a la relación de las vueltas de la bobina secundaria hacia las vueltas de la bobina primaria. Más vueltas en la bobina secundaria 603 que en la bobina primaria 601 resulta en una etapa en voltaje, mientras algunas vueltas resultan en una etapa debajo del voltaje.

Transformadores preferidos 60 para su uso en estos ejemplos tienen regulación de voltaje de salida deliberadamente pobre que hace posible mediante el uso de derivaciones magnéticas en el transformador 60. Estos transformadores 60 son conocidos como transformadores de señal de neón. Esta configuración limita el flujo de corriente en los electrodos 1/5. Con un gran cambio en el voltaje de carga de salida, el transformador 60 mantiene la corriente de carga de salida dentro de un intervalo relativamente estrecho.

El transformador 60 es valorado por su voltaje de circuito abierto secundario y corriente de circuito corto secundario. Voltaje de circuito abierto (OCV) aparece en las terminales de salida del transformador 60 sólo cuando ninguna conexión eléctrica está presente. Asimismo, la corriente de corto circuito sólo proviene las terminales de salida si se coloca un corto a través de las terminales (en cuyo caso el voltaje de salida es igual a cero). Sin embargo, cuando una carga se conecta a través de estas mismas terminales, el voltaje de salida del transformador 60 debería caer en algún lugar entre cero y la OCV nominal. De hecho, si el transformador 60 está cargado correctamente, este voltaje será aproximadamente la mitad de OCV clasificado.

El transformador 60 es conocido como un diseño referenciado de punto medio balanceado (por ejemplo, también conocido formalmente como punto medio balanceado conectado a tierra). Esto es más comúnmente encontrado en transformadores clasificados de voltajes medios a más altos y la mayoría transformadores de 60 mA. Este es el único transformador de tipo aceptable en un sistema de "cableado de retorno de punto medio". El transformador "balanceado" 60 tiene una bobina primaria 601 con dos bobinas secundarias 603, una en cada lado de la bobina primaria 601 (como se muestra generalmente en la vista esquemática en la figura 16G). Este transformador 60 puede realizar de muchas maneras como dos transformadores. Justo en el núcleo referenciado de punto medio no

balanceado y bobina, un extremo de cada bobina secundaria 603 está conectado al núcleo 602 y posteriormente al recinto del transformador y el otro extremo de la bobina secundaria 603 está conectado a un cable de salida o terminal. Así, con ningún conector presente, un transformador descargado de 15,000 voltios de este tipo, medirá aproximadamente 7,500 voltios desde cada terminal secundaria hacia el recinto de transformador pero medirá aproximadamente 15,000 voltios entre las dos terminales de salida.

En circuitos de corriente alterna (AC) que poseen un factor de energía de línea o 1 (o 100%), el voltaje y corriente cada uno empieza en cero, eleva a una cresta, caen a cero, van a una cresta negativa y vuelven a cero. Esto completa un ciclo de una onda senoidal típica. Esto ocurre 60 veces por segundo en una solicitud típica de E.U.A. Así, un voltaje o corriente tiene una "frecuencia" característica de 60 ciclos por segundo (o 60 Hertz) de energía. Factor de energía se refiere a la posición de la forma de onda de voltaje relativo a la forma de onda de corriente. Cuando ambas formas de onda que pasan a través de cero junto con sus crestas están juntas, están en fase y el factor de energía es 1 o 100%. Figura 16H muestra dos formas de onda "V" (voltaje) y "C" (corriente) que están en fase entre sí y tienen un factor de energía de 1 o 100%; con lo cual la figura 16I muestra dos formas de onda "V" (voltaje) y "C" (corriente) que están fuera de fase entre sí y tienen un factor de energía de aproximadamente 60%; ambas formas de onda no pasan por cero al mismo tiempo, etc. Las formas de onda están fuera de fase y su factor de energía es menos de 100%.

El factor de energía normal de la mayoría de dichos transformadores 60 es en gran medida debido al efecto de las derivaciones magnéticas 604 y la bobina secundaria 603, que efectivamente agrega un inductor en la salida del circuito de transformador 60 para limitar la corriente a los electrodos 1/5. El factor de energía puede aumentarse a un factor de energía más alto mediante el uso de capacitores 61 colocados a través de la bobina primaria 601 del transformador, 60 que traen el voltaje de entrada y ondas actuales más en fase.

El voltaje no cargado de cualquier transformador 60 para ser utilizado en la presente invención es importante, así como su estructura interna. Transformadores descargados deseables para su uso en la presente invención incluyen aquellos que son alrededor de 9,000 voltios, 10,000 voltios, 12,000 voltios y 15,000 voltios. Sin embargo, estas mediciones de transformador de voltios descargados particulares no deben considerarse como limitantes de las fuentes de energía aceptables de alcance como modalidades adicionales. Un transformador deseable específico para su uso en estos ejemplos se realiza por Franceformer, catálogo No. 9060-P-E que opera en: primariamente 120 voltios, 60 Hz; y secundariamente 9,000 voltios, 60 mA.

Figuras 16E y 16F muestran una modalidad alternativa de la invención (es decir, no se utilizan en este ejemplo), en donde la salida del transformador 60 que se introduce en los montajes de electrodo 1/5 ha sido rectificadas por un montaje de diodo 63 o 63'. El resultado, en general, es que una onda de AC se convierte en sustancialmente similar a una onda de DC. En otras palabras, una salida de DC de línea casi plana resulta (actualmente un pulso de 120 Hz ligero puede algunas veces ser obtenido). Este montaje particular resulta en dos modalidades preferidas adicionales de la invención (por ejemplo, sobre la orientación del electrodo). En este sentido, una terminal sustancialmente positiva o salida y terminal sustancialmente negativa o salida se genera del montaje de diodo 63. Una polaridad opuesta se logra por el montaje de diodo 63'. Dichas salidas positivas y negativas pueden ser introducidas en cualquiera de los electrodos 1 y/o 5. En consecuencia, un electrodo 1 puede ser sustancialmente negativo o sustancialmente positivo; y/o un electrodo 5 puede ser sustancialmente negativo y/o sustancialmente positivo.

Figura 16J muestra 8 montajes de transformador separado 60A-60H cada uno de los cuales está conectado a un dispositivo de control correspondiente 20A-20H, respectivamente. Este conjunto de transformadores 60 y dispositivos de control 20 son utilizados en estos ejemplos 1-4.

Figura 16K muestra 8 transformadores separados 60A-60H, cada uno de los cuales corresponde al diagrama de transformador rectificado mostrado en la figura 16E. Este montaje de transformador también se comunica con un conjunto de dispositivos de control 20A-20H y puede utilizarse como una modalidad preferida de la invención, aunque no se utilizado en estos ejemplos.

Figura 16L muestra 8 transformadores separados 60A"-60H", cada uno de los cuales corresponde al diagrama de transformador rectificado mostrado en la figura 16F. Este montaje de transformador también se comunica con un conjunto de dispositivos de control 20A-20H y puede utilizarse como una modalidad preferida de la invención, aunque no se utilizado en estos ejemplos.

En consecuencia, cada montaje de transformador 60A-60H (y/o 60A-60H; y/o 60A"-60H") puede ser el mismo transformador, o puede ser una combinación de diferentes transformadores (así como polaridades diferentes). La elección del transformador, factor de energía, capacitores 61, polaridad, diseños de electrodo, ubicación de electrodo, composición de electrodo, formas en sección transversal del miembro de conducto 30, composición de electrodo local o global, atmosferas, velocidad de flujo de líquido 3 local o global, componentes locales de líquido 3, volumen de líquido 3 localmente sujetado a varios campos en el miembro de conducto 30, conjuntos de electrodos cercanos (por ejemplo, tanto corriente arriba y corriente abajo), las concentraciones de campo local, el uso y/o posición y/o composición de cualquier membrana utilizada en el miembro de conducto, etc., son todos factores que influyen en condiciones de procesamiento así como composición y/o volumen de constituyentes producidos en el

ES 2 623 504 T3

líquido 3, nanocristales y nanocristal/suspensiones o coloides hechos de acuerdo con las diversas modalidades descritas aquí. En consecuencia, una plétora de modalidades se puede practicar de acuerdo con la descripción detallada presentada aquí.

- 5 El tamaño y forma de cada electrodo 1 utilizado es aproximadamente el mismo. La forma de cada electrodo 1 es que de un triángulo derecho con mediciones de aproximadamente 14 mm x 23 mm x 27 mm. El grosor de cada electrodo 1 es aproximadamente 1mm. Cada electrodo en forma triangular 1 también tiene un orificio a través de su porción de base, que permite el punto formado por los lados de 23 mm y 27 mm para señalar hacia la superficie 2 del agua 3. El material que comprende cada electrodo 1 es 99.95% puro (es decir, 3N5) a menos que se indique lo contrario aquí.
- 10 Cuando el oro se usa para cada electrodo 1, el peso de cada electrodo es aproximadamente 9 gramos.

Los alambres utilizados para conectar el electrodo en forma triangular 1 para el transformador 60, para ejemplos 1-3, 99.95% (3N5) de alambre de platino, que tiene un diámetro de aproximadamente 1 mm.

- 15 Los alambres utilizados para cada electrodo 5 comprenden oro 99.95% puro (3N5) cada uno que tiene un diámetro de aproximadamente 0.5 mm. Todos los materiales de los electrodos 1/5 se obtienen de ESPI que tiene una dirección de 1050 Benson Way, Ashland, Oregon 97520.

- 20 El agua 3 utilizada en el ejemplo 1 como una entrada en el miembro de conducto 30 (y se utiliza en los ejemplos 2-4 en combinación con un potenciador de procesamiento) se produce por un procedimiento de ósmosis inversa y procedimiento de desionización. En esencia, la ósmosis inversa (RO) es un procedimiento de separación de membrana de dirección de presión que separa especies que son sustancias disueltas y/o suspendidas de aguas subterráneas. Se llama ósmosis "inversa" debido a que presión se aplica para invertir el flujo natural de ósmosis (que busca un equilibrio entre la concentración de materiales en ambos lados de la membrana). La presión aplicada obliga al agua a través de la membrana dejando los contaminantes en un lado de la membrana y el agua purificada en el otro. La membrana de ósmosis inversa utiliza varias capas delgadas u hojas de película que están enlazadas juntas y enrolladas en una configuración en espiral alrededor de un tubo de plástico. (Esto también es conocido como un compuesto mixto de película fina o membrana TFC.) Además de la remoción de especies disueltas, la membrana RO separa también fuera materiales suspendidos que incluyen microorganismos que pueden estar presentes en el agua. Después del procesamiento de RO un filtro de desionización de lecho mixto se usa. Los solventes disueltos totales ("TDS") después ambos tratamientos es de aproximadamente 0.2 ppm, como se mide por un medidor de pH/conductividad Accumet ® AR20.
- 25
- 30

- 35 Estos ejemplos utilizan electrodos de oro para los 8 conjuntos de electrodos. En este sentido, cuadros 1A-1D exponen parámetros de operación pertinentes asociados con cada uno de los 16 electrodos en los 8 conjuntos de electrodos utilizados para hacer suspensiones de nanocristales/nanocristal basadas en oro.

Cuadro 1a

Agua de entrada fría

Corrida ID: GT032 Velocidad de flujo: 90 ml/min Diám. de alambre: 0.5 mm Configuración: recta/recta PPM: 0.4 Zeta: n/a							
# de conjunto	# de electrodo	Voltaje objetivo (kV)	Distancia "c-c" in/mm	Distancia "x" in/mm	Voltaje promedio (kV)		
1	1a	1.6113	7/177.8*	0.22/5.59	1.65		
	5a	0.8621			N/A	0.84	
2	5b	0.4137	8/203.2	N/A	0.39		
	5b'	0.7679			N/A	0.76	
3	5c	0.491	8/203.2	N/A	0.49		
	5c'	0.4816			N/A	0.48	
4	1d	0.4579	8/203.2	N/A	0.45		
	5d'	0.6435			N/A	0.6	
5	5e	0.6893	9/228.6	N/A	0.67		
	5e'	0.2718			N/A	0.26	
			8/203.2				

ES 2 623 504 T3

6	5f 5f'	0.4327 0.2993		N/A N/A	0.43 0.3
7	5g 5g'	0.4691 0.4644	8/203.2	N/A N/A	0.43 0.46
8	5h 5h'	0.3494 0.6302	8/203.2** Temperatura de agua de salida	N/A N/A	0.33 0.61 65C
* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos					
** Distancia del centro del último conjunto de electrodo a la salida de agua					

Cuadro 1b
0.0383 mg/ml de NaHCO₃ (Au)

Corrida ID: GT031 Velocidad de flujo: 90 ml/min NaHCO ₃ : 0.038 mg/ml Diám. de alambre: 0.5 mm Configuración: recta/recta PPM: 1.5 Zeta: n/a							
# de conjunto	# de electrodo	Voltaje objetivo (kV)	Distancia in/mm "c-c"	Distancia in/mm "x"	Voltaje promedio (kV)		
1	1a 5a	1.7053 1.1484	7/177.8*	0.22/5.59 N/A	1.69 1.13		
2	5b 5b'	0.6364 0.9287	8/203.2	N/A N/A	0.63 0.92		
3	5c 5c'	0.7018 0.6275	8/203.2	N/A N/A	0.71 0.62		
4	5d 5d'	0.6798 0.7497	8/203.2	N/A N/A	0.68 0.75		
5	5e 5e'	0.8364 0.4474	9/228.6	N/A N/A	0.85 0.45		
6	5f 5f'	0.5823 0.4693	8/203.2	N/A N/A	0.59 0.47		
7	5g 5g'	0.609 0.5861	8/203.2	N/A N/A	0.61 0.59		
8	5h 5h'	0.4756 0.7564	8/203.2** Temperatura de agua de salida	N/A N/A	0.48 0.76 64C		
* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos							
** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua							

ES 2 623 504 T3

Cuadro 1c

0.045 mg/ml de NaCl (Au)

Corrida ID: GT019
Velocidad de flujo: 90 ml/min

NaCl: 0.045 mg/ml
Diám. de alambre: 0.5 mm
Configuración: recta/recta
PPM: 6.1
Zeta: n/a

# de conjunto	# de electrodo	Voltaje objetivo (kV)	Distancia "c-c" in/mm	Distancia "x" in/mm	Voltaje promedio (kV)
1	1a	1.4105	7/177.8*	0.22/5.59	1.41
	5a	0.8372		N/A	0.87
2	5b	0.3244	8/203.2	N/A	0.36
	5b'	0.4856		N/A	0.65
3	5c	0.3504	8/203.2	N/A	0.37
	5c'	0.3147		N/A	0.36
4	5d	0.3526	8/203.2	N/A	0.37
	5d'	0.4539		N/A	0.5
5	5e	0.5811	9/228.6	N/A	0.6
	5e'	0.2471		N/A	0.27
6	5f	0.3624	8/203.2	N/A	0.38
	5f'	0.2905		N/A	0.31
7	5g	0.3387	8/203.2	N/A	0.36
	5g'	0.3015		N/A	0.33
8	5h	0.2995	8/203.2**	N/A	0.33
	5h'	0.5442		N/A	0.57

* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos

** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua

77 C

Cuadro 1d

0.038 mg/ml de NaHCO ₃ (Au)					
Corrida ID: GT033 Velocidad de flujo: 90 ml/min					
NaHCO ₃ : 0.038 mg/ml Diám. de alambre: 0.5 mm Configuración: recta/recta PPM: 2.0 Zeta: n/a					
# de conjunto	# de electrodo	Voltaje objetivo (kV)	Distancia "c-c" in/mm	Distancia "x" in/mm	Voltaje promedio (kV)
1	1a	1.6033	7/177.8*	0.22/5.59	1.641826
	5a	1.1759		N/A	1.190259
2	5b	0.6978	8/203.2	N/A	0.727213
	5b'	0.8918		N/A	0.946323
3	5c	0.6329	8/203.2	N/A	0.795378
	5c'	0.526		N/A	0.609542
4	5d	0.609	8/203.2	N/A	0.613669
	5d'	0.6978		N/A	0.719777
5	5e	0.9551	9/228.6	N/A	0.920594
	5e'	0.5594		N/A	0.547233
6	5f	0.6905	8/203.2	N/A	0.657295
	5f'	0.5516		N/A	0.521984
7	5g	0.5741	8/203.2	N/A	0.588502
	5g'	0.5791		N/A	0.541565
8	5h	0.4661	8/203.2	N/A	0.46091
	5h'	0.7329		N/A	0.741009
			Temperatura de agua de salida		83 C
* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos					
** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua					

Cuadro 1A muestra que una configuración de electrodo de "1/5" se utiliza para el conjunto de electrodos # 1 y para conjunto de electrodos # 4, y todos los otros conjuntos son de configuración 5/5; con lo cual los cuadros 1B, 1C y 1D muestran que el conjunto de electrodos #1 es solamente el conjunto de electrodos que utilizan la configuración 1/5 y todos los otros conjuntos de la configuración 5/5.

Adicionalmente, las siguientes diferencias en la configuración de la fabricación también se utilizan.

- 10 Ejemplo 1: GT032: El agua de entrada 3 en el miembro de conducto 30 se enfría en una unidad de refrigeración hasta que alcanza una temperatura de aproximadamente 2°C y, a continuación, se bombea en el miembro de conducto 30.
- Ejemplo 2: GT031:
Un potenciador de procesamiento se añade al agua de entrada 3 antes de que el agua 3 se introduzca en el miembro de conducto 30. Específicamente, aproximadamente 0.145 gramos/galón (es decir, aproximadamente 15 38.3 mg/litro) de carbonato ácido de sodio ("sosa"), que tiene una fórmula química de NaHCO₃, se añade y se mezcla con el agua 3. La sosa se obtiene de Alfa Aesar y la sosa tiene un peso de fórmula de 84.01 y una densidad de aproximadamente 2.159 g/cm³ (es decir, choque # 14707, lote D15T043).
- 20 Ejemplo 3: GT019: Un potenciador de procesamiento se añade al agua de entrada 3 antes de que el agua 3 se introduzca en el miembro de conducto 30. Específicamente, aproximadamente 0.17 gramos/galón (es decir, aproximadamente 20 45 mg/litro) de cloruro de sodio ("sal"), que tiene una fórmula química de NaCl, se añade y se mezcla con el agua 3.
- Ejemplo 4: GT033: Un potenciador de procesamiento se añade al agua de entrada 3 antes de que el agua 3 se introduzca en el miembro de conducto 30. Específicamente, aproximadamente 0.145 gramos/galón (es decir, 25 aproximadamente 38.3 mg/litro) de carbonato ácido de sodio ("sosa"), que tiene una fórmula química de

NaHCO₃, se añade y se mezcla con el agua 3. La sosa se obtiene de Alfa Aesar y la sosa tiene un peso de fórmula de 84.01 y una densidad de aproximadamente 2.159 g/cm³ (es decir, choque # 14707, lote D15T043). Una fotomicrografía TEM representativa de solución seca GT033 se muestra en la figura 32A. También, las figuras 32B y 32C muestran datos de dispersión de luz dinámica (es decir, radios hidrodinámicos) de suspensión GT033.

La sal utilizada en el ejemplo 3 se obtiene de Fisher Scientific (lote # 080787) y la sal tiene un peso de fórmula de 58.44 y un análisis actual como sigue:

Ensayo	100%
Bario (BA)	Prueba de paso
Bromuro	< 0.010%
Calcio	0.0002%
Clorato y nitrato	< 0.0003%
Metales pesados (AS PB)	< 5.0 ppm
Identificación	Prueba de paso
agua insoluble	< 0.001%
Yoduro	0.0020%
Hierro (FE)	< 2.0 ppm
Magnesio	< 0.0005%
Ph 5% de soln °25 grad C	5.9
Fosfato (PO4)	< 5.0 ppm
Potasio (K)	< 0.003%
Sulfato (SO4)	< 0.0040%

Cuadro 1E resume los resultados de características físicas para cada una de las tres suspensiones GT032, GT031 y GT019. Caracterización completa de GT019 no se completa, sin embargo, está claro que bajo las condiciones de procesamiento discutidas aquí, ambos potenciadores de procesamiento (es decir, sosa y sal) aumentan la medida de ppm de oro en las suspensiones GT031 y GT019 relativa a GT032.

Cuadro 1e

	PPM	Potencial Zeta (Avg)	pH	DLS % de transmisión	Pico de distribución de masa DLS predominante (radio en nm)	Color de suspensión
GT032	0.4	-19.30	3.29	11.7%	3.80	Claro
GT031	1.5	-29.00	5.66	17.0%	0.78	Morado
GT019	6.1	**	**	**	**	Rosa
GT033	2.0	**	**	30%	**	Rosa
** Valores no medidos						

Ejemplos 5-7

Fabricación de suspensiones nanocristales/nanocristal basado en oro GD-007, GD-016 y GD-015

En general, cada uno de los ejemplos 5-7 utiliza ciertas modalidades de la invención asociadas con los aparatos generalmente mostrados en las figuras 17B, 18A, 19A y 21A. Diferencias específicas en el procesamiento y el aparato serán evidentes en cada ejemplo. Los miembros de conducto 30A y 30B se hacen de plexiglás de 1/8" (aproximadamente 3 mm) de grosor y 1/4" (aproximadamente 6 mm) de grosor de policarbonato, respectivamente. La estructura de soporte 34 también hace de plexiglás que es aproximadamente 1/4" de grosor (aproximadamente 6-7 mm de grosor). La forma en sección transversal del miembro de conducto 30A mostrado en la figura 18A corresponde a esta forma mostrada en la figura 10B (es decir, una "V" truncada). La porción de base "R" de "V" truncada mide aproximadamente 0.5" (aproximadamente 1 cm), y cada porción lateral "S", "S'" mide aproximadamente 1.5" (aproximadamente 3.75 cm). La distancia "M" que separa las porciones laterales "S", "S'" del miembro de conducto en forma de V 30A es aproximadamente 2 1/4"-2 5/6" (aproximadamente 5.9 cm) (medido desde dentro para dentro). El grosor de cada porción también mide aproximadamente 1/8" (aproximadamente 3 mm) de grosor. La longitud longitudinal "L_r" (se refiere la figura 11A) del miembro de conducto en forma de V 30A mide aproximadamente 3 pies (aproximadamente 1 metro) de largo desde punto 31 al punto 32.

Agua purificada (discutida en otra parte aquí) se mezcla con aproximadamente 0.396 g/l de NaHCO₃ y se utiliza como el líquido 3 que entrada en el miembro de conducto 30A. Mientras que la cantidad de NaHCO₃ utilizado es efectivo, esta cantidad no debe considerarse como limitante de las medidas y límites de la invención, y otras cantidades están dentro de los límites y medidas de esta revelación. La profundidad "d" (se refiere a la figura 10B) del agua 3 en el miembro de conducto en forma de V 30A es aproximadamente 7/16" a aproximadamente 1/2" (aproximadamente 11 mm a aproximadamente 13 mm) en varios puntos a lo largo del miembro de conducto 30A. La

profundidad "d" es parcialmente controlada mediante el uso del dique 80 (mostrado en la figura 18A). Específicamente, el dique 80 se proporciona cerca al extremo 32 y ayuda en crear la profundidad "d" (mostrada en la figura 10B) para que sea aproximadamente 7/6"-1/2" (aproximadamente 11-13 mm) de profundidad. La altura "j" del dique 80 mide aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6 mm) y la longitud longitudinal "k" medida aproximadamente 1/2" (aproximadamente 13 mm). El ancho (no mostrado) es completamente a través de la dimensión inferior "R" del miembro de conducto 30A.

En consecuencia, el volumen total de agua 3 en el miembro de conducto en forma de V 30A durante su operación es aproximadamente 6.4 in³ (aproximadamente 105 ml).

La velocidad de flujo del agua 3 en el miembro de conducto 30A es aproximadamente 150 ml/minuto (nota: existe evaporación mínima en el miembro de conducto 30A). Dicho flujo de agua 3 en el miembro de conducto 30A se obtiene al utilizar una dirección de bomba 40 Masterflex® clasificada en 0.1 caballos de fuerza, 10-600 rpm. El número de modelo de la bomba Masterflex® 40 es 77300-40. La dirección de bomba tiene un cabezal de bomba también hecha por Masterflex® conocida como Easy-carga modelo No. 7518-10. En términos generales, el cabezal para la bomba 40 se conoce como un cabezal peristáltico. La bomba 40 y cabezal se controlan por una dirección modular digital Masterflex® LS. El número de modelo para la dirección modular digital es 77300-80. Por ejemplo, los establecimientos precisos en dirección modular digital son por ejemplo, 150 mililitros por minuto. Tubería Tygon® que tiene un diámetro de 1/4" (es decir, tamaño 06419-25) se coloca en el cabezal peristáltico. La tubería se hace por Saint Gobain para Masterflex®. Un extremo de la tubería se suministra a un primer extremo 31 del miembro de conducto 30A por un medio de difusión de flujo situado aquí. Los medios de difusión de flujo tienden a minimizar la perturbación y burbujas en el agua 3 introducida en el miembro de conducto 30A, así como cualquier condición de pulsación generada por la bomba peristáltica 40. En este sentido, un reservorio pequeño sirve como los medios de difusión y se proporcionan en un punto verticalmente arriba del extremo 31 del miembro de conducto 30A tal que cuando se desborda el reservorio, un flujo relativamente listo de agua 3 en el extremo 31 del miembro de conducto en forma de V 30A ocurre.

Aquí 5 conjuntos de electrodo usados en ejemplos 5-7 y un conjunto es un conjunto de electrodo único 1A/5A ubicado en el miembro de conducto 30A. El plasma 4 en el miembro de conducto 30A del electrodo 1A se crea con un electrodo 1A similar en forma a la que se muestra en la figura 5E, y pesa aproximadamente 9.2 gramos. Este electrodo es 99.95% de oro puro. El otro electrodo 5A comprende una placa de platino en forma triangular-derecha que mide aproximadamente 14 mm x 23 mm x 27 mm y aproximadamente 1 mm de grosor y que tiene aproximadamente 9 mm sumergido en el líquido 3'. El transformador de AC utilizado para crear el plasma 4 es este transformador 60 mostrado en la figura 16D y se discute en otra parte aquí. Transformadores de AC 50 (discutidos posteriormente) estaban conectados a los otros conjuntos de electrodo 5/5. Todas las otras condiciones de corrida pertinentes se muestran en los cuadros 2A, 2B y 2C.

La salida del agua condicionada, incrementada de procesamiento 3' se colecta en un reservorio 41 y posteriormente se bombea por otra bomba 40' en un segundo miembro de conducto 30B, en sustancialmente la misma velocidad como la bomba 40 (por ejemplo, la evaporación mínima ocurrida en miembro de conducto 30A). El segundo miembro de conducto 30B mide aproximadamente 30 pulgadas (76.20 cm) de largo por 1.5 pulgadas (3.81 cm) de ancho por 5.75 pulgadas (14.60cm) de alto y contiene aproximadamente 2500 ml de agua 3" aquí. Cada uno de los cuatro conjuntos de electrodos 5B, 5B'-5E, 5E' comprende 99.95% de alambre de oro puro que mide aproximadamente 0.5 mm de diámetro y aproximadamente 5 pulgadas (de unos 12 cm) de largo y es sustancialmente recto. Aproximadamente 4.25 pulgadas (aproximadamente 11 cm) de alambre se sumerge en agua 3" que es aproximadamente 4.5 pulgadas (aproximadamente 11 cm) de profundidad.

Con respecto a figuras 19A y 21A, 4 conjuntos de electrodos separados (conjunto 2, conjunto 3, conjunto 4 y conjunto 5) se unen a 2 dispositivos de transformador separados 50 y 50A, como se muestra en la figura 19A. Específicamente, transformadores 50 y 50A se conectan eléctricamente a cada conjunto de electrodos, de acuerdo con el diagrama de cableado mostrado en la figura 19A. Cada dispositivo transformador 50, 50A se conecta a una línea de entrada de AC separada que es 120° fuera de fase con respecto una con otra. Los transformadores 50 y 50A se conectan eléctricamente en una manera para no sobrecargar un circuito eléctrico sencillo y causa, por ejemplo, un interruptor de circuito corriente arriba para desencajar (por ejemplo, cuando se utiliza bajo estas condiciones, un solo transformador 50/50A puede sacar corriente suficiente para causar problemas eléctricos corriente arriba). Cada transformador 50/50A es un transformador de AC variable construido de una sola bobina/cableado de alambre. Este bobinado actúa como parte del bobinado primario y secundario. El voltaje de entrada se aplica a través de una porción fijada del bobinado. El voltaje de salida se toma entre un extremo del bobinado y otra conexión a lo largo del bobinado. Al exponer parte del bobinado y hacer la conexión secundaria que se conecta utilizando una brocha deslizante, una relación variable continuamente se puede obtener. La relación de voltajes de salida a entrada es igual a la relación del número de vuelta del bobinado conectado a esto. Específicamente, cada transformador es un regulador de voltaje Mastech TDGC2-5kVA, 11A, salida 0-250V.

Cada uno de los cuadros 2A-2C contiene la información del procesamiento en relación a cada uno de los 4 conjuntos de electrodos en miembro de conducto 30B por "# de conjunto". Cada electrodo de los 4 conjuntos de electrodos en conducto 30B se establece para operar en un voltaje objetivo específico. Voltajes de operación

ES 2 623 504 T3

actuales de aproximadamente 255 voltios, como se muestra en cada uno de los cuadros 2A-2C, se aplican a través de los conjuntos de electrodos. La distancia "c-c" (con referencia a la figura 14) de la línea central de cada conjunto de electrodos al conjunto de electrodos adyacentes también está representada. Además, la distancia "x" asociada con el electrodo 1 utilizado en conducto 30A también se reporta. Para el electrodo de 5's, ninguna distancia "x" se reporta. Otros parámetros relevantes también se reportan en cada uno de los cuadros 2A-2C.

Todos los materiales para electrodos de 1/5 se obtienen de ESPI que tienen una dirección de 1050 Benson Way, Ashland, Oregon 97520.

El agua 3 utilizada en ejemplos 5-7 se produce por un procedimiento de ósmosis inversa y desionización y se mezcla con el potenciador de procesamiento de NaHCO_3 y juntos se introducen en el miembro de conducto 30A. En esencia, la ósmosis inversa (RO) es un procedimiento de separación de membrana direccionada con presión que separa especies que son sustancias que se disuelven y/o suspenden de aguas subterráneas. Se llama ósmosis "inversa" ya que se aplica presión para invertir el flujo natural de ósmosis (que busca balancear la concentración de materiales en ambos lados de la membrana). Las fuerzas de presión aplicadas obligan al agua a través de la membrana que deja los contaminantes en un lado de la membrana y el agua purificada en el otro. La membrana de ósmosis inversa utiliza varias capas finas u hojas de película que están enlazados juntos y enrollados en una configuración en espiral alrededor de un tubo de plástico. (Esto es también conocido como un compuesto mixto de película fina o membrana TFC.) Además de la eliminación de especies disueltas, la membrana RO separa también fuera materiales suspendidos que incluyen microorganismos que pueden estar presentes en el agua. Después del procesamiento de RO un filtro de desionización de lecho mezclado se usa. Solventes disueltos totales ("TDS") después de ambos tratamientos es de 0.2 ppm, como se mide por un medidor de pH/conductividad de Accumet® AR20.

Cuadro 2a 0.396 mg/ml de NaHCO_3 (Au)

Corrida ID: GD-007

Velocidad de flujo: 150 ml/min

Voltaje: 255V

NaHCO_3 : 0.396 mg/ml

Diám. de alambre: 0.5 mm

Configuración: recta/recta

PPM: 14.8

Zeta: n/a

# de conjunto	# de electrodo	de	Distancia in/mm	"c-c"	Distancia in/mm	"x"	Voltaje	Sección transversal
1	1a		4.5/114.3*		0.25		750	V
	5a				N/A	750		
2	5b		23/584.2** 2.5/63.5*		N/A		255	
	5b'				N/A			
3	5c		8.5/215.9		N/A		255	Rectángulo 5.25" De profundidad
	5c'				N/A			
4	5d		8.5/215.9		N/A		255	
	5d'				N/A			
5	5e		8/203.2		N/A		255	
	5e'				N/A			
			2/50.8**				Temperatura de agua de salida	96C

* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos

** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua

40

ES 2 623 504 T3

Cuadro 2b
0.396 mg/ml de NaHCO₃ (Au)

5 Corrida ID: GD-016
Velocidad de flujo: 150 ml/min

10 Voltaje: 255V
NaHCO₃: 0.396 mg/ml
Diám. de alambre: 0.5 mm
Configuración: recta/recta
PPM: 12.5
Zeta: -56.12

# de conjunto	# de electrodo	de	Distancia in/mm	"c-c"	Distancia in/mm	"x"	Voltaje	Sección transversal
1	1a		4.5/114.3*		0.25		750	V
	5a				N/A	750		
2	5b		23/584.2** 2.5/63.5*		N/A		255	
	5b'				N/A			
3	5c		8.5/215.9		N/A		255	Rectángulo 5.25" De profundidad
	5c'				N/A			
4	5d		8.5/215.9		N/A		255	
	5d'				N/A			
5	5e		8/203.2		N/A		255	
	5e'				N/A			
							Temperatura de agua de salida	97 C

* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos

** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua

15 Cuadro 2c
0.396 mg/ml de NaHCO₃ (Au)

20 Corrida ID: GD-015
Velocidad de flujo: 150 ml/min

25 Voltaje: 255V
NaHCO₃: 0.396 mg/ml
Diám. de alambre: 0.5 mm
Configuración: recta/recta
PPM: 14.5
Zeta: -69.1

# de conjunto	# de electrodo	de	Distancia in/mm	"c-c"	Distancia in/mm	"x"	Voltaje	Sección transversal
1	1a		4.5/114.3*		0.25		750	V
	5a				N/A	750		
2	5b		23/584.2** 2.5/63.5*		N/A		255	
	5b'				N/A			
3	5c		8.5/215.9		N/A		255	Rectángulo 5.25" De profundidad
	5c'				N/A			
4	5d		8.5/215.9		N/A		255	
	5d'				N/A			

		8/203.2			
5	5e 5e'		N/A N/A	255	
		2/50.8**		Temperatura de agua de salida	96 C
* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos					
** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua					

Microfotografías de microscopio electrónico de transmisión representativa (TEM) (figuras 25A, 26A y 27A) se toman de cada suspensión seca realizada de acuerdo con cada uno de estos ejemplos 5-7.

5 Microscopía electrónica de transmisión

10 Específicamente, se preparan muestras TEM utilizando una rejilla recubierta Formvar estabilizada con carbono de tamaño de malla de 200. Las rejillas fueron pre-tratadas por un tratamiento de plasma bajo vacío. Las rejillas se colocan en un portaobjetos de microscopio forrado con una pieza rectangular de papel de filtro y después colocado en un aparato a vacío Denton con el accesorio de generador de plasma necesario instalado. El vacío se mantiene a 75 mTorr y el plasma se inicia y corre durante aproximadamente 30 segundos. Al finalizar, el sistema se ventila y las rejillas se retiran. Las rejillas son estables hasta 7-10 días dependiendo de las condiciones de humedad, pero en todos los casos se utilizaron en 12 horas.

15 Aproximadamente 1 µl de cada suspensión de nanocrystal inventiva se coloca en cada rejilla y se le permite al aire secarse a temperatura ambiente durante 20-30 minutos, o hasta que la gota se evapora. A evaporación completa, las rejillas se colocan en una placa de titulación hasta que se realizan un análisis TEM.

20 Se utiliza un microscopio electrónico de transmisión Philips/FEI Tecnai 12 para interrogar todas las muestras preparadas. El instrumento se corre en un voltaje de aceleración de 100keV. Después de la alineación del haz, las muestras se examinan en diversas ampliaciones hasta e incluyendo 630,000x. Imágenes se colectan a través de la cámara montada lateral Olympus Megaview conectada que transmite las imágenes directamente a una PC equipada con iTEM y software Tecnai User Interface que proporciona tanto control sobre la cámara como el instrumento TEM, respectivamente.

25 Dentro del software iTEM, es posible moverse aleatoriamente alrededor de la rejilla ajustando la posición del punto de mira sobre un plano de referencia circular. Al seleccionar y mover los puntos de mira, uno puede desplazarse alrededor de la rejilla. Usando esta función, las muestras fueron analizadas en cuatro cuadrantes de la referencia circular, lo que permite una representación objetiva de la muestra. Más tarde se analizaron las imágenes con el software de ImageJ 1.42. Otro programa de software similar que mide el número de píxeles en cada partícula respecto a un número conocido de píxeles en una barra espaciadora se utiliza para agilizar el procedimiento de conteo de partículas. Las partículas se miden mediante la barra de escala en la imagen como un método para calibrar el software antes de medir cada partícula individual. Una vez calibradas, partículas se miden según los siguientes parámetros: partículas tetraédricas se miden desde la cima del triángulo a la base. Bipirámides pentagonales se miden desde la cima a la cima del diamante o cima del pentágono a la base del pentágono dependiendo de la orientación de la partícula en la rejilla.

40 Icosaedros se miden utilizando la distancia más larga entre dos caras de una partícula hexagonal. Partículas de formas esféricas o irregulares se miden a lo largo del eje más largo. Los datos colectados de cada conjunto de muestra se exportan a Excel, y usando una función de histograma simple con 50 bandejas con un mínimo de 5nm y máximo de 50nm, se genera un histograma.

45 Posteriormente, los datos generados con Excel se exportan a Prism (GraphPad™) y se ajustan a uno de dos modelos, una distribución normal o distribución normal log, cada una con una función de densidad de probabilidad única (PDF). Dentro de Prism, es posible analizar los datos de histograma mediante la realización de un ajuste no lineal a los datos que generan una distribución conocida como una distribución normal. Además, es posible realizar una transformación logarítmica en el conjunto de datos no lineal para generar un conjunto de datos que es, a continuación, ajustado a un modelo no lineal y luego transformado a través de una transformación exponencial para generar un ajuste normal log de datos. Los dos modelos luego se comparan visualmente para el histograma y el modelo que ajusta los datos a un grado mejor se elige. El diámetro de partículas indicado anteriormente, y reportado en muchas figuras de histograma y cuadros aquí, es el modo del PDF, que se define como el valor máximo de la curva PDF normal o log-normal. Esta curva PDF se superpone sobre todas las figuras de histograma en donde el valor de modo se despliega directamente por encima y se hace referencia en el texto como el diámetro promedio de TEM.

55 Por ejemplo, figuras 25B y 26B y 27B son histogramas de distribución de tamaño de cristales medidos de microfotografías TEM correspondientes a soluciones secas GD-007, GD-016 y GD-015 corresponden a ejemplos 5, 6 y 7, respectivamente. Cada uno de los números reportados en estos histogramas corresponde a la discusión

anterior.

Figuras 25A, 26A y 27A son microfotografías TEM representativas correspondientes a soluciones secas GD-007, GD-016 y GD-015 correspondientes a ejemplos 5, 6 y 7, respectivamente.

Los resultados mostrados en las figuras 25D y 25E se obtienen usando un microscopio electrónico de transmisión Philips 420ST equipado con un detector de espectroscopía de rayos x dispersor de energía (EDS). El microscopio se ubica en el centro analítico Electron Microbeam en la Universidad Johns Hopkins y opera bajo la orientación de un operador capacitado. Brevemente, aproximadamente 1 µl de suspensión nanocristalina GD-007 se coloca en una rejilla de níquel de malla cuadrada 200 recubierta con carbono y se deja al aire secar a temperatura ambiente durante aproximadamente 20-30 minutos, o hasta que la gota se evapora. En evaporación completa, las rejillas se colocan en el portaobjetos TEM y se interroga en un voltaje de aceleración de 120 keV. El sistema EDS del microscopio se compone de los siguientes componentes: detector de electrones de luz Oxford, procesador de pulso Oxford XP3, y un analizador multicanal de 4 pi conectado a una computadora Macintosh. Composición de partículas se determina a través de la espectroscopía de rayos x dispersiva de energía en donde un haz de alta energía de electrones se dirige a la superficie del nanocrystal resultando en la expulsión de un electrón dentro de la coraza interior, creando un sitio disponible para un electrón exterior a "caer" en, emitiendo así un rayos x característico. El rayo x después se detecta por el detector que tiene una resolución de 173.00eV.

Figura 25D muestra uno de cultivos de nanocristales de oro de acuerdo con el ejemplo 5 (es decir, GD-007). El nanocrystal se interroga con el haz de electrones, como se describe aquí.

Figura 25E muestra el patrón de rayos x dispersivo de energía de la interrogación del punto de haz del nanocrystal de solución GD-007. Porque esta técnica de medición es exacta a aproximadamente una mono capa de átomos, la falta de un patrón correspondiente a un pico de sodio muestra que ninguna mono-capa basada en sodio está presente en la superficie del cristal. Asimismo, ningún pico basado en carbono significativo es observable, indicativo de la falta de cualquier monocapa basada en carbono. Nota está hecha de la presencia del pico de oxígeno, que corresponde a la rejilla de níquel subyacente. En consecuencia, estas figuras 25D y 25E muestran: 1) no orgánicos están presentes en estas moléculas y 2) que los nanocristales contienen una superficie relativamente limpia desprovista de moléculas adversas o recubrimientos.

Además, también se utilizaron técnicas de dispersión de la luz dinámica para obtener una indicación de tamaños de cristal (por ejemplo, radios hidrodinámicos) producidos de acuerdo con los ejemplos aquí. Figuras 25C, 26C y 27C muestran el resultado gráfico de los conjuntos de datos de dispersión de la luz dinámica independiente separada.

Dispersión de luz dinámica

Específicamente, se realizaron mediciones de dispersión de luz dinámica (DLS) en instrumento Viscotek 802 DLS. En DLS, como la luz láser incide en pequeñas partículas y/o estructuras de agua organizadas alrededor de las partículas pequeñas (menores que la longitud de onda), la luz se dispersa en todas direcciones, dando como resultado una fluctuación dependiente del tiempo en la intensidad de dispersión. Las fluctuaciones de intensidad son debido al movimiento Browniano de la combinación de estructura de partículas y agua de dispersión y contienen información sobre la distribución del tamaño de cristal.

El instrumento permite calentar por lo menos 30 min antes a los experimentos. Las mediciones se hacen utilizando la celda de cuarzo de 12µl. Se utiliza el procedimiento siguiente:

1. Primero, se agrega 1 ml de agua DI en la celda usando micropipeta de 1 ml, luego se vierte agua fuera de la celda a un vaso de precipitado de residuos y el resto del agua se libera de la cavidad de medición de celda. Este paso se repite dos veces más para enjuagar completamente la celda.
2. 100µl de la muestra se añade en la celda usando micropipeta de 200µl. Después de que todo líquido se elimina fuera de la celda con la misma pipeta usando la misma punta de la pipeta y se expulsa en el vaso de precipitados de residuos. 100µl de la muestra se agrega nuevamente usando la punta misma.
3. La celda con la muestra se coloca en un bloque de celdas de temperatura controlada del instrumento Viscotek con lado esmerilado de la izquierda que encara la celda. Se abre un nuevo experimento en el software Viscotek OmniSIZE. La medición se inicia 1 min después que la temperatura equilibrada y la energía láser atenúa al valor adecuado. Los resultados se salvan después de que todas las corridas se hacen.
4. La celdas se toma del instrumento y la muestra fue eliminada de la celda utilizando la misma pipeta y la punta utilizada si el paso 2.
5. Pasos 2 a 4 se repiten dos o más veces para cada muestra.
6. Para una nueva muestra, una nueva punta de pipeta para 200µl de pipeta se toma para evitar la contaminación con muestras previas y se repitieron los pasos 1 al 5.

Procesamiento y recolección de datos se realiza con el software OmniSIZE, versión 3,0,0,291. Los siguientes parámetros se utilizan para todos los experimentos: duración de corrida - 3s; experimentos - 100; solvente - agua, 0 mmol; viscosidad - 1 cP; índice de refracción - 1.333; tolerancia de espiga - 20%; desplazamiento de línea de base -

15%; atenuación objetivo - 300 kCuentas; temperatura de bloqueo - +40°C. Después de que los datos para cada experimento se salvan, los resultados se observan en la página de "Resultados" del software. Distribución de tamaño de partícula (es decir, radios hidrodinámicos) se analiza en la gráfica de "distribución de intensidad". En esta gráfica cualquiera de los picos fuera del intervalo 0.1-10 μm se consideran como artefactos. Particularmente, agua limpia (sin partículas) resulta sin picos dentro del intervalo 0.1 nm-10 μm y un amplio pico debajo de 0.1 nm. Este pico es tomado como un pico de ruido (flujo de ruido) del instrumento. Muestras con muy baja concentración o tamaño muy pequeño de nanocristales suspendidos o nanopartículas pueden exhibir pico de ruido medible en gráfica de "distribución de intensidad". Si los picos dentro del intervalo 0.1 nm- 10 μm tienen mayor intensidad que el pico de ruido, esos picos considerados que son reales, de lo contrario los picos son cuestionables y pueden representar artefactos de procesamiento de datos.

Figura 25C muestra datos gráficos correspondientes a conjuntos de datos de salida Viscotek representativos por el ejemplo 5 (es decir, GD-007); figura 26C muestra datos gráficos correspondientes a conjuntos de datos de salida Viscotek representativos por el ejemplo 6 (es decir, GD-016); y la figura 27C muestra datos gráficos correspondientes a los conjuntos de datos de salida Viscotek representativos por el ejemplo 7 (es decir, GD-015). Los números reportados en las cimas de los picos de cada una de las figuras 25C, 26C y 27C corresponden a los radios hidrodinámicos promedio de nanocristales, y luz dispersadas alrededor de los nanocristales, detectados en cada solución. Cabe señalar que múltiples (por ejemplo, cientos) de puntos de datos fueron examinados para dar los números en cada conjunto de datos, representado por las curvas "en forma de s" (es decir, cada curva representa una serie de puntos de datos recolectados). El "% de transmisión" reportado en cada conjunto de datos corresponde a la intensidad del haz de interrogación requerido para conseguir los datos de dispersión de luz dinámica. En general, pero no siempre, cuando el "% de transmisión %" reportado es menor de 50%, estructuras de agua de partículas muy fuertes y/o particuladas/ordenadas son presentes. También, cuando "% de transmisión" se acerca a 100%, a menudo los iones y/o partículas muy pequeñas (por ejemplo, partículas de tamaño pico) están presentes y los radios hidrodinámicos reportados pueden comprender agua más ordenada o estructurada después de las partículas sólidas actuales.

Cabe señalar que la información de tamaño de partícula de dispersión de luz dinámica es diferente de los histogramas medidos con TEM porque la dispersión de luz dinámica utiliza algoritmos que asumir los nanocristales son todas las esferas (que no son), así como medidas del radio hidrodinámico (por ejemplo, influencia de nanocristales sobre el agua es también detectada y reportada además que los radios físicos actuales de las partículas). En consecuencia, no resulta sorprendente que existe una diferencia en los tamaños de partícula denunciados entre aquellos reportados en los datos del histograma TEM y los reportados en los datos de dispersión de luz dinámica, al igual que en los otros ejemplos incluidos aquí.

Espectroscopia de absorción atómica

Los valores de AAS se obtienen de un sistema de espectrómetro AAnalyst 400 Perkin Elmer.

I) Principio

La técnica de espectroscopia de absorción atómica de flama requiere una muestra de líquido para ser aspirada, aerosolizada y mezclada con gases combustibles, tal como acetileno y aire. La mezcla se enciende en una flama cuya temperatura varía de aproximadamente 2100 a aproximadamente 2400 grados C. Durante la combustión, átomos del elemento de interés en la muestra se reducen a átomos de estado de tierra no excitados, libres, que absorben luz en longitudes de onda características. Las longitudes de onda características son elemento específico y se precisan a 0.01 - 0.1 nm. Para proporcionar las longitudes de onda específicas de elemento, un haz de luz de una lámpara de cátodo hueco (HCL), cuyo cátodo está compuesto del elemento se determina, se pasa a través de la flama. Un fotodetector detecta la cantidad de reducción de la intensidad de luz debido a la absorción por el analito. Se utiliza un monocromador delante del fotodetector para reducir la luz ambiental de fondo y para seleccionar la longitud de onda específica de HCL requerida para la detección. Además, una lámpara de arco de deuterio se corrige para absorbancia de fondo causada por las especies no atómicas en la nube de átomo.

II) Preparación de muestra

10 ml de muestra, 0.6 ml de ácido clorhídrico al 36%v/v y 0.15 ml de ácido nítrico al 50%v/v se mezclan juntos en un frasco de vidrio y se incuban durante aproximadamente 10 minutos en baño de agua de 70 grados C. Si la concentración de oro en la suspensión se espera que esté por encima de 10 ppm una muestra se diluye con agua DI antes de la adición de los ácidos para llevar la concentración de oro final en el intervalo de 1 a 10 ppm. Por ejemplo, para una concentración de oro alrededor de 100 ppm, 0.5 ml de la muestra se diluye con 9.5 ml de agua DI antes de la adición de ácidos. Formación de alícuotas se realiza con micropipetas ajustables y la cantidad exacta de la muestra, agua DI y ácidos se miden por un microbalance Ohaus PA313. Los pesos de los componentes se utilizan para corregir la concentración medida para dilución por agua DI y ácidos.

Cada muestra se prepara por triplicado y después de la incubación en baño de agua es permitida enfriarse a temperatura ambiente antes de que las mediciones se hagan.

III) Configuración de instrumento

Los siguientes establecimientos se utilizan para el sistema de espectrómetro AAnalyst 400 Perkin Elmer:

- 5 a) cabeza de quemador: tipo de ranura única de 10 cm, alineado en tres ejes de acuerdo con el procedimiento de fabricación para obtener la máxima absorbancia con un estándar de 2 ppm de Cu.
 b) nebulizador: plástico con un espaciador en frente de la perla de impacto.
 c) flujo de gas: velocidad de flujo de oxidante (aire) aproximadamente 12 l/min, velocidad de flujo de combustible (acetileno) aproximadamente 1.9 ml/min.
 10 d) lámpara/monocromador: lámpara de cátodo hueco de Au, corriente de operación de 10 mA, aberturas de 1.8/1.35mm, longitud de onda 242.8, corrección de fondo (lámpara de deuterio) es sobre.

IV) Procedimiento de análisis

- 15 a) correr la lámpara de Au y la flama durante aproximadamente 30 minutos para calentar el sistema.
 b) calibrar el instrumento con estándares de Au 1 ppm, 4 ppm y 10 ppm en una matriz de ácido clorhídrico al 3.7%v/v. Utilizar ácido clorhídrico al 3.7%v/v como un blanco.
 c) verificar la escala de calibración por medición de 4 ppm como una muestra. La concentración medida debe estar entre 3.88 ppm y 4.12 ppm. Repita el paso b) si está fuera de este intervalo.
 20 d) medir tres réplicas de una muestra. Si la desviación estándar entre las réplicas es superior al 5%, repetir la medición, de lo contrario continúe con la siguiente muestra.
 e) realizar el paso c) de verificación después de medir seis muestras o más frecuentemente. Si se produce un error en la verificación, realice los pasos b) y c) y re-medir todas las muestras medidas después de la última verificación exitosa.

25 V) Análisis de datos

Valor de concentración medida de cada réplica está corregido para dilución por agua y ácido para calcular la concentración de muestra actual. El valor de ppm de Au reportado es el promedio de los tres valores corregidos para
 30 réplica individual.

Irradiación de plasma y caracterización

35 Este ejemplo proporciona un análisis espectrográfico de los plasmas ajustables 4, utilizando un electrodo de oro 1, todos los cuales se utilizan en los ejemplos aquí. Tres diferentes espectrómetros con sensibilidades altas se utilizan para recolectar información espectral sobre los plasmas 4. Específicamente, análisis espectrográfico se conduce sobre varios plasmas de electrodo de oro. Las especies en los plasmas 4, así como diferentes intensidades de algunas de las especies se observan.

40 La presencia/ausencia de dichas especies puede afectar (por ejemplo, positiva y negativamente) los parámetros de procesamiento y los productos elaborados de acuerdo a las enseñanzas aquí.

En este sentido, figura 25F muestra una vista esquemática, en perspectiva, de la instalación experimental utilizada para recopilar información de espectroscopia de emisión de los plasmas ajustables 4 utilizados aquí.
 45

Específicamente, la instalación experimental para recopilar datos de emisión de plasma (por ejemplo, irradiación) se representa en la figura 25F. En general, tres espectrómetros 520, 521 y 522 reciben datos de espectroscopia de emisión a través de una fibra óptica UV 523 que transmite emisiones espectrales colimadas recolectadas por el montaje 524, a lo largo de la vía 527. El montaje 524 puede colocarse verticalmente para coleccionar las emisiones espectrales en diferentes ubicaciones verticales dentro del plasma ajustable 4 moviendo el montaje 524 con la etapa X-Z 525. En consecuencia, la presencia/ausencia e intensidad de las especies de plasma pueden determinarse como una función de ubicación de interrogación en el plasma 4. La salida de los espectrómetros 520, 521 y 522 se analizan por software adecuado instalado en la computadora 528. Todos los datos de irradiación se recopilan a través del orificio 531 que se posiciona para ser aproximadamente opuesto al material no reflectante 530. La parte inferior del orificio 531 se encuentra en la superficie superior del líquido 3. Más detalles del aparato para recopilar la radiación de emisión sigue posteriormente.
 50
 55

El montaje 524 contiene un colimador de UV (LC-10U) con un montaje de re-enfoque (LF-10U100) para el intervalo 170-2400 nm. El montaje 524 también incluye un conector hembra SMA hecho por Multimode Fiber Optics, Inc. Cada LC-10U y LF-10U100 tiene unas lentes de sílice fusionadas con UV asociados con este. Enfoque ajustable se proporciona por LF-10U100 en aproximadamente 100 mm desde el vórtice de la lente en LF-10U100 también contenida en el montaje 524.
 60

El campo colimador de vista en ambos extremos del plasma ajustable 4 son aproximadamente 1.5 mm de diámetro como se determina por un diámetro de núcleo de fibra 455 μm que comprende la fibra óptica de UV resistente a la solarización 523 (intervalo de 180-900 nm y hecho por Mitsubishi). La fibra óptica de UV 523 se termina en cada
 65

ES 2 623 504 T3

extremo por un conector macho SMA (vendido por Oceans Optics; QP450-1-XSR).

El sistema de colimador UV-fibra 523 y 524 proporciona intervalo de 180-900 nm de sensibilidad para irradiación de plasma procedente del cilindro de plasma de diámetro 1.5 mm orientado horizontalmente en diferentes ubicaciones en el plasma ajustable 4.

La etapa X-Z 525 comprende dos etapas lineales (PTI) hechas por Thorlabs Inc., que mantienen y controlan el movimiento del colimador UV 524 a lo largo de los ejes X y Z. Así, es posible analizar el plasma ajustable 4 horizontalmente y verticalmente, respectivamente.

Emisión de radiación de plasma recopilada por un sistema colimador UV-fibra 523, 524 se suministra a cualquiera de los tres espectrómetros acoplados de fibra 520, 521 o 522 hechos por StellarNet, Inc. (es decir, EPP2000-HR para 180-295nm, rejilla 2400g/mm, EPP2000-HR para 290-400nm, rejilla 1800g/mm y EPP2000-HR para 395-505nm, rejilla 1200g/mm). Cada espectrómetro 520, 521 y 522 tiene una rendija de entrada de 7µm, resolución óptica de 0.1 nm y un detector de CCD de 2048 píxeles. Línea espectral instrumental medida que ampliada es 0.13 nm a 313.1 nm.

Adquisición de datos espectrales es controlada por software SpectraWiz para Windows/XP hecho por StellarNet. Todos los tres espectrómetros de EPP2000 HR 520, 521 y 522 hacen interface con una computadora personal 528 equipada con 4 puertos USB. Los tiempos de integración y número de promedios para distintos intervalos espectrales y descargas de plasma se establecen adecuadamente para proporcionar intensidades de señal insaturada con la mejor señal posible a relaciones de ruido. Normalmente, el tiempo de integración espectral está en el orden de 1 segundo y espectros promediados por número está en el intervalo de 1 a 10. Todos los espectros registrados fueron adquiridos con fondo óptico sustraído. Fondo óptico se adquiere antes del comienzo de la adquisición de un conjunto correspondiente de mediciones cada una con parámetros de adquisición de datos idénticos.

Cada sistema de espectrómetro de fibra UV (es decir, 523/520, 523/521 y 523/522) se calibra con una fuente de luz calibrada de irradiación AvaLight -DH-CAL, hecha por Avantes (no se muestra). Después de la calibración, todas las intensidades espectrales adquiridas se expresan en unidades (absolutas) de irradiación espectral (mW/m²/nm), así como corregidas para la respuesta no lineal del espectrómetro de fibra UV. El error relativo de la fuente de luz calibrada de irradiación AvaLight-DH-CAL en el intervalo de 200-1100 nm no es superior a 10%.

Alineación del campo de vista del montaje de colimador UV 524 relativo a la punta 9 del electrodo de metal 1 se realiza antes de cada establecimiento de mediciones. El centro del montaje de colimador UV 524 campo de visión se coloca en la punta 9 mediante la alineación de dos etapas lineales y enviando una luz a través del sistema de colimador UV-fibra 523, 524 hacia el centro de cada electrodo de metal 1.

La etapa X-Z 525 se utiliza para mover el montaje 524 en aproximadamente una porción central, horizontal del plasma ajustable 4, mientras es capaz de mover el montaje 524 verticalmente tal que el análisis de las emisiones espectrales que ocurren a diferentes alturas verticales en el plasma ajustable 4 pueden hacerse. En este sentido, el montaje 524 se posiciona a diferentes alturas, la primera de las cuales se encuentra lo más cerca posible de la punta 9 del electrodo 1, y por lo tanto se mueve lejos de la punta 9 en cantidades específicas. La espectroscopia de emisión del plasma a menudo cambia en función de la posición de interrogación.

Por ejemplo, figuras 25G-25J muestran los datos de irradiación asociados con un electrodo de oro (Au) 1 utilizado para formar el plasma ajustable 4. Cada una de las figuras 25G-25J mencionadas anteriormente muestra datos de emisión asociados con tres ubicaciones de interrogación vertical diferente dentro del plasma ajustable 4. La posición vertical "0" (0 nm) corresponde a datos de espectroscopia de emisión recopilados inmediatamente adyacentes a la punta 9 del electrodo 1; la posición vertical "1/40" (0.635nm) corresponde a datos de espectroscopia de emisión 0.635 mm lejos de la punta 9 y hacia la superficie del agua 3; y la posición vertical "3/20" (3.81 mm) corresponde a datos de espectroscopia de emisión 3.81 mm lejos de la punta 9 y hacia la superficie del agua 3.

Cuadro 2D muestra específicamente cada una de las líneas espectrales identificadas en el plasma ajustable 4 cuando un electrodo de oro 1 se utiliza para crear el plasma 4.

Cuadro 2d (1 de 2)

Transición	λ tab. (nm)	λ meas. (nm)	λ meas. - λ tab. (nm)	En (1/cm)	Em (1/cm)	gn	gm	Anm (1/s)
NO $A^2\Sigma^+ - X^2\Pi^-$ sistema- γ : (1-0)	214.7	214.7000	0.0000					
NO $A^2\Sigma^+ - X^2\Pi^-$ sistema- γ : (0-0)	226.9	226.8300	-0.0700					

ES 2 623 504 T3

Transición	λ tab. (nm)	λ meas. (nm)	λ meas. - λ tab. (nm)	En (1/cm)	Em (1/cm)	gn	gm	Anm (1/s)
NO $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ - sistema- γ : (0-1)	236.3	236.2100	-0.0900					
Au I $5d^{10}6s^2S_{1/2}$ - $5d^{10}6p^2P^0_{3/2}$	242.495	242.7900	-0.0050	0	41174.613	2	4	1.99E ⁺⁸
NO $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ - sistema- γ : (1-0)	247.1	246.9300	-0.1700					
NO $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ - sistema- γ : (1-0)	258.3	258.5300	0.2300					
NO $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ - sistema- γ : (1-0)	267.1	267.0600	-0.0400					
Au I $5d^{10}6s^2S_{1/2}$ - $5d^{10}6p^2P^0_{7/2}$	274.825	274.82	-0.0050	9161.177	45537.195	6	8	
OH $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ (1-0)	281.2	281.2000	0.0000					
OH $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ (1-0)	282	281.9600	-0.0400					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (4-2)	295.32	295.3300	0.0100					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (3-1)	296.2	296.1900	-0.0100					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (2-0)	297.7	297.7000	0.0000					
OH $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ (0-0)	306.537	306.4600	-0.0770					
OH $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ (0-0)	306.776	306.8400	0.0640					
OH $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ (0-0)	307.844	307.8700	0.0260					
OH $A^2\Sigma^+-X^2\Pi$ (0-0)	308.986	309.0700	0.0840					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (2-1)	313.57	313.5800	0.0100					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (1-0)	316	315.9200	-0.0800					
O ₂ ($B^3\Sigma^-u-X^3\Sigma^-g$) (0- 14)	337	337.0800	0.0800					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (0-0)	337.1	337.1400	0.0400					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (2-3)	350.05	349.9700	-0.0800					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (1-2)	353.67	353.6400	-0.0300					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (0-1)	357.69	357.6400	-0.0400					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (1-0)	358.2	358.2000	0.0000					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (2-4)	371	370.9500	-0.0500					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (1-3)	375.54	375.4500	-0.0900					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (0-2)	380.49	380.4000	-0.0900					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (1-1)	388.4	388.4200	0.0200					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (0-0)	391.4	391.3700	-0.0300					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (1-4)	399.8	399.7100	-0.0900					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (0-3)	405.94	405.8100	-0.1300					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (4-8)	409.48	409.4900	0.0100					
N ₂ ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$)2 ⁻ - sistema (2-3)	419.96	420.0000	0.0400					

Transición	λ tab. (nm)	λ meas. (nm)	λ meas. - λ tab. (nm)	En (1/cm)	Em (1/cm)	gn	gm	Anm (1/s)
N ₂ (C ³ Π u-B ³ Π g)2 ⁻ -sistema (1-2)	423.65	423.6400	-0.0100					
N ₂ (C ³ Π u-B ³ Π g)2 ⁻ -sistema (0-1)	427.785	427.7700	-0.0150					
N ₂ (C ³ Π u-B ³ Π g)2 ⁻ -sistema (3-8)	441.67	441.6200	-0.0500					
Au 5d ² (² D _{5/2})6s6p ² 4 ⁰ _{7/2} - 5d ⁹ (² D _{5/2})6s7s 10 _{7/2}	448.8263	448.7500	-0.0763	45537.195	67811.329	8	8	
N ₂ ⁺ (B ² Σ ⁻ u-X ² Σ ⁻ g)1 ⁻ -sistema (1-3)	465.1	465.1300	0.0300					
N ₂ ⁺ (B ² Σ ⁻ u-X ² Σ ⁻ g)1 ⁻ -sistema (0-2)	470.9	470.8400	-0.0600					
Na 3s ² S _{1/2} - 3p ² P _{3/2} ⁰	5878.99	588.995	0.0050					
H 2p ² p _{3/2} - 3d ² D _{5/2}	656.2852	655.8447	-0.4405	82259.287	97492.357	4	6	6.47E ⁺⁷
N 3s ⁴ P _{5/2} - 3p ⁴ S _{3/2}	746.8312	746.8815	0.0503	83364.62	96750.84	6	4	1.93E ⁺⁷
N ₂ (B ³ Π g-A ³ Σ ⁺ u)1 ⁺ -sistema	750	749.9618	-0.0382					
O 3s ⁵ S ₂ -3p ⁵ P ₃	777.1944	776.8559	-0.3285	73768.2	86631.454	5	7	3.69E ⁺⁷
O 3s ³ S ₁ -3p ³ P ₃	844.6359	844.2905	-0.3454	76794.978	88631.146	3	5	3.22E ⁺⁷
N 3s ⁴ P _{5/2} - 3p ⁴ D _{7/2}	868.0282	868.2219	0.1937	83364.62	94881.82	6	8	2.46E ⁺⁷
O 3p ⁵ P ₃ - 3d ⁵ D ₄	926.6006	926.3226	-0.2780	86631.454	97420.63	7	9	4.45E ⁺⁷

Una variedad de especies asociadas con el electrodo metálico de oro 1 se identifican en el cuadro 2D. Estas especies incluyen, por ejemplo, oro de los electrodos 1, así como especies comunes que incluyen, NO, OH, N₂, etc. Es interesante observar que la existencia de algunas especies y/o intensidad (por ejemplo, cantidad) es una función de ubicación dentro del plasma ajustable. En consecuencia, esto sugiere que varias especies pueden ser causadas para producirse como una función de una variedad de condiciones de procesamiento (por ejemplo, energía, ubicación, composición del electrodo 1, etc.) de la invención.

Ejemplos 8-10

Fabricación de suspensiones de nanocristales/nanocrystal basados en oro GB-018, GB-019 y GB-020

En general, cada uno de los ejemplos 8-10 utiliza ciertas modalidades de la invención asociadas con los aparatos generalmente mostrados en las figuras 17A, 18A, 19B y 22A (por ejemplo, un miembro de conducto cónico 30B). Diferencias específicas en el procesamiento y el aparato será evidentes en cada ejemplo. Los miembros de conducto 30A y 30B se hacen de plexiglás de grosor 1/8" (aproximadamente 3 mm) y policarbonato de grosor 1/4" (aproximadamente 6 mm), respectivamente. La estructura de soporte 34 también se hace de plexiglás que es de grosor de aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6-7 mm de grosor). La forma en sección transversal del miembro de conducto 30A mostrado en la figura 18A corresponde a esa forma mostrada en la figura 10B (es decir, una "V" truncada). La porción de base "R" de la "V" truncada mide aproximadamente 0.5" (aproximadamente 1 cm), y cada porción lateral "S", "S'" mide aproximadamente 1.5" (aproximadamente 3.75 cm). La distancia "M" que separa las porciones laterales "S", "S'" del miembro de conducto en forma de V es aproximadamente 2 1/4" - 2 5/16" (aproximadamente 5.9 cm) (medido desde dentro para dentro). El grosor de cada porción también mide aproximadamente 1/8" (aproximadamente 3 mm) de grosor. La longitud longitudinal "Lr" (se refiere a la figura 11A) del miembro de conducto en forma de V 30A mide aproximadamente 3 pies (aproximadamente 1 metro) de largo desde el punto 31 al punto 32.

Agua purificada (discutida en otra parte aquí) se mezcla con NaHCO₃ en un intervalo de aproximadamente 0.396 a 0.528 g/l de NaHCO₃ y se utiliza como el líquido 3 que entrada en miembro de conducto 30A.

Mientras este intervalo de NaHCO₃ utilizado sea efectivo, no debe considerarse como que limita las medidas y límites de la invención. La profundidad "d" (referida en la figura 10B) del agua 3 en el miembro de conducto en forma de V 30A es aproximadamente 7/16" a aproximadamente 1/2" (aproximadamente 11 mm a aproximadamente 13 mm) en varios puntos a lo largo del miembro de conducto 30A. La profundidad "d" se controla parcialmente mediante el uso del dique 80 (mostrado en la figura 18A). Específicamente, el dique 80 se proporciona cerca del extremo 32 y ayuda a crear la profundidad "d" (mostrada en la figura 10B) es aproximadamente 7/6" - 1/2" (aproximadamente 11-13 mm) en profundidad. La altura "j" del dique 80 mide aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6 mm) y la longitud longitudinal "k" mide aproximadamente 1/2" (aproximadamente 13 mm). El ancho (no mostrado) es completamente a través de la dimensión inferior "R" del miembro de conducto 30A. En consecuencia, el volumen total de agua 3 en el

miembro de conducto en forma de V 30A durante su operación es aproximadamente 6.4 in³ (aproximadamente 105 ml).

La velocidad del flujo del agua 3 en el miembro de conducto 30A varía de aproximadamente 150 ml/minuto a al menos 280 ml/minuto. Dicho flujo de agua 3 se obtuvo mediante la utilización de una dirección de bomba L/S Masterflex® clasificada en 0.1 caballos de fuerza, 10-600 rpm. El número de modelo de la bomba Masterflex® 40 es 77300-40. La dirección de bomba tiene un cabezal de bomba también hecho por Masterflex® conocido como Modelo de fácil-carga No. 7518-10. En términos generales, el cabezal para la bomba 40 se conoce como un cabezal peristáltico. La bomba 40 y cabezal se controlan por una dirección modular digital Masterflex® LS. El número de modelo para la dirección modular digital es 77300-80. Los establecimientos precisos en dirección modular digital son, por ejemplo, 150 mililitros por minuto. Tubería Tygon® que tiene un diámetro de 1/4" (es decir, tamaño 06419-25) se coloca en el cabezal peristáltico. La tubería se hace por Saint Gobain para Masterflex®. Un extremo de la tubería se suministra a un primer extremo 31 del miembro de conducto 30A por un medio de difusión de flujo situado aquí. Los medios de difusión de flujo tienden a minimizar la perturbación y burbujas en el agua 3 introducida en el miembro de conducto 30A así como cualquier condición de pulso generada por la bomba peristáltica 40. En este sentido, un pequeño reservorio sirve como el medio de difusión y se proporciona en un punto verticalmente por encima del extremo 31 y el miembro de conducto 30A tal que cuando se desborda el reservorio, se produce un flujo relativamente constante de agua 3 en el extremo 31 del miembro de conducto en forma de V 30A

Existen 5 conjuntos de electrodos usados en ejemplos 8-10 y un conjunto de electrodos es un conjunto de electrodos sencillo 1A/5A localizado en el miembro de conducto 30A. El plasma 4 de electrodo 1A en un miembro de conducto 30A se crea con un electrodo 1 similar en forma de modo que muestra en la figura 5E, y pesa aproximadamente 9.2 gramos. Este electrodo es 99.95% de oro puro. El otro electrodo 5A comprende una placa de platino en forma triangular-derecha que mide aproximadamente 14 mm x 23 mm x 27 mm y aproximadamente 1 mm de grosor y que tiene aproximadamente 9 mm sumergido en el líquido 3'. El transformador de AC utilizado para crear el plasma 4 es este transformador 60 mostrado en la figura 16D y se discute en otra parte aquí. Transformadores AC 50 (discutidos en otra parte aquí) se conectan a los otros conjuntos de electrodo 5/5. Todas las demás condiciones de corrida pertinentes se muestran en los cuadros 3A, 3B y 3C.

La salida del agua condicionada, incrementada de procesamiento 3' se colecta en un reservorio 41 y posteriormente se bombea por otra bomba 40' en un segundo miembro de conducto 30B, en sustancialmente la misma velocidad que la bomba 40 (por ejemplo, existe evaporación mínima en miembro de conducto 30A). El segundo miembro de conducto 30B que se muestra en la figura 22A es cónico y mide aproximadamente 3.75 pulgadas (9.52 cm) de alto, aproximadamente 3.75 pulgadas (9.52 cm) de ancho en el extremo 32 del mismo, y aproximadamente 1 pulgada de ancho en el extremo 31 del mismo, formando así una forma cónica. Este miembro de conducto 30B contiene aproximadamente 1450 ml de líquido 3" aquí que es aproximadamente 2.5 pulgadas (6.35 cm) de profundidad. Cada uno de los cuatro conjuntos de electrodos 5B, 5B'-5E, 5E' comprende 99.95% de oro puro que mide aproximadamente 5 pulgadas (aproximadamente 13 cm) en longitud, y aproximadamente 0.5 mm en diámetro en los ejemplos 8 y 9, y aproximadamente 1.0 mm en diámetro en el ejemplo 10. En cada uno de los ejemplos 8-10, aproximadamente 4.25 pulgadas (aproximadamente 11 cm) del alambre se sumerge en el agua 3", que tiene una profundidad de aproximadamente 2.5 pulgadas (aproximadamente 6 cm). Cada conjunto de electrodos 5A, 5A'-5D, 5D' se asemeja a una "J", como se muestra en la figura 17A. La distancia "g" se muestra en la figura 17A mide aproximadamente 1-8 mm.

Con respecto a las figuras 19B y 22A, 4 conjuntos de electrodos separados (conjunto 2, conjunto 3, conjunto 4 y conjunto 5) se conectan a un dispositivo transformador único 50. Específicamente, transformador 50 es el mismo transformador utilizado en los ejemplos 5-7, pero es conectado eléctricamente a cada conjunto de electrodos de acuerdo con el diagrama de cableado mostrado en la figura 19B. En contraste, esta configuración de cableado es diferente del utilizado en los ejemplos 5-7, descritos anteriormente, sólo un único transformador 50 es necesario debido a los requerimientos de amperaje inferiores (por ejemplo, menos cable está en contacto con el líquido 3) de este diseño en conducto 30B inventivo.

Cada uno de los cuadros 3A-3C contiene información de procesamiento relativa a cada uno de los 4 conjuntos de electrodos por "# de conjunto". Cada electrodo de los 4 conjuntos de electrodos en conducto 30B se establece para operar a un voltaje objetivo específico. Voltajes de operación actuales de aproximadamente 255 voltios, como se enlista en cada uno de los cuadros 3A-3C, se aplican a los cuatro conjuntos de electrodos. La distancia "c-c" (con referencia a la figura 14) de la línea central de cada conjunto de electrodos al conjunto de electrodos también está representado. Además, la distancia "x" asociada con el electrodo 1 utilizado en conducto 30A también se reporta. Para el electrodo 5's, ninguna distancia "x" se reporta. Otros parámetros relevantes se reportan en cada uno de los cuadros 3A-3C.

Todos los materiales para los electrodos 1/5 se obtienen de ESPI que tener una dirección de 1050 Benson Way, Ashland, Oregon 97520.

El agua 3 utilizada en los ejemplos 8-10 se produce por un procedimiento de ósmosis inversa y procedimiento de desionización y se mezcla con el potenciador de procesamiento NaHCO₃ y juntos se introducen en el miembro de

ES 2 623 504 T3

5 conducto 30A. En esencia, la ósmosis inversa (RO) es un procedimiento de separación de membrana de dirección de presión que separa especies que son sustancias que se disuelven y/o suspenden de las aguas subterráneas. Se llama ósmosis "inversa" ya que se aplica presión para invertir el flujo natural de ósmosis (que busca un equilibrio entre la concentración de materiales en ambos lados de la membrana). La presión aplicada obliga al agua a través de la membrana dejando los contaminantes en un lado de la membrana y el agua purificada por el otro. La membrana de ósmosis inversa utiliza varias capas delgadas u hojas de película que están enlazados juntos y enrollados en una configuración espiral alrededor de un tubo de plástico. (Esto es también conocido como un compuesto mixto de película fina o membrana TFC.) Además de la eliminación de especies disueltas, la membrana RO separa también fuera materiales suspendidos que incluyen microorganismos que pueden estar presentes en el agua. Después del procesamiento de RO un filtro de desionización de lecho mixto se usa. Los solventes disueltos totales ("TDS") después ambos tratamientos es de aproximadamente 0.2 ppm, como se mide por un medidor de pH/conductividad Accumet ® AR20.

15 Cuadro 3a
0.528 mg/ml de NaHCO₃ (Au)

Corrida ID: GB-018
Velocidad de flujo: 280 ml/min

20 Voltaje: 255V
NaHCO₃: 0.528 mg/ml
Diám. de alambre: 0.5 mm
Configuración: J/J
PPM: 2.9
25 Zeta: -98.84

# de conjunto	# de electrodo	de	Distancia in/mm	"c-c"	Distancia in/mm	"x"	Voltaje	Sección transversal
1	1a		4.5/114.3*		0.25		750	V
	5a				N/A	750		
2			23/584.2** 2.5/63.5*		N/A		255	
	5b				N/A			
3			3.5/88.9		N/A		255	Cóncavo 3"(7.62 cm) de profundidad
	5c				N/A			
4			3.5/88.9		N/A		255	
	5d				N/A			
5			3.5/88.9		N/A		255	
	5e				N/A			
			376.2**				Temperatura de agua de salida	80 C

* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos
** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua

30 Cuadro 3b
0.396 mg/ml de NaHCO₃ (Au)

Corrida ID: GB-019
Velocidad de flujo: 150 ml/min

35 Voltaje: 255V
NaHCO₃: 0.396 mg/ml
Diám. de alambre: 1 mm
Configuración: J/J
PPM: 23.6
40 Zeta: -56.6

ES 2 623 504 T3

# de conjunto	# de electrodo	de	Distancia in/mm	"c-c"	Distancia in/mm	"x"	Voltaje	Sección transversal
1	1a		4.5/114.3*		0.25/6.35		750	V
	5a				N/A		750	
2	5b		23/584.2** 2.5/63.5*		N/A		255	
	5b'				N/A			
3	5c		3.5/88.9		N/A		255	Cóncavo 3" (7.62 cm) de profundidad
	5c'				N/A			
4	5d		3.5/88.9		N/A		255	
	5d'				N/A			
5	5e		3.5/88.9		N/A		255	
	5e'				N/A			
							376.2**	Temperatura de agua de salida 97 C

* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos

** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua

Cuadro 3c

5 0.396 mg/ml de NaHCO₃ (Au)

Corrida ID: GB-020

Velocidad de flujo: 250 ml/min

10 Voltaje: 255V
NaHCO₃: 0.396 mg/ml
Diám. de alambre: 1 mm
Configuración: J/J
PPM: 4.9
15 Zeta: -58.01

# de conjunto	# de electrodo	de	Distancia in/mm	"c-c"	Distancia in/mm	"x"	Voltaje	Sección transversal
1	1a		4.5/114.3*		0.25		750	V
	5a				N/A		750	
2	5b		23/584.2** 2.5/63.5*		N/A		255	
	5b'				N/A			
3	5c		3.5/88.9		N/A		255	Cóncavo 3" (7.62 cm) de profundidad
	5c'				N/A			
4	5d		3.5/88.9		N/A		255	
	5d'				N/A			
5	5e		3.5/88.9		N/A		255	
	5e'				N/A			
							376.2**	Temperatura de agua de salida 86 C

* Distancia de entrada de agua al centro del primer conjunto de electrodos

** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua

Figuras 28A, 29A y 30A son microfotografías de TEM representativas correspondientes a suspensiones secas GB-018, GB-019 y GB-020, respectivamente, que muestra cristales de oro cultivados en cada uno de los ejemplos 8, 9 y 10.

5 Figuras 28B, 29B y 30B son histogramas de distribución de tamaño de partícula medidos de las microfotografías de TEM (es decir, utilizando el software descrito anteriormente en los ejemplos 5-7) correspondientes a suspensiones secas tomadas de ejemplos 8, 9 y 10, respectivamente.

10 Figuras 28C, 29C y 30C muestran datos de dispersión de luz dinámica (es decir, radios hidrodinámicos) de las suspensiones de nanocristales de oro hechas en cada uno de los ejemplos 8, 9 y 10, respectivamente. Cada una de estas figuras muestra los resultados gráficos de conjuntos de datos de dispersión de luz dinámica.

15 Se debe notar que la información de tamaño de partícula de dispersión de luz dinámica es diferente de los histogramas medido por TEM debido a que la dispersión de luz dinámica utiliza algoritmos que asumen los cristales son todas las esferas (que no son), así como mediciones del radio hidrodinámico (por ejemplo, influencia de cristal en el agua también se detecta y se reporta además de los radios físicos actuales de los cristales). En consecuencia, no resulta sorprendente que existe una diferencia en los tamaños de cristal reportados entre aquellos reportados en los datos del histograma TEM y aquellos reportados en los datos de dispersión de luz dinámica, justo como en los otros ejemplos incluidos aquí.

20 Ejemplo 11

Fabricación de soluciones de nanopartículas/nanopartícula basadas en oro o coloides IAC-202-7 por un procedimiento de lote

25 Este ejemplo utiliza un procedimiento por lotes de acuerdo con la presente invención. Figura 24A muestra el aparato utilizado para condicionar el líquido 3. Una vez condicionado, el líquido 3' se procesa en el aparato que se muestra en la figura 24B.

30 Cuadro 4A muestra una matriz donde la cantidad de sosa para hornear el potenciador de procesamiento (es decir, NaHCO_3) varía de aproximadamente 1 gramo/galón a aproximadamente 2 gramos/galón (es decir, aproximadamente 0.264 g/l a aproximadamente 0.528 g/l); y el tiempo de permanencia se refleja en el cuadro 4A en el aparato de la figura 24A (es decir, la cantidad de tiempo que el agua 3 con potenciador de procesamiento se expone al plasma 4) es variada de aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 60 minutos, antes del procesamiento posterior en el aparato mostrado en la figura 24C. El voltaje aplicado para cada plasma 4 hecho por el electrodo 1 es aproximadamente 750 voltios. Este voltaje se alcanza por un transformador 60 (es decir, el diseño referenciado de punto medio balanceado) discutido en otra parte aquí. Un transformador diferente y segundo se conecta eléctricamente a los electrodos 5a y 5b que se muestran en la figura 24C. Este transformador es una fuente de energía AC y que tiene un intervalo de voltaje de 0-300V, un intervalo de frecuencia de 47-400 Hz y una potencia nominal máxima de 1kVA. El voltaje aplicado para cada corrida identificada en los cuadros 4A y 4B es aproximadamente 250 voltios. La corriente cambiada como una función de tiempo con mínimos y máximos amps reportados en el cuadro 4B. Otras variables de procedimiento se mantienen constantes.

45 En consecuencia, cuadro 4A muestran que un número de variables (por ejemplo, potenciador de procesamiento y tiempo de permanencia predeterminado) influyen en la cantidad o concentración de nanocristales de oro en agua y la distribución del tamaño de los nanocristales de oro. En general, conforme la concentración del potenciador de procesamiento aumenta de aproximadamente 1 g/galón (0.264 g/l) a aproximadamente 2 g/galón (0.528 g/l), la concentración (es decir, "ppm") aumenta más o menos bajo un determinado conjunto de condiciones de procesamiento. Sin embargo, en algunos casos la distribución de tamaño de partícula ("psd") aumenta desfavorablemente tal que los nanocristales formados no son más estables y se "asentaron", como una función del tiempo (por ejemplo, una suspensión inestable se hace). Estas condiciones de establecimiento no son inmediatas sugiriendo así que esta suspensión de nanocristales en agua podría procesarse inmediatamente en un producto útil, tal como, por ejemplo, un gel o crema. Este ejemplo muestra claramente varios efectos importantes de múltiples variables de procesamiento que pueden traducirse, por lo menos direccionalmente, a los procedimientos continuos inventivos descritos en otra parte aquí. Estos datos son ilustrativos y no deben verse como limitantes de las medidas y límites de la presente invención. Además, estos datos ilustrativos deben proporcionar a una persona con experiencia ordinaria en la técnica con excelentes orientaciones operacionales para perseguir.

60 Como un ejemplo específico, el cuadro 4C muestra que un primer conjunto de electrodos #1 (es decir, figura 24A) se opera en un voltaje de aproximadamente 750 voltios, para formar el plasma 4. Esto es similar a los otros plasmas 4 reportados en otra parte aquí. Sin embargo, el conjunto de electrodo # 2 (es decir, figura 24C) se alimenta por la fuente de hy-CA descrita anteriormente.

Cuadro 4A

		Permanencia de pre-tratamiento (minutos)												
		20				40				60				
		1AC-201		1AC-202		1AC-201		1AC-202		1AC-201		1AC-202		
NaHCO ₃ (mg/ml)	.264	Ppm	1AC-201-9	11.8	1AC-202-1	11.1	1AC-201-8	13.5	1AC-202-2	11.4	1AC-201-7	14.3	1AC-202-3	12.2
		Psd		18.4		19.1		19.5		18.4		16.8		19.6
	.396	Ppm	1AC-201-6	20.1	1AC-202-7	16.1	1AC-201-5	21.4	1AC-202-8	Asentado	1AC-201-4	23.3	1AC-202-9	Asentado
		Psd		21.4		32.3		126		84.8		36.3		23.8
	.528	Ppm	1AC-201-1	27.4	1AC-202-4	23	1AC-201-2	31.1	1AC-202-5	24.9	1AC-201-3	Asentado	1AC-202-6	Asentado
		Psd		17.1		43.8		21.6		21.4		190		Asentado

Cuadro 4b

		Permanencia de pre-tratamiento (minutos)												
		20				40				60				
		1AC-201		1AC-202		1AC-201		1AC-202		1AC-201		1AC-202		
NaHCO ₃ (mg/ml)	.264	Min	1AC-201-9	0.405	1AC-202-1	0.382	1AC-201-8	0.41	1AC-202-2	0.411	1AC-201-7	0.432	1AC-202-3	0.461
		Max		1.1		1		1		1.06		1		1.13
	.396	Min	1AC-201-6	0.554	1AC-202-7	0.548	1AC-201-5	0.591	1AC-202-8	0.598	1AC-201-4	0.617	1AC-202-9	0.681
		Max		1.6		1.35		1.6		1.43		1.6		1.43
	.528	Min	1AC-201-1	0.686	1AC-202-4	0.735	1AC-201-2	0.843	1AC-202-5	0.769	1AC-201-3	0.799	1AC-202-6	0.865
		Max		1.82		1.6		2.06		2		2.01		2.1

5

Cuadro 4c

1.5 g/gal de NaHCO ₃ (Au)			
Corrida ID: 1AC-202-7			
Pre-tratamiento: 20 min GZA en 3600 ml			
Volumen: 800 ml			
Voltaje: 250V			
NaHCO ₃ : 0.396 mg/ml			
Diám. de alambre: 0.5 mm			
Configuración: J/J			
PPM: 16.1			
Zeta: n/a			
# de conjunto	# de electrodo	Distancia "x" in/mm	Voltaje
1	1a	0.25/6.35	750
	5a	N/A	750
2	5b	N/A	250
	5b'	N/A	

La figura 31A muestra una fotomicrografía TEM representante de cristales de oro, secados de solución, elaborados de acuerdo con este ejemplo 11.

10 La figura 31B muestra el histograma de distribución de tamaño de partículas basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secados elaborados de acuerdo con el ejemplo 11.

Figura 31C muestra información de tamaño de partícula de dispersión de luz dinámica gráfica (es decir, radios hidrodinámicos) de este ejemplo 11. Específicamente, un conjunto de datos Viskotek representativos se establecen en esta figura, similar a lo que informó en otras partes en el presente documento.

15

Cabe señalar que información de tamaño de partícula de dispersión de luz dinámica es diferente de los histogramas TEM medidos porque la dispersión dinámica de luz utiliza algoritmos que asumen los nanocristales son todos esferas (que no lo son), así como medidas del radio hidrodinámico (por ejemplo, la influencia de los nanocristales en el agua también se detecta e informaron además de los radios físicos reales de los nanocristales). En consecuencia, no resulta sorprendente que haya una diferencia en los tamaños de nanocristales informados entre los reportados en los datos de histograma TEM de aquellos reportados en los datos de dispersión de luz dinámica justo como en los otros ejemplos incluidos en este documento.

Ejemplo 12

Fabricación de nanopartículas basadas en oro /soluciones de nanopartículas o coloides IAC-261 por un procedimiento por lotes

Este ejemplo utiliza un procedimiento por lotes de acuerdo con la presente invención. Figura 24A muestra el aparato utilizado para acondicionar el líquido 3. Una vez acondicionado, el líquido 3' fue procesado en el aparato que se muestra en la figura 24C.

La cantidad de procesamiento de potenciador de bicarbonato de sodio (es decir, NaHCO_3) fue aproximadamente de 1.5 gramos/galón (es decir, unos 0.396 g/l). La cantidad de tiempo que el agua 3 con potenciador de procesamiento estuvo expuesta al plasma 4 fue aproximadamente 60 minutos antes del procesamiento posterior en el aparato que se muestra en la figura 24C.

La tensión aplicada para cada plasma 4 hecha por el electrodo 1 fue aproximadamente de 750 voltios. Esta tensión fue alcanzada por un transformador 60 (es decir, el diseño referenciado de punto medio equilibrado) discutido en otra parte en el presente documento.

Un diferente y segundo transformador fue conectado eléctricamente a los electrodos 5a y 5b que se muestran en la figura 24C. Este transformador fue una fuente de alimentación AC y que tiene un intervalo de voltaje de 0-300V, un intervalo de frecuencia de 47-400 Hz y una potencia nominal máxima de 1 kVA. La tensión aplicada fue aproximadamente de 300 voltios. La corriente cambia como una función del tiempo con amperaje mínimo que es de 0.390 y amperios máximos siendo 0.420 amperios durante un tiempo de funcionamiento de 60 minutos. El diámetro de los electrodos de alambre de oro fue de 1mm.

La cantidad de nanopartículas de oro producidas en la suspensión fue de aproximadamente 13.7 ppm como se mide por las técnicas de espectroscopia de absorción atómica discutidas en otra parte en el presente documento. Los tamaños y formas de las nanopartículas hechas de acuerdo con este ejemplo se explican completamente en el cuadro 12 aquí.

La figura 33A muestra una microfotografía TEM representante de cristales de oro, secados de la suspensión 1AC-261, realizados de acuerdo con este ejemplo 12.

Figura 33B muestra el histograma de distribución de tamaño de partículas basado en mediciones TEM de las nanopartículas de oro secas hechas según el ejemplo 12.

Ejemplo 13

Fabricación de nanocristales basados en oro /suspensiones de nanocristales GB-154-20 Hz, GB-157-40 Hz, GB-159-60 Hz, GB-161-80 Hz, GB-173-100 Hz y GB-156-300 Hz)

En general, este ejemplo utiliza la misma configuración de fabricación usada para hacer GB-134 en el ejemplo 16, y por cuestiones de brevedad, las características específicas del aparato de conducto utilizado se examinan en detalle en ese ejemplo. La principal diferencia en la elaboración de suspensiones o coloides en este ejemplo es que diferentes frecuencias de onda senoidales de una fuente de CA programable se utilizaron como entradas eléctricas a los electrodos 5a/5b.

En particular, las frecuencias de onda senoidal AC tan bajas como 20Hz y tan altas como 300 Hz fueron utilizadas para hacer suspensiones de nanocristal o coloides, de conformidad con las enseñanzas aquí. La fuente de alimentación AC 501AC utiliza una fuente de CA programable de Chroma 61604. La tensión aplicada fue de 300 voltios. La forma de onda es una onda senoidal en seis frecuencias diferentes - 20, 40, 60, 80, 100 y 300 Hz. La corriente aplicada oscilaba entre 4.2amps y 4.8amps.

La figura 34A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de suspensión GB-154; y la figura 34B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secos de la suspensión GB-154.

La figura 35A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de suspensión GB-157; y la figura 35B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secos de la suspensión GB-157.

5 La figura 36A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de suspensión GB-159; y la figura 36B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secos de la suspensión GB-159.

10 La figura 37A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de suspensión GB-161; y la figura 37B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secos de la suspensión GB-161.

15 La figura 38A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de suspensión GB-173; y la figura 38B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secos de la suspensión GB-173.

20 La figura 39A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de suspensión GB-156; y la figura 39B muestra el histograma de distribución de tamaño de partícula basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secos de la suspensión GB-156.

Es claro este ejemplo que el "modo" de tamaño de partícula y distribución de tamaño de partícula, aumentan en función del incremento de la forma de onda senoidal AC de frecuencia en las condiciones de este ejemplo.

Ejemplo 14

25 Fabricación de nanocristales basados en oro / suspensiones de nanocristal (GB-166-seno, GB-165-cuadrado y 162-GB-triángulo)

30 En general, este ejemplo utiliza la misma configuración de fabricación usada para hacer GB-134 en el ejemplo 16, y por brevedad, las características específicas del aparato de conducto utilizado se examinan en detalle en ese ejemplo. La principal diferencia en la elaboración de suspensiones o coloides en este ejemplo fue tres tipos diferentes de formas de onda (es decir, ondas de seno, cuadradas y triangulares) fueron generados por un generador de función BK Precision 4040 20MHz, 501FG. La salida de forma de onda se introduce en una fuente de CA programable de Chroma 61604, 501 AC. El voltaje aplicado para las ondas senoidales ("SI") y las ondas cuadradas ("SQ") era de 300 voltios, mientras que el voltaje aplicado para las formas de onda en forma triangular ("TR") era de 250 voltios. Cada una de estas formas de onda se muestra en la figura 41. Específicamente, GB-166 utilizó una onda senoidal; GB - 165 utilizó una onda cuadrada; y GB-162 utilizó una onda triangular como entradas eléctricas a los electrodos 5a/5b.

40 La figura 42A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de suspensión GB-166; y la figura 42B muestra el histograma de distribución de tamaño de partículas basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro seco de suspensión GB-166.

45 La figura 43A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de la suspensión GB-165; y la figura 43B muestra el histograma de distribución de tamaño de partículas basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secados de la suspensión GB-165.

50 La figura 44A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de suspensión GB-162; y la figura 44B muestra el histograma de distribución de tamaño de partículas basado en mediciones TEM de los nanocristales de oro secados de suspensión GB-162.

Ejemplo 15

55 Fabricación de nanopartículas basadas en oro/suspensiones de nanopartículas (GB-163 y GB-164)

60 En general, este ejemplo utiliza la misma configuración de fabricación usada para hacer GB-134 en el ejemplo 16, y por brevedad, las características específicas del aparato de conducto utilizado se examinan en detalle en ese ejemplo. La principal diferencia en la elaboración de las suspensiones o coloides en este ejemplo fue que dos ciclos de trabajo diferentes para las formas de onda triangulares del generador de onda de señal 501FG y fuente de alimentación de CA programable 501AC (es decir, se discute en el ejemplo 14) fueron utilizados. La tensión aplicada para cada forma de onda triangular fue de 250volts. Concretamente, cada uno de GB-166 y GB-164 utilizó las formas de onda en forma triangular TR-1, TR-2 y TR-3 se muestra en la figura 45 como entradas eléctricas a los electrodos 5a/5b. Forma de onda TR-2 es el ciclo de servicio máximo, mientras que TR-3 era el ciclo de trabajo mínimo.

65

ES 2 623 504 T3

La figura 46A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de la suspensión GB-163; y la figura 46B muestra el histograma de distribución de tamaño de partículas basado en mediciones TEM de la suspensión de nanocristales de oro secados de suspensión GB-163.

- 5 La figura 47A muestra una fotomicrografía TEM representante de nanocristales de oro, secados de la suspensión GB-164; y la figura 47B muestra el histograma de distribución de tamaño de partículas basado en mediciones TEM de nanocristales de oro secados de la suspensión GB-164.

Ejemplo 16

- 10 Fabricación de nanocristales basados en oro/suspensiones de nanocrystal (GB-134); (GB-098, GB-113 y GB-118); (120 GB y GB-123); (GB-139); (GB-141 y GB-144); (GB-079, GB-089 y GB-062); y (GB-076 y GB-077)

- 15 En general, este ejemplo 16 utiliza ciertas modalidades de la invención asociada con los aparatos que generalmente se muestran en las figuras 20C-20H, 21B-21G y 22B. Además, el cuadro 5 resume parámetros clave de procesamiento utilizados en conjunción con las figuras 20C-20H, 21B-21G y 22B. Además, el cuadro 5 describe: 1) resultante "ppm" (es decir, concentraciones de nanopartículas de oro), 2) un número único para "Radios hidrodinámicos" tomados de la media de los tres picos más altos de amplitud se muestra en cada una de las figuras 49C-61A-61E (discutidos más adelante en este documento) y 3) "diámetro promedio TEM" que es el modo, corresponde al diámetro de partícula que se produce con mayor frecuencia, determinada por las gráficas de histograma TEM mostradas en las figuras 49B-61B. Se realizaron estas caracterizaciones físicas como se describe en otra parte en el presente documento.

Cuadro 5 (1 de 2)

ID de corrida		GB-134	GB-098	GB-113	GB-118	GB-120	GB-123	GB-139
Vel. de flujo	Interno (ml/min)	150	150	150	150	150	150	150
	Externo (ml/min)	110	110	110	110	110	110	110
voltios	# de conj. 1	750	750	750	750	750	750	750
	# de conj 2	300	297	300	300	300	300	300
	# de conj 3-9	300	297	300	300	300	300	300
PE:NaHCO ₃ (mg/ml)		0.53	0.40	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53
Diámetro del cable (mm)		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Contacto "WL" (pul/mm)		.75/19	1/25	.5/13	.5/13	.5/13	.5/13	.75/19
Figura de config. del electrodo		17b	17b	17b	17c	17b	17b	17d
PPM de Au producido		8.9	8.0	10.3	9.3	10.4	10.1	10.0
Temp. de salida a 32°C		85	93	88	86	84	93	87
Dimensiones	fig plasma 4	18a	18a	18a	18a	18a	18a	18a
	Figuras del proced.	20h,21e	20f,21b	20f,21b	20f,21b	20g,21d	20g,21d	20c,20h, 21e,21f, 21g
	M1 (pulg/mm)	2/51	1/25	2/51	2/51	3.5/89	2/51	2/51
	M2 (pulg/mm)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
	LT (pulg/mm)	36/914	48/1219	36/914	36/914	36/914	36/914	36/914
	d (pulg/mm)	.75/19	1/25	.5/13	.5/13	0.5/13	0.5/13	.75/19
S (pulg/mm)		1.5/38.1	3/7.62	2.5/63.5	2.5/63.5	2.5/63.5	2.5/63.5	1.5/38.1
Corriente del electrodo (A)		0.56	0.53	0.53	0.52	0.51	0.48	Fig 54d
Corriente extraída total (A)		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Radio hidrodinámico (nm)		16.2	20.02	12.8	12.3	12.8	12.8	15.9
Diámetro prom. TEM (nm)		17.48	20.03	13.02	12.06	13.34	13.65	13.97
"c-c" (mm)		76	83	83	83	83	83	83
Conjunto 1	# de electrodo	1a	1a	1a	1a	1a	1a	1a
	"x" (pulg/mm)	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4
	# de electrodo	5a	5a	5a	5a	5a	5a	5a
"c-c" (mm)		89	83	89	89	89	89	83

ES 2 623 504 T3

Conjunto 2	# de electrodo	5b						
	"x" (pulg/mm)	n/a						
	# de electrodo	5b'						
"c-c" (mm)		38	76	59	56	57	38	76
Conjunto 3	# de electrodo	5c						
	# de electrodo	5c'						
"c-c" (mm)		38	105	60	59	64	38	76
Conjunto 4	# de electrodo	5d						
	# de electrodo	5d'						
"c-c" (mm)		89	143	70	68	70	44	127
Conjunto 5	# de electrodo	5e						
	# de electrodo	5e'						
"c-c" (mm)		89	165	84	103	70	51	127
Conjunto 6	# de electrodo	5f						
	# de electrodo	5f'						
"c-c" (mm)		89	178	108	102	64	54	127
Conjunto 7	# de electrodo	5g						
	# de electrodo	5g'						
"c-c" (mm)		178	178	100	100	76	54	216
Conjunto 8	# de electrodo	5h						
	# de electrodo	5h'						
"c-c" (mm)		89	216	127	135	76	57	83
Conjunto 9	# de electrodo	n/a	5i	5i	5i	5i	5i	n/a
	# de electrodo	n/a	5i'	5i'	5i'	5i'	5i'	n/a
"c-c" (mm)		n/a	76	191	178	324	464	n/a

Cuadro 5 (2 de 2)

ID de corrida		GB-141	GB-144	GB-079	GB-089	GB-062	GB-076	GB-077
Vel. de flujo	Interno (ml/min)	150	110	150	150	150	150	150
	Externo (ml/min)	110	62	110	110	110	110	110
voltios	# de conj. 1	750	750	750	750	750	750	750
	# de conj 2	299	299	255	255	750	750	750
	# de conj 3-9	299	299	255	255	249	306	313
PE:NaHCO ₃ (mg/ml)		0.53	0.53	0.40	0.40	0.40	0.53	0.40
Diámetro del cable (mm)		1.0	1.0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Contacto "WL" (pul/mm)		.5/13	0.5/13	2/51	2/51	2/51	1/25	1/25
Figura de config. del electrodo		17d	17d	17b	17b	17b	17b	17b
PPM de Au producido		10.1	20.2	10.8	12.4	16.7	7.8	7.5
Temp. de salida a 32°C		86	89	94	99	95	98	97

ES 2 623 504 T3

Dimensiones	fig plasma 4	18a	18a	18a	18a	18b	18b	18b
	Figuras del proced.	20c,21h 21e,21f 21g	20c,20h 21e,21f 21g	20d,21c	20d,21c	20e,21c	20e,22b	20e,22b
	M1 (pulg/mm)	2/51	2/51	1/51	.75/19	1/25	2.7/68.6	2.7/68.6
	M2 (pulg/mm)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0.5/13	0.5/13
	LT (pulg/mm)	36/914	36/914	24/610	24/610	24/610	24/610	24/610
	d (pulg/mm)	.5/13	.5/13	2/51	2/51	2/51	1/25	1/25
	S (pulg/mm)	1.5/38.1	1.5/38.1	3.3/83.8	3.3/83.8	3.3/83.8	3.5/88.9	3.5/88.9
Corriente del electrodo (A)	Fig 55d	Fig 56d	0.66	n/a	0.7	0.51	0.48	
Corriente extraída total (A)	n/a	n/a	11.94	8.98	12.48	13.62	12.47	
Radio hidrodinámico (nm)	26.2	16.4	14.9	17.2	17.0	9.7	11.5	
Diámetro prom. TEM (nm)	11.42	18.12	10.63	15.89	11.75	11.07	8.69	
"c-c" (mm)	n/a	83	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	
Conjunto 1	# de electrodo	n/a	1a	1a	1a	1a	1a	1a
	"x" (pulg/mm)	n/a	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4
	# de electrodo	n/a	5a	5a	5a	5a	5a	5a
"c-c" (mm)	83	83	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	
Conjunto 2	# de electrodo	5b	5b	5b	5b	1b	1b	1b
	"x" (pulg/mm)	n/a	n/a	n/a	n/a	.25/6.4	.25/6.4	.25/6.4
	# de electrodo	5b'	5b'	5b'	5b'	5b	5b	5b
"c-c" (mm)	76	76	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	
Conjunto 3	# de electrodo	5c	5c	5c	5c	5c	5c	5c
	# de electrodo	5c'	5c'	5c'	5c'	5c'	5c'	5c'
"c-c" (mm)	76	76	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	
Conjunto 4	# de electrodo	5d	5d	5d	5d	5d	5d	5d
	# de electrodo	5d'	5d'	5d'	5d'	5d'	5d'	5d'
"c-c" (mm)	127	127	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	
Conjunto 5	# de electrodo	5e	5e	5e	5e	5e	5e	5e
	# de electrodo	5e'	5e'	5e'	5e'	5e'	5e'	5e'
"c-c" (mm)	127	127	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	
Conjunto 6	# de electrodo	5f	5f	5f	5f	5f	5f	5f
	# de electrodo	5f'	5f'	5f'	5f'	5f'	5f'	5f'
"c-c" (mm)	127	127	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	
Conjunto 7	# de electrodo	5g	5g	5g	5g	5g	5g	5g
	# de electrodo	5g'	5g'	5g'	5g'	5g'	5g'	5g'
"c-c" (mm)	216	216	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	
Conjunto 8	# de electrodo	5h	5h	5h	5h	5h	5h	5h
	# de electrodo	5h'	5h'	5h'	5h'	5h'	5h'	5h'
"c-c" (mm)	83	83	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	

Conjunto 9	# de electrodo	n/a	n/a	n/a	n/a	5i	5i	5i
	# de electrodo	n/a	n/a	n/a	n/a	5i'	5i'	5i'
"c-c" (mm)		n/a	n/a	n/a	n/a	n/m	n/m	n/m

Todos los miembros de conducto 30a' y 30b' en las figuras mencionadas antes se elaboraron de plexiglass de un grosor de 1/8" (aproximadamente 3 mm) y policarbonato con un grosor de 1/4" (aproximadamente 6 mm), respectivamente. La estructura de apoyo 34 (no mostrado en muchas de las figuras pero discutido en otra parte aquí) también se hace de plexiglass que tienen un grosor de aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6-7 mm de grosor). Contrario a las modalidades mostradas en las figuras 19A y 19B, cada miembro de conducto 30a es integral con el miembro de conducto 30b' y de esta manera es designado 30a' (por ejemplo, no se proporcionó ningún medio de bombeo separado después del miembro de conducto 30a, como en algunos ejemplos anteriores). La forma de corte transversal de cada miembro de conducto 30a' usado en este ejemplo corresponde a la forma que se muestra en la figura 10B (es decir, sección transversal en forma de trapecoide). Dimensiones relevantes para cada porción de miembro de conducto 30b' se muestran en el cuadro 5 como "M1" (es decir, la anchura interior del conducto en la parte de entrada del miembro de conducto 30b'), "M2" (es decir, la anchura interior del conducto en la parte de salida del miembro de conducto 30b'), "L_T" (es decir, longitud transversal o longitud de flujo del miembro de conducto 30b'), "S" (es decir, la altura del miembro de conducto 30b') y "d" (es decir, profundidad del líquido 3" dentro del miembro de conducto 30b'). En algunas modalidades, la distancia "M" separando las porciones laterales "S", "S'" (se refiere a la figura 10A) del miembro de conducto 30b' eran los mismos. En estos casos, el cuadro 5 representa una dimensión de valor para sólo "M1" y la entrada para "M2" es representada como "N/A". En otras palabras, algunos miembros de conducto 30b' eran cónicos a lo largo de su longitud longitudinal y en otros casos, los miembros de conducto 30b' eran sustancialmente rectos a lo largo de su longitud longitudinal. El espesor de cada porción de pared lateral también mide alrededor de 1/4" (aproximadamente 6 mm) de grosor. Se informan tres longitudes diferentes longitudinales "L_T" para los miembro de conducto 30b' (es decir, 610 mm, 914 mm o 1219 mm) sin embargo, otras longitudes L_T deben considerarse dentro de los límites y fronteras del conducto inventivo.

El cuadro 5 muestra que el potenciador de procesamiento NaHCO₃ fue añadido al agua purificada (discutido en otras partes en el presente documento) en cantidades de aproximadamente 0.4 mg/ml o 0.53 mg/ml. Debe entenderse que otras cantidades de este potenciador de procesamiento también funcionan dentro de los límites y fronteras de la invención. El agua purificada/mezcla de NaHCO₃ se usa como la entrada de líquido 3 en el miembro de conducto 30a'. La profundidad "d" del líquido 3' en el miembro de conducto 30a' (es decir, donde el plasma 4 se forma) es de alrededor de 7/16" a aproximadamente 1/2" (aproximadamente 11 mm a aproximadamente 13 mm) en varios puntos a lo largo del miembro de conducto 30a'. La profundidad "d" fue parcialmente controlada mediante el uso del dique 80 (se muestra en las figuras 18A y 18B). Específicamente, el dique 80 fue proporcionado al extremo de salida 32 del miembro de conducto 30a' y ayudó a crear la profundidad "d" (se muestra en la figura 10B como "d") de alrededor de 7/6"-1/2" (aproximadamente 11-13mm) de profundidad. La altura "j" del dique 80 mide aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6 mm) y la longitud longitudinal "k" mide aproximadamente 1/2" (aproximadamente 13 mm). La anchura (no mostrada) está completamente a través de la dimensión inferior "R" del miembro de conducto 30a'. En consecuencia, el volumen total de líquido 3' en el miembro de conducto 30a' durante el funcionamiento del mismo es de aproximadamente 2.14pul³ (aproximadamente 35 ml) a aproximadamente 0.89pul³ (aproximadamente 14.58 ml).

La velocidad de flujo del líquido 3' en el miembro de conducto 30a' así como en el miembro de conducto 30b', fue aproximadamente 150 ml por minuto para todos pero una de las muestras formadas (es decir, GB-144 que fue aproximadamente 110ml/minuto) y la tasa de flujo del miembro de conducto 30b' en el punto 32 fue aproximadamente 110 ml/minuto (es decir, debido a evaporación) para todas las muestras excepto GB-144, que fue de alrededor de 62 ml/minuto. La cantidad de evaporación que se produjo en GB-144 fue un porcentaje mayor que las otras muestras porque el tiempo de permanencia del líquido 3" en el miembro de conducto 30b' era más largo respecto a las otras muestras efectuadas de acuerdo a esta modalidad. Otros caudales aceptables deben considerarse dentro de los límites y fronteras de la invención.

Tal flujo de líquido 3' se obtiene al utilizar una unidad de bomba Masterflex® L/S 40 potencia de 0.1, 10-600 rpm. El número de modelo de la bomba Masterflex® 40 fue de 77300-40. La unidad de bomba tenía una cabeza de bomba también hecha por Masterflex® conocida como Easy-Load modelo N° 7518-10. En términos generales, la cabeza de la bomba 40 se conoce como una cabeza peristáltica. La bomba 40 y cabeza estaban controlados por una unidad de Masterflex® LS Digital Modular. El número de modelo para la unidad Digital Modular es 77300-80. La configuración exacta de la unidad Digital Modular fue, por ejemplo, 150 mililitros por minuto para todas las muestras excepto GB-144 que fue, por ejemplo, 110 ml/minuto. El tubo de Tygon® que tiene un diámetro de 1/4" (es decir, tamaño 06419-25) fue colocado en la cabeza peristáltica. La tubería fue hecha por Saint Gobain para Masterflex®. Uno de los extremos de la tubería fue entregado a un primer extremo 31 del miembro de conducto 30'a por un medio de difusión de flujo situado en él. Los medios de difusión de flujo dirigidos para minimizar la perturbación y burbujas en el agua 3 introducida en el miembro de conducto 30a', así como cualquier condición de pulso generada por la bomba peristáltica 40. En este sentido, un pequeño reservorio sirvió como los medios de difusión y se proporcionó en un punto verticalmente por encima del extremo 31 del miembro de conducto 30a' tal que cuando se desborda el dique,

un flujo relativamente constante de líquido 3' hacia el extremo 31 del miembro de conducto 30a' en forma de V ha ocurrido.

El cuadro 5 muestra que hay un solo conjunto de electrodo 1a/5a utilizado en este ejemplo 18. El plasma 4 fue creado con un electrodo 1 similar en forma a lo mostrado en la figura 5E y pesaba unos 9.2 gramos. Este electrodo fue 99.95% de oro puro. El otro electrodo 5a comprende una placa de platino en forma triangular derecha que mide aproximadamente 14mm x 23mm x 27mm y aproximadamente 1mm de grosor y que tiene aproximadamente 9mm sumergidos en el líquido 3'. Todas las demás condiciones de corrida pertinentes se muestran en el cuadro 5.

Como se muestra en las figuras 20C-20H, la salida del miembro de conducto 30a' fue el líquido acondicionado 3' y este líquido acondicionado 3' fluye directamente a un segundo miembro de conducto 30b'. El segundo miembro de conducto 30b', se muestra en las figuras 21B-21G tiene mediciones como se informa en el cuadro 5. Este miembro de conducto 30b' contiene alrededor de 600 ml de líquido 3" en éste a aproximadamente 1100 ml dependiendo de las dimensiones del conducto y la profundidad "d'" del líquido 3" en este. El cuadro 5, junto con las figuras 20C-20H, 21B-21G y 22B muestra una variedad de configuraciones del electrodo diferentes. Por ejemplo, ejemplos anteriores aquí describen el uso de cuatro conjuntos de electrodos 5/5, con un conjunto de electrodo 1/5. En este ejemplo, ocho o nueve conjuntos de electrodos fueron usados (por ejemplo, un conjunto 1/5 con siete u ocho conjuntos 5/5; o dos conjuntos 1/5 con siete conjuntos 5/5). Cada uno de los conjuntos de electrodos 5/5 compuesto por cables de oro puro 99.99% que miden aproximadamente 0.5 mm de diámetro o 1.0mm de diámetro, como se indica en el cuadro 5. La longitud de cada electrodo de cable 5 que estaba en contacto con el líquido 3" (reportado como "W_L" en el cuadro 5) medido desde aproximadamente 0.5 pulgadas (aproximadamente 13 mm) de largo a alrededor de 2.0 pulgada (aproximadamente 51 mm) de largo. Dos configuraciones de conjunto de electrodos diferentes se utilizaron 5/5'. Figuras 21B, 21C, 21E, 21F, 21G y 22B muestran conjuntos de electrodos 5/5' orientados a lo largo de un plano (por ejemplo, dispuesto en forma de línea a lo largo de la dirección de flujo de los líquidos 3"). Mientras que la figura 21D muestra que los conjuntos de electrodo 5/5' se rotan alrededor de 90° respecto a los conjuntos de electrodos antes mencionados 5/5'. Además, las modalidades que se muestran en las figuras 20A-20H muestran los conjuntos de electrodos 1/5 y 5/5' se encuentran en el mismo plano. Sin embargo, debe entenderse que el plano imaginario creado entre los electrodos en cada conjunto de electrodos 1/5 y 5/5' puede ser paralelo a la dirección de flujo del líquido 3" o perpendicular a la dirección de flujo del líquido 3" o en un ángulo con relación a la dirección de flujo del líquido 3".

Con respecto a las figuras 20C-20H, 21B-21G y 22B, cada conjunto de electrodos separados 5/5' (por ejemplo, conjunto 2, conjunto 3 - conjunto 8 y conjunto 9) se conectan eléctricamente a los dispositivos transformadores, 50 y 50a como se muestra ahí. Específicamente, los transformadores 50 y 50a fueron conectados eléctricamente a cada conjunto de electrodos, según el diagrama de cableado mostrado en las figuras 20C-20H. El cableado exacto variaba entre ejemplos y debe hacerse referencia a la figuras 20C-20G información específica de conexión eléctrica. En la mayoría de los casos, cada dispositivo transformador 50, 50a fue conectado a una línea de entrada de AC independiente que está 120° fuera de fase respecto a los demás. Los transformadores 50 y 50a estaban conectados eléctricamente en una manera para no sobrecargar un circuito eléctrico sencillo y causan, por ejemplo, que un interruptor de circuito ascendente se desacople (por ejemplo, cuando se utiliza en estas condiciones, un solo transformador 50/50a podría extraer corriente suficiente para causar problemas eléctricos ascendentes). Cada transformador 50/50a es un transformador AC variable construido de una solo bobina/enrollado de alambre. Esta bobina actúa como parte de la bobina primaria y secundaria. El voltaje de entrada se aplicó a través de una porción fija de la bobina. El voltaje de salida fue tomado entre un extremo de la bobina y otra conexión a lo largo de la bobina. Al exponer parte de la bobina y hacer la conexión secundaria con un cepillo de deslizamiento, se obtuvo una proporción variable continua. La relación entre los voltajes de entrada y salida es igual a la relación entre el número de vueltas de la bobina a la que se conectan. Concretamente, cada transformador fue un Mastech TDGC2-5kVA, regulador de voltaje 10A, salida 0-250V.

El cuadro 5 se refiere a cada uno de los conjuntos de electrodos "# de conjunto" (por ejemplo, "conjunto 1" a "conjunto 9"). Cada electrodo de los conjuntos de electrodos 1/5 o 5/5 fue establecido para que funcione dentro de un intervalo específico de voltaje. Los voltajes enumerados en el cuadro 5 son los voltajes usados para cada conjunto de electrodos. La distancia "c-c" (con referencia a la figura 14) de la línea central de cada conjunto de electrodos en el conjunto de electrodos adyacentes también está informado. Además, también se ha informado la distancia "x" asociada con el electrodo 1 utilizado. Para el electrodo 5, no se informó ninguna distancia "x". Muestra GB-118 tuvo un arreglo 5a y 5b de electrodo ligeramente diferente de los otros ejemplos en este documento. Específicamente, puntas o extremos 5t y 5t' de los electrodos 5a/5b, respectivamente, se encuentran más cerca entre sí que otras porciones de los electrodos 5a y 5b. La distancia "dt" entre las puntas 5t y 5t' varió entre aproximadamente 7/16 pulgadas (aproximadamente 1.2 cm) y aproximadamente 2 pulgadas (aproximadamente 5 cm). También se informan otros parámetros pertinentes en el cuadro 5.

Todos los materiales de los electrodos 1/5 se obtuvieron de ESPI, que tiene una dirección de 1050 Benson Way, Ashland, Oregon 97520. Todos los materiales para los electrodos 5/5 en corridas GB-139, GB-141, GB-144, GB-076, GB-077, GB-079, GB-089, GB-089, GB-113 y GB-118, GB-120 y GB-123 se obtuvieron de Alfa Aesar, que tiene una dirección de 26 Parkridge Road, Ward Hill, MA 01835. Todos los materiales de los electrodos 5/5 en corrida de GB-062 se obtuvieron de ESPI, 1050 Benson Way, Ashland, Oregon 97520.

Las figuras 49A1-61A2 muestran una microfotografía TEM representante para cada uno de los nanocristales de oro, secados de cada suspensión o coloide que se hace referencia en el cuadro 5 y formado de acuerdo al ejemplo 16.

5 Las figuras 49B-61B muestran la distribución de tamaño medida de los nanocristales de oro medidos al usar el instrumento TEM/software discutido al inicio en los ejemplos 5-7 para cada solución seca o coloide referenciada en el cuadro 5 y formada de acuerdo al ejemplo 16.

10 Figuras 49C-61C muestran gráficamente conjuntos de medición de datos de dispersión de la luz dinámica de los nanocristales (es decir, los radios hidrodinámicos) realizados de acuerdo con cada suspensión o coloide referenciado en el cuadro 5 y formado de acuerdo al ejemplo 16. Cabe señalar que información de tamaño de partícula de dispersión de luz dinámica es diferente de los histogramas TEM medidos porque la dispersión dinámica de luz utiliza algoritmos que asumen las partículas son todas esferas (que no lo son), así como medidas del radio hidrodinámico (por ejemplo, la influencia de la partícula en el agua también se detecta e informa además de los radios físicos reales de las partículas). En consecuencia, no resulta sorprendente que exista una diferencia en los tamaños de partícula informados entre los reportados en los datos de histograma TEM de aquellos reportados en los datos de dispersión de luz dinámica justo como en los otros ejemplos incluidos en este documento.

20 Ahora se hace referencia a las figuras 20C, 20H, 21E, 21F y 20G que son representativas de las estructuras que fueron usadas para hacer las muestras GB-139, GB-141 y GB-144. El miembro de conducto 30b' usado para hacer estas muestras es diferente del otro miembro de conducto 30b' utiliza este ejemplo 16 porque: 1) ocho conjuntos de electrodos 1/5 y 5/5 están conectados a dispositivos de control de 20 y 20A-20G (es decir, ver la figura 20H) que ajusta automáticamente la altura de, por ejemplo, cada electrodo 1/5 o 5/5 en cada conjunto de electrodo 1/5; y 2) tubos receptores hembra o5a/o5a'-o5g/o5g' que están conectados a una parte inferior del miembro de conducto 30b' de tal forma que los electrodos en cada conjunto de electrodos 5/5 podrían insertarse removiblemente en cada tubo receptor hembra o5 cuando y si se desea. Cada tubo receptor hembra o5 se elabora de policarbonato y tiene un diámetro interior de aproximadamente 1/8 de pulgada (aproximadamente 3.2 mm) y se fija en el lugar por un solvente adhesivo a la parte inferior del miembro de conducto 30b'. Agujeros en la parte inferior del miembro de conducto 30b' permiten el diámetro exterior de cada tubo o5 para fijarse en él tal que un extremo del tubo o5 fue nivelado con la superficie de la parte inferior del conducto 30b'. Los diámetros internos de los tubos o5 efectivamente impiden cualquier cantidad significativa del líquido 3" que entre en el tubo receptor hembra o5. Sin embargo, algo de líquido puede fluir en el interior de uno o más de los tubos receptores hembra o5. La longitud o altura vertical de cada tubo receptor hembra o5 utilizado en este ejemplo fue de alrededor de 6 pulgadas (aproximadamente 15.24 cm) sin embargo, las longitudes más cortas o más largas caen dentro de los límites y fronteras de esta descripción. Además, mientras el tubo receptor hembra o5 se muestra posteriormente recto, esos tubos podrían ser curvados en forma de J o U de manera que dichas aberturas lejos del miembro de conducto 30b' podría estar por encima de la superficie superior del líquido 3", si se desea.

40 Con referencia a figuras 21E, 21F y 21G, cada electrodo 5/5' primero se coloca en contacto con el líquido 3" que acaba de entrar en el tubo receptor hembra o5. Después de una cierta cantidad de tiempo de procedimiento, metal de oro se quitó de cada electrodo de alambre 5 que causó que el electrodo 5 adelgace (es decir, se hace más pequeño en diámetro) que cambia, por ejemplo, densidad de corriente y/o la velocidad a la que se formaron las nanopartículas de oro. En consecuencia, los electrodos 5 fueron trasladados hacia el tubo receptor hembra o5 resultando en electrodos 5 frescos y gruesos que entran en el líquido 3" en una parte de superficie superior del mismo. En esencia, un perfil de erosión o efecto cónico se formó en los electrodos 5 después que cierta cantidad de tiempo de procesamiento ha transcurrido (es decir, porciones del alambre cerca de la superficie de los líquidos 3" eran normalmente más gruesas que las porciones cerca del tubo receptor hembra o5) y tal perfil del electrodo de alambre o ahusamiento puede permanecer esencialmente constante a lo largo de un procedimiento de producción, si se desea, lo que esencialmente produce un producto idéntico que se produce en cualquier momento después de una fase inicial de pre-equilibrio durante una corrida de producción que permite, por ejemplo, el procedimiento cGMP bajo las actuales directrices de FDA y/o es condescendiente con ISO 9000 también.

55 El movimiento de los electrodos 5 en el tubo receptor hembra o5 puede ocurrir mediante la supervisión de una variedad de parámetros de procedimiento específicos que cambian en función del tiempo (por ejemplo, corriente, amperios, concentración de nanocristales, densidad o color óptico, conductividad, pH etc.) o puede ser trasladado una cantidad predeterminada en varios intervalos de tiempo para dar lugar a una tasa fija de movimiento, cualquiera puede ser más conveniente en la totalidad de las circunstancias de procesamiento. En este sentido, las figuras 54D, 55D y 56D muestran que la corriente fue supervisada/controlada en función del tiempo para cada uno de los 16 electrodos utilizados para hacer muestras GB-139, GB-141 y GB-144, respectivamente, causando un movimiento vertical de los electrodos 5 en el tubo receptor femenino o5. En estas condiciones de procesamiento, cada electrodo 5 fue trasladado a un ritmo de aproximadamente 3/4 de pulgada cada 8 horas (alrededor de 2.4 mm/hora) para mantener las corrientes informadas en las figuras 54D, 55D y 56D. Las figuras 55D y 56D muestran una fase de aceleración o pre-equilibrio típica donde la corriente empieza alrededor de 0.2-0.4 amperios y aumenta a aproximadamente 0.4-0.75 después de aproximadamente 20-30 minutos. Se recolectaron las muestras sólo desde la fase de equilibrio. La fase de pre-equilibrio se produce porque, por ejemplo, la concentración de nanocristales producidos en el líquido 3" aumenta en función del tiempo hasta que la concentración alcance las condiciones de equilibrio (por ejemplo, condiciones de nucleación y crecimiento sustancialmente constantes dentro del aparato),

condiciones de equilibrio las cuales permanecen sustancialmente constantes durante el resto del procesamiento debido a los procedimientos de control descritos aquí.

5 Espectros de absorción de energía se obtuvieron de las muestras en el ejemplo 16 utilizando espectroscopia UV-VIS. Esta información fue adquirida mediante un sistema monocrometro de exploración de haz doble capaz de analizar la gama de longitud de onda de 190nm a 1100nm. El espectrómetro Jasco V-530 UV-Vis fue utilizado para recopilar la espectroscopia de absorción. Instrumentación es establecida para soportar la medición de muestras líquidas de baja concentración mediante uno de un número de portadores de muestra de cuarzo-cebado o "cubetas". Las diversas cubetas permiten que datos sean recopilados en 10 mm, 1 mm o ruta óptica de 0.1 mm de muestra. 10 Datos fueron adquiridos durante el intervalo de longitud de onda con entre 250-900nm del detector con los siguientes parámetros; ancho de banda de 2nm, con paso de datos de 0.5nm, un fotodiodo de silicio con un fondo de línea de base de agua. La velocidad de análisis de deuterio (D2) y halógeno (WI) de fuentes de 400 nm/mm fueron usadas como las fuentes de energía primaria. Rutas ópticas de estos espectrómetros fueron ajustadas para permitir que el haz de energía pase por el centro de la cubeta de muestra. Preparación de la muestra se limitó a llenado y tapado de las cubetas y luego la colocación física de las muestras en el portador de la cubeta, dentro del compartimento de muestra completamente cerrada. Se determinó la absorción óptica de energía por los materiales de interés. La salida de datos se mide y muestra como unidades de absorbancia (por la ley de Beer-Lambert) frente a longitud de onda. 15

20 Se obtuvieron patrones espectrales en un intervalo UV-Visible para cada una de las soluciones/coloides producidos en ejemplo 16.

Específicamente, la figura 61D muestra patrones espectrales UV-Vis de cada una de las 14 suspensiones y coloides, (GB- 134) (GB-098, GB-113 y GB-118); (GB-120 y GB-123); (GB-139); (GB-141 y GB-144); GB-079, GB-089 y GB-062); y (GB-076 y GB-077) dentro de un intervalo de longitud de onda de cerca de 250nm-750nm. 25

La figura 61E muestra el patrón espectral UV-Vis para cada una de las 14 suspensiones/coloides sobre una gama de longitud de onda de aproximadamente 435nm-635nm.

30 En general, la espectroscopia UV-Vis es la medición de la longitud de onda y la intensidad de absorción de la luz visible y casi ultravioleta por una muestra. Luz ultravioleta y visible son lo suficientemente energéticas para promover electrones exteriores a niveles más altos de energía. Espectroscopia UV-Vis puede aplicarse a las moléculas e iones inorgánicos o complejos en solución o suspensión.

35 Los espectros UV-Vis tienen características amplias que pueden utilizarse para la identificación de la muestra, pero también son útiles para las mediciones cuantitativas. La concentración de un analito en solución puede determinarse midiendo la absorbancia en algunas longitudes de onda y aplicando la ley de Lambert-Beer.

Ejemplo 17

40 Manufactura de nanocristales basados en oro/suspensión de nanocrystal GB-056

En general, el ejemplo 17 utiliza ciertas modalidades de la invención asociados con los aparatos que generalmente mostrados en las figuras 17A, 18A, 20B y 22A. Los miembros de conducto 30a (30a') y 30b fueron elaborados de plexiglass de un grosor de 1/4 (aproximadamente 6 mm) y policarbonato con un grosor de 1/8" (aproximadamente 3 mm), respectivamente. La estructura de apoyo 34 también se hacen de plexiglás que tienen un grosor de aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6-7 mm de grosor). Como se muestra en la figura 20B, el miembros de conducto 30a fue integrado con el miembro de conducto 30b' y fue designado 30a' (por ejemplo, no se proporcionó ningún medio bombeo separado después del miembro de conducto 30a, como en algunos ejemplos anteriores). La forma de corte transversal del miembro de conducto 30a' como se muestra en figuras 18A y 20B corresponde a esa forma se muestra en la figura 10B (es decir, una "V" truncada). La parte base "R" de la "V" truncada mide unos 0.5" (aproximadamente 1 cm) y cada porción lateral "S", "S'" medido alrededor de 1.5" (aproximadamente 3.75 cm). La distancia "M" que separa las porciones laterales "S", "S'" de los miembros de paso en forma de V 30a fue aproximadamente 2 1/4"-2 5/16" (aproximadamente 5.9 cm) (medido desde el interior al interior). El espesor de cada porción de pared lateral también mide alrededor de 1/8" (aproximadamente 3 mm) de grosor. La longitud longitudinal "L_T" (referirse a la figura 11A) del miembro de conducto en forma de V 30a' mide aproximadamente 1 pie (unos 30 cm) de largo desde el punto 31 al punto 32. 50

60 Agua purificada (discutido en otra parte en el presente documento) fue mezclada con aproximadamente 0.396 g/l de NaHCO₃ y fue utilizada como la entrada de líquido 3 en el miembro de conducto 30a'. La profundidad "d" (referirse a la figura 10B) del líquido 3' en el miembro de conducto en forma de V 30a' es de alrededor de 7/16" a aproximadamente 1/2" (aproximadamente 11 mm a aproximadamente 13 mm) en varios puntos a lo largo del miembro de conducto 30a'. La profundidad "d" fue parcialmente controlada mediante el uso del dique 80 (se muestra en la figura 18A). Específicamente, el dique 80 fue proporcionado al final 32 y ayudó a crear la profundidad "d" (se muestra en la figura 10B) de alrededor de 7/6"-1/2" (aproximadamente 11-13mm) de profundidad. La altura "j" del dique 80 mide aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6 mm) y la longitud longitudinal "k" mide aproximadamente 60 65

1/2" (aproximadamente 13 mm). La anchura (no mostrada) está completamente a través de la dimensión inferior "R" del miembro de conducto 30a'. En consecuencia, el volumen total de líquido 3' en el miembro de conducto en forma de V 30a' durante el funcionamiento del mismo es de aproximadamente 2.14pul³ (aproximadamente 35 ml).

5 La velocidad del flujo del líquido 3' en miembro de conducto 30a' es de aproximadamente 150 ml por minuto y la velocidad del flujo del miembro de conducto 30b' en el punto 32 fue aproximadamente 110 ml/minuto (es decir, debido a evaporación). Tal flujo de líquido 3' se obtuvo mediante la utilización de una unidad de bombeo Masterflex® L/S 40 potencia 0.1, 10-600 rpm. El número de modelo de la bomba Masterflex® 40 fue 77300-40. La unidad de bomba tenía una cabeza de bomba también hecha por Masterflex® conocida como Easy-Load modelo N° 7518-10.

10 En términos generales, la cabeza de la bomba 40 se conoce como una cabeza peristáltica. La bomba 40 y cabeza estaban controlados por una unidad de Masterflex® LS Digital Modular. El número de modelo para la unidad Digital Modular es 77300-80. Por ejemplo, la configuración exacta de la unidad Digital Modular fue 150 mililitros por minuto. El tubo de Tygon® que tiene un diámetro de 1/4" (es decir, tamaño 06419-25) fue colocado en la cabeza peristáltica. La tubería fue hecha por Saint Gobain para Masterflex®. Uno de los extremos de la tubería fue entregado a un primer extremo 31 del miembro de conducto 30'a por un medio de difusión de flujo situado en él. Los

15 medios de difusión de flujo dirigidos para minimizar la perturbación y burbujas en el agua 3 introducida en el miembro de conducto 30a', así como cualquier condición de pulso generada por la bomba peristáltica 40. En este sentido, un pequeño reservorio sirvió como los medios de difusión y se proporcionó en un punto verticalmente por encima del extremo 31 del miembro de conducto 30a'tal que cuando se desborda el dique, un flujo relativamente constante de líquido 3' hacia el extremo 31 del miembro de conducto 30a' en forma de V ha ocurrido.

20

Hay un solo conjunto de electrodo 1a/5a utilizada en este ejemplo 17. El plasma 4 fue creado con un electrodo 1 similar en forma a lo mostrado en la figura 5E y pesaba unos 9.2 gramos. Este electrodo fue 99.95% de oro puro. El otro electrodo 5a comprende una placa de platino en forma triangular derecha que mide aproximadamente 14mm x 23mm x 27mm y aproximadamente 1mm de grosor y que tiene aproximadamente 9mm sumergido en el líquido 3'. Todas las demás condiciones de corrida pertinentes se muestran en el cuadro 10.

25

Como se muestra en la figura 20B, la salida del miembro de conducto 30a' fue el líquido acondicionado 3' que fluye directamente a un segundo miembro de conducto 30b'. El segundo miembro de conducto 30b', se muestra en la figura 22A mide aproximadamente 3.75 pulgadas de alto, aproximadamente 3.75 pulgadas de ancho al extremo 32 del mismo y aproximadamente 1 pulgada de ancho al extremo 31 del mismo. Este miembro de conducto 30b' contiene alrededor de 1450 ml de líquido" en éste que fue de aproximadamente 2.5 pulgadas de profundidad. En este ejemplo, cada uno de los cuatro conjuntos de electrodos 5a, 5a'-5d, 5d' comprende 99.95% de cable de oro puro que mide aproximadamente 0.5 mm de diámetro. La longitud de cada cable 5 mide aproximadamente 5 pulgadas (aproximadamente 12 cm) de largo. El líquido 3" fue aproximadamente de 2.5 pulgadas de profundidad (aproximadamente 6 cm) con aproximadamente 4.25 pulgadas (aproximadamente 11 cm) del cable en forma de j que está sumergido en él. Cada conjunto de electrodos 5b, 5b'-5e, 5e' se asemeja a una "J", como se muestra en la figura 17A. La distancia "g" se muestra en la figura 17A mide alrededor de 1-8 mm.

30

35

40 Con respecto a las figuras 20B y 22A, 4 conjuntos de electrodos separados (conjunto 2, conjunto 3, conjunto 4 y conjunto 5) se unen a 2 dispositivos transformadores separados, 50 y 50a como se muestra en la figura 20B. Específicamente, los transformadores 50 y 50a fueron conectados eléctricamente a cada conjunto de electrodos, según el diagrama de cableado mostrado en la figura 19A. Cada dispositivo transformador 50, 50a está conectado a una línea de entrada de AC independiente que fue 120° fuera de fase respecto a los demás. Los transformadores 50 y 50a fueron conectados eléctricamente en una manera para no sobrecargar un circuito eléctrico sencillo y causar, por ejemplo, un interruptor de circuitos corrientes arriba para desacoplar (por ejemplo, cuando se utiliza en estas condiciones, un solo transformador 50/50a puede extraer corriente suficiente para causar problemas eléctricos corrientes arriba). Cada transformador 50/50a fue un transformador AC variable construido de una sola bobina/enrollado de alambre. Esta bobina actúa como parte de la bobina primaria y secundaria. El voltaje de entrada se aplicó a través de una porción fija de la bobina. El voltaje de salida fue tomado entre un extremo de la bobina y otra conexión a lo largo de la bobina. Al exponer parte de la bobina y hacer la conexión secundaria con un cepillo de deslizamiento, se obtuvo una proporción variable continua. La relación entre los voltajes de entrada y salida es igual a la relación entre el número de vueltas de la bobina a la que se conectan. Concretamente, cada transformador fue un Mastech TDGC2-5kVA, regulador de voltaje 10A, salida 0-250V.

45

50

55 El cuadro 6 se refiere a cada uno de los 4 conjuntos de electrodos (# de conjunto). Cada electrodo de los 4 conjuntos de electrodos fue establecido para que funcione dentro de un intervalo específico de voltaje. Los voltajes reales, enumerados en el cuadro 10, fueron de aproximadamente 255 voltios. La distancia "c-c" (con referencia a la figura 14) de la línea central de cada conjunto de electrodos en el conjunto de electrodos adyacentes también está representado. Además, también se ha informado la distancia "x" asociada con el electrodo 1 utilizado. Para el electrodo 5, no se informó de ninguna distancia "x". Otros parámetros pertinentes figuran en el cuadro 6.

60

Todos los materiales de los electrodos 1/5 se obtuvieron de ESPI que tienen una dirección de 1050 Benson Way, Ashland, Oregon 97520.

65

Cuadro 6

0.396 mg/ml de NaHCO ₃ (Au)						
ID de corrida: GB-056 Velocidad de flujo: 150 ml/min						
Voltaje: 255V NaHCO ₃ : 0.396 mg/ml Diámetro del alambre: 0.5mm Configuración: J/J PPM: 12						
# de conjunto	# de electrodo	Distancia "c-c" pulg/mm	Distancia "x" pulg/mm	voltaje	Sección transversal	
1	1a 5 ^a	4.5/114.3* 23/584.2**	0.25/6.35 N/A	750	V	
2	5b 5b'	2.5/63.5*	N/A N/A	750	Cónica de 3" de profundidad	
3	5c 5c'	3.5/88.9	N/A N/A	255		
4	5d 5d'	3.5/88.9	N/A N/A	255		
5	5e 5e'	3.5/88.9	N/A N/A	255		
		376.2**		255 Temperatura de la salida de agua		
* Distancia de la entrada del agua al centro del primer conjunto de electrodos						
** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua						

Las figuras 100A-100E muestran cinco microfotografías TEM representativas de los nanocristales de oro, secados de la solución/coloide GB-056, formados de acuerdo al ejemplo 16.

5 La figura 101A muestra la distribución de tamaño medido de los nanocristales de oro secados de la suspensión/coloide medida mediante el instrumento/software TEM analizado anteriormente en los ejemplos 5-7.

10 Figura 101B muestra gráficamente tres conjuntos de medición de datos de dispersión de la luz dinámica de los nanocristales (es decir, los radios hidrodinámicos) realizados de acuerdo con este ejemplo 17. Cabe señalar que información de tamaño de partícula de dispersión de luz dinámica es diferente de los histogramas TEM medidos porque la dispersión dinámica de luz utiliza algoritmos que asumen los nanocristales son todos esferas (que no lo son), así como medidas del radio hidrodinámico (por ejemplo, la influencia de los nanocrstales en el agua también se detecta e informaron además de los radios físicos reales de los nanocristales). En consecuencia, no resulta sorprendente que haya una diferencia en los tamaños de nanocristales informados entre los reportados en los datos de histograma TEM de aquellos reportados en los datos de dispersión de luz dinámica justo como en los otros ejemplos incluidos en este documento.

20 Figuras 102A-102D muestran microfotografías TEM representativas adicionales de la misma suspensión/coloide GB-056 elaborada según el ejemplo 17, sin embargo, esta suspensión/coloide fue expuesta a los ratones a través de sus botellas de agua en el grupo de tratamiento B discutido en el ejemplo 26. Cabe señalar que estas imágenes representativas de nanocrystal TEM son de la solución seca GB-056 de modo que ciertas condiciones de secado pueden afectar a las imágenes. Está claro que algunos racimos juntos de los nanocristales de oro ocurren, por ejemplo, durante el secado. Sin embargo, la figura 103A muestra distribuciones de tamaño del nanocrystal que son sustancialmente similares a aquellas que se muestran en la figura 101A. En este sentido, los datos que se muestran en las figuras 102A-102D y 103A-103B corresponden a suspensiones que estaban en el ratón que bebe botellas durante un periodo de 24 horas entre el día 2 y 3 del estudio EAE del ejemplo 26. De interés, es la comparación de la figura 103B a la figura 101B. En este sentido, han cambiado los datos de dispersión de luz dinámica. Específicamente, el mayor radio hidrodinámico se muestra en la figura 101B es aproximadamente 16.8 nm, mientras que en la figura 103B, es de aproximadamente 20.2nm. Claramente, los datos de dispersión de luz dinámica está reconociendo algún tipo de la agrupación de nanocristales en suspensión, que también está representado por la suspensión seca/microfotografías TEM de nanocrystal de oro que se muestra en las figuras 102A-102D.

Asimismo, las figuras 104A-104C; Figura 105A; y figura 105B todas corresponden a la suspensión/coloide GB-056 que está en las botellas de beber por un período de 24 horas entre el día 4 y 5 del estudio EAE discutido en el ejemplo 26. Una vez más, es evidente que algunos tipos de agrupación de los nanocristales está ocurriendo.

- 5 Mientras las figuras 101A, 103A y 105A son todas esencialmente similares para tamaños de nanocristales TEM medidos, es evidente que los radios de dispersión de la luz dinámica (por ejemplo, los radios hidrodinámicos) de los nanocristales han aumentado, como se muestra en la figura 105B, justo como se amplió en figura 103B, respecto a los más pequeños radios hidrodinámicos informados en la figura 101B.
- 10 Tomados en conjunto, estos datos sugieren que la exposición de las composiciones inventivas descritas aquí a ciertos componentes en, por ejemplo, saliva de ratón, puede causar un agrupamiento o aglutinación de los nanocristales suspendidos en el líquido. En consecuencia, la exposición prolongada a determinadas proteínas puede tener un efecto de "desnaturalización" en estas composiciones inventivas. Este efecto de "desnaturalización" es manejable y sin querer unirse por cualquier teoría particular o explicación, puede ser muy conveniente en dicha
- 15 reactividad debido a superficies muy "limpias" puede apoyar la actividad in vivo deseable (por ejemplo, ciertos mecanismos de unión a proteína).

Ejemplo 18

- 20 Manufactura nanocristales basados en oro/suspensiones de nanocristales (GB-151, GB-188, GB-175, GB-177, GB-176, GB-189, GB-194, GB-195, GB-196, GB-198 y GB-199)

En general, este ejemplo utiliza ciertas modalidades de la invención asociadas con los aparatos generalmente mostrados en las figuras 18A y 21D. Dispositivos de control 20 (no mostrados en la figura 21D) se conectan a los

25 electrodos 1/5 y 5/5, sin embargo, debido a los tiempos de corrida cortos en cada "ID de corrida" no necesita activar los dispositivos de control 20. En consecuencia, en referencia a las figuras 3C y 9C, los extremos 9' de los electrodos 5a y 5b se yuxtaponen con la parte inferior del miembro de conducto 30b'. Además, el cuadro 7 resume los parámetros clave de procesamiento utilizados junto con las figuras 18A y 21D. Además, el cuadro 7 describe: 1) "ppm" resultante (es decir, concentraciones de nanocristal de oro) y 2) "diámetro promedio TEM" que es el modo,

30 correspondiente al diámetro del cristal que se produce con mayor frecuencia, determinado por los histogramas TEM mostrados en las figuras 62B-72B. Se realizaron estas caracterizaciones físicas como se describe en otra parte en el presente documento.

Cuadro 7 (1 de 2)

ID de corrida		GB-151	GB-188	GB-175	GB-177	GB-176
Vel. de flujo	Interno (ml/min)	220	230	230	230	230
	Externo (ml/min)	175	184	184	184	184
voltios	# de conj. 1	750	750	750	750	n/a
	#'s de conj. 2-8	230	198	210	208	210
PE:NaHCO ₃ (mg/ml)		0.53	0.53	0.53	0.53	0.53
Diámetro del cable (mm)		1.0	1.0	2.0	1.1	3.0
Contacto "WL" (pul/mm)		1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
Separación de los electrodos "y" (pul/mm)		0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4
Figura de config. del electrodo		17b	17b	17b	17b	17b
PPM de Au producido		8.3	8.4	10.5	9.5	10.1
Temp. de salida a 32°C		89	84	89	88	86
Dimensiones	fig plasma 4	18a	18a	18a	18a	n/a
	Figuras del proced.	21d	21d	21d	21d	21d
	M1 (pul/mm)	2/51	1.5/38	1.5/38	1.5/38	1.5/38
	LT (pul/mm)	30/762	36/914	36/914	36/914	36/914
	d (pul/mm)	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
	S (pul/mm)	1.5/38	1.5/38	2/51	2/51	2/51
Corriente del electrodo (A)		0.89	0.85	0.93	0.80	0.88
Corriente extraída total (A)		n/m	6.06	7.02	6.84	6.82

ES 2 623 504 T3

Radio hidrodinámico (nm)		11.6	12	14	13.1	13.2
Diámetro prom. TEM (nm)		10.85	10.63	11.76	10.85	10.42
"c-c" (mm)		152	76	76	76	n/a
Conjunto 1	# de electrodo	1a	1a	1a	1a	n/a
	"x" (pulg/mm)	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	n/a
	# de electrodo	5a	5a	5a	5a	n/a
"c-c" (mm)		63	102	102	102	102
Conjunto 2	# de electrodo	5b	5b	5b	5b	5b
	"x" (pulg/mm)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
	# de electrodo	5b'	5b'	5b'	5b'	5b'
"c-c" (mm)		76	76	76	76	76
Conjunto 3	# de electrodo	5c	5c	5c	5c	5c
	# de electrodo	5c'	5c'	5c'	5c'	5c'
"c-c" (mm)		76	76	76	76	76
Conjunto 4	# de electrodo	5d	5d	5d	5d	5d
	# de electrodo	5d'	5d'	5d'	5d'	5d'
"c-c" (mm)		114	127	127	127	127
Conjunto 5	# de electrodo	5e	5e	5e	5e	5e
	# de electrodo	5e'	5e'	5e'	5e'	5e'
"c-c" (mm)		114	127	127	127	127
Conjunto 6	# de electrodo	5f	5f	5f	5f	5f
	# de electrodo	5f'	5f'	5f'	5f'	5f'
"c-c" (mm)		114	152	152	152	152
Conjunto 7	# de electrodo	5g	5g	5g	5g	5g
	# de electrodo	5g'	5g'	5g'	5g'	5g'
"c-c" (mm)		127	178	178	178	178
Conjunto 8	# de electrodo	5h	5h	5h	5h	5h
	# de electrodo	5h'	5h'	5h'	5h'	5h'
"c-c" (mm)		76	76	76	76	76

Cuadro 7 (2 de 2)

ID de corrida		GB-189	GB-194	GB-195	GB-196	GB-198	GB-199
Vel. de flujo	Interno (ml/min)	230	250	250	250	150	150
	Externo (ml/min)	184	200	200	200	120	120
voltios	# de conj. 1	750	750	750	750	n/a	750
	#'s de conj. 2-8	208	210	210	210	205	205
PE:NaHCO3 (mg/ml)		0.53	0.53	0.53	0.53	0.26	0.26
Diámetro del cable (mm)		1.2	4.0	1.3	5.0	1.4	6.0
Contacto "WL" (pul/mm)		1/25	1/25	1/25	1/25	1/25	1/25
Separación de los electrodos "y" (pulg/mm)		0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	.125/3.18	.125/3.18
Figura de config. del electrodo		17b	17b	17b	17b	17b	17b

ES 2 623 504 T3

PPM de Au producido		8.4	8.7	7.7	8.7	9.9	12.4
Temp. de salida a 32°C		85	93	96	89	74	80
Dimensiones	fig plasma 4	18a	18a	18a	18a	n/a	18a
	Figuras del proced.	21d	21d	21d	21d	21d	21d
	M1 (pulg/mm)	1.5/38	0.75/19	0.5/13	1/25	1.5/38	1.5/38
	LT (pulg/mm)	36/914	36/914	36/914	36/914	36/914	36/914
	d (pulg/mm)	1/25	1/25	1/25	1/25	0.75/19	0.75/19
	S (pulg/mm)	2/51	2/51	2/51	1.5/38	2/51	2/51
Corriente del electrodo (A)		0.91	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m
Corriente extraída total (A)		6.36	6.25	5.59	5.93	3.57	3.71
Radio hidrodinámico (nm)		12	16	16	12.5	13.9	14.2
Diámetro prom. TEM (nm)		10.42	12.06	11.11	12.06	11.74	13.02
"c-c" (mm)		76	76	76	76	n/a	76
Conjunto 1	# de electrodo	1a	1 ^a	1a	1a	n/a	1a
	"x" (pulg/mm)	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	n/a	0.25/6.4
	# de electrodo	5a	5a	5a	5a	n/a	5a
"c-c" (mm)		102	102	102	102	102	102
Conjunto 2	# de electrodo	5b	5b	5b	5b	5b	5b
	"x" (pulg/mm)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
	# de electrodo	5b'	5b'	5b'	5b'	5b'	5b'
"c-c" (mm)		76	76	76	76	76	76
Conjunto 3	# de electrodo	5c	5c	5c	5c	5c	5c
	# de electrodo	5c'	5c'	5c'	5c'	5c'	5c'
"c-c" (mm)		76	76	76	76	76	76
Conjunto 4	# de electrodo	5d	5d	5d	5d	5d	5d
	# de electrodo	5d'	5d'	5d'	5d'	5d'	5d'
"c-c" (mm)		127	127	127	127	127	127
Conjunto 5	# de electrodo	5e	5e	5e	5e	5e	5e
	# de electrodo	5e'	5e'	5e'	5e'	5e'	5e'
"c-c" (mm)		127	127	127	127	127	127
Conjunto 6	# de electrodo	5f	5f	5f	5f	5f	5f
	# de electrodo	5f'	5f'	5f'	5f'	5f'	5f'
"c-c" (mm)		152	152	152	152	152	152
Conjunto 7	# de electrodo	5g	5g	5g	5g	5g	5g
	# de electrodo	5g'	5g'	5g'	5g'	5g'	5g'
"c-c" (mm)		178	178	178	178	178	
Conjunto 8	# de electrodo	5h	5h	5h	5h	5h	5h
	# de electrodo	5h'	5h'	5h'	5h'	5h'	5h'
"c-c" (mm)		76	76	76	76	76	76

Todos los miembros de conducto 30a' y 30b' en las figuras mencionadas antes 18A y 21D se elaboraron de plexiglass de un grosor de 1/8" (aproximadamente 3 mm) y policarbonato con un grosor de 1/4" (aproximadamente 6 mm), respectivamente. La estructura de apoyo 34 (no mostrado en las figuras pero discutido en otra parte aquí) también se hace de plexiglás que tienen un grosor de aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6-7 mm de grosor).
 5 Contrario a las modalidades mostradas en las figuras 19A y 19B, cada miembro de conducto 30a es integral con el miembro de conducto 30b' y de esta manera es designado 30a' (por ejemplo, no se proporcionó ningún medio de bombeo separado después del miembro de conducto 30a, como en algunos ejemplos anteriores). La forma de corte transversal de cada miembro de conducto 30a' usado en este ejemplo corresponde a la forma que se muestra en la figura 10B (es decir, sección transversal en forma de trapecoide). Dimensiones relevantes para cada porción de
 10 miembro de conducto 30b' se muestran en el cuadro 7 como "M1" (es decir, el interior ancho del conducto en la parte de entrada del miembro de conducto 30b') era el mismo que el ancho interior del conducto en la parte de salida del miembro de conducto 30b'), "L_T" (es decir, longitud transversal o longitud de flujo del miembro de conducto 30b'), "S" (es decir, la altura del miembro de conducto 30b') y "d" (es decir, profundidad del líquido 3" dentro del miembro de conducto 30b'). El espesor de cada porción de pared lateral también mide alrededor de 1/4" (aproximadamente 6 mm) de grosor. Se informan dos longitudes diferentes longitudinales "L_T" para los miembro de conducto 30b' (es decir, 762 mm o 914 mm) sin embargo, otras longitudes L_T deben considerarse dentro de los límites y fronteras del conducto inventivo.

El cuadro 7 muestra que el potenciador de procesamiento NaHCO₃ fue añadido al agua purificada (discutido en otras partes en el presente documento) en cantidades de aproximadamente 0.26 mg/ml o 0.53 mg/ml. Debe entenderse que otras cantidades de este potenciador de procesamiento (y otros potenciadores de procesamiento) también funcionan dentro de los límites y fronteras de la invención. El agua purificada/mezcla de NaHCO₃ se usa como la entrada de líquido 3 en el miembro de conducto 30a'. La profundidad "d" del líquido 3' en el miembro de conducto 30a' (es decir, donde el plasma 4 se forma) es de alrededor de 7/16" a aproximadamente 1/2" (aproximadamente 11 mm a aproximadamente 13 mm) en varios puntos a lo largo del miembro de conducto 30a'. La profundidad "d" fue parcialmente controlada mediante el uso del dique 80 (se muestra en las figuras 18A y 18B). Específicamente, el dique 80 fue proporcionado al extremo de salida 32 del miembro de conducto 30a' y ayudó a crear la profundidad "d" (se muestra en la figura 10B como "d") de alrededor de 7/16"-1/2" (aproximadamente 11-13mm) de profundidad. La altura "j" del dique 80 mide aproximadamente 1/4" (aproximadamente 6 mm) y la longitud longitudinal "k" mide aproximadamente 1/2" (aproximadamente 13 mm). La anchura (no mostrada) está completamente a través de la dimensión inferior "R" del miembro de conducto 30a'. En consecuencia, el volumen total de líquido 3' en el miembro de conducto 30a' durante el funcionamiento del mismo es de aproximadamente 2.14pul³ (aproximadamente 35 ml) a aproximadamente 0.89pul³ (aproximadamente 14.58 ml).

La velocidad de flujo del líquido 3' en el miembro de conducto 30a' así como en miembro de conducto 30b', varía (como se muestra en el cuadro 7) y la tasa de flujo fuera de la miembro de conducto 30b' en el punto 32 también varían debido a entradas de velocidad de flujo diferentes y evaporación. Otras velocidades de flujo aceptables deben considerarse dentro de los límites y fronteras de la invención.

Tal flujo de líquido 3' se obtiene al utilizar una unidad de bomba Masterflex® L/S 40 potencia de 0.1, 10-600 rpm. El número de modelo de la bomba Masterflex® 40 fue de 77300-40. La unidad de bomba tenía una cabeza de bomba también hecha por Masterflex® conocida como Easy-Load modelo N° 7518-10. En términos generales, la cabeza de la bomba 40 se conoce como una cabeza peristáltica. La bomba 40 y cabeza estaban controlados por una unidad de Masterflex® LS Digital Modular. El número de modelo para la unidad Digital Modular es 77300-80. La configuración exacta de la unidad Digital Modular fue, por ejemplo, 150 mililitros por minuto para todas las muestras excepto GB-144 que fue, por ejemplo, 110 ml/minuto. El tubo de Tygon® que tiene un diámetro de 1/4" (es decir, tamaño 06419-25) fue colocado en la cabeza peristáltica. La tubería fue hecha por Saint Gobain para Masterflex®. Uno de los extremos de la tubería fue entregado a un primer extremo 31 del miembro de conducto 30a' por un medio de difusión de flujo situado en él. Los medios de difusión de flujo dirigidos para minimizar la perturbación y burbujas en el agua 3 introducida en el miembro de conducto 30a', así como cualquier condición de pulso generada por la bomba peristáltica 40. En este sentido, un pequeño reservorio sirvió como los medios de difusión y se proporcionó en un punto verticalmente por encima del extremo 31 del miembro de conducto 30a' tal que cuando se desborda el dique, un flujo relativamente constante de líquido 3' hacia el extremo 31 del miembro de conducto 30a' en forma de V ha ocurrido.

El cuadro 7 muestra que hay un solo conjunto de electrodo 1a/5a utilizado en este ejemplo 18. El plasma 4 fue creado con un electrodo 1 similar en forma a lo mostrado en la figura 5E y pesaba unos 9.2 gramos. Este electrodo fue 99.95% de oro puro. El otro electrodo 5a comprende un alambre de oro de 1 mm 99.95% sumergido en el líquido 3'. Todas las demás condiciones de corrida pertinentes se muestran en el cuadro 7.

La salida del miembro de conducto 30a' fue el acondicionado líquido 3' y este líquido acondicionado 3' fluye directamente a un segundo miembro de conducto 30b'. El segundo miembro de conducto 30b', se muestra en la figura 21D tiene mediciones como se informa en el cuadro 7. Este miembro de conducto 30b' contiene alrededor de 260 ml de líquido 3' en éste a aproximadamente 980 ml dependiendo de las dimensiones del conducto y la profundidad "d" del líquido 3" en este. El cuadro 7, junto con la figura 21D las configuraciones del electrodo usadas. Por ejemplo, ejemplos anteriores aquí describen el uso de cuatro conjuntos de electrodos 5/5, con un conjunto de

- electrodo 1/5. En este ejemplo, ocho conjuntos de electrodos fueron usados (por ejemplo, un conjunto 1/5 con siete u ocho conjuntos 5/5'). Cada uno de los conjuntos de electrodos 5/5' compuesto por cables de oro puro 99.99% que miden aproximadamente 0.5 mm de diámetro o 1.0mm de diámetro, como se indica en el cuadro 7. La longitud de cada electrodo de cable 5 que estaba en contacto con el líquido 3" (reportado como "W_L" en el cuadro 7) medido desde aproximadamente 0.75 pulgadas (aproximadamente 19 mm) de largo a alrededor de 1 pulgada (aproximadamente 25 mm) de largo. Figura 21D muestra que los conjuntos de electrodos 5/5' fueron dispuestos como se muestra en la figura 5C.
- Cada conjunto de electrodo 5a y 5b fue conectado a una fuente de energía AC programada Chroma 61604 (no se muestra y como se discute en otra parte en el presente documento). Los voltajes aplicados se reportan en el cuadro 7. Específicamente, el cuadro 7 se refiere a cada uno de los conjuntos de electrodos por "# de conjunto" (por ejemplo, "conjunto 1" al "conjunto 8"). Cada electrodo de los conjuntos de electrodos 1/5 o 5/5 fue establecido para que funcione dentro de un intervalo específico de voltaje. Los voltajes que se enumeran en el cuadro 7 son los voltajes que se utilizan para cada conjunto de electrodos. La distancia "c-c" (con referencia a la figura 14) de la línea central de cada electrodo establecido en el conjunto de electrodo adyacente también se ha informado. Además, la distancia "x" (por ejemplo, véase la figura 2A) asociado con cada electrodo 1 utilizado también se ha informado. Otros parámetros pertinentes también figuran en el cuadro 7.
- Todos los materiales de los electrodos 1/5 se obtuvieron de aleaciones Hi-Rel que tienen una dirección de 23 Lewis Street, Fort Erie, Ontario L2A2P6, Canadá.
- Figuras 62A-72A muestran dos microfotografías TEM representativas para cada una de las nanopartículas de oro, secadas de cada solución o coloide referenciadas en el cuadro 7 y formado de acuerdo al ejemplo 18.
- Las figuras 62B-72B muestran la distribución de tamaño medida de las partículas de oro medidas mediante el instrumento TEM/software comentado anteriormente en los ejemplos 5-7 para cada solución seca o coloide referenciado en el cuadro 7 y formado por medio del ejemplo 18.
- Espectros de absorción de energía se obtuvieron de las muestras en el ejemplo 18 utilizando espectroscopia UV-VIS. Esta información fue adquirida mediante un sistema monocrometro de exploración de haz doble capaz de analizar la gama de longitud de onda de 190nm a 1100nm. El espectrómetro Jasco V-530 UV-Vis fue utilizado para recopilar la espectroscopia de absorción. Instrumentación es establecida para soportar la medición de muestras líquidas de baja concentración mediante uno de un número de portadores de muestra de cuarzo-cebado o "cubetas". Las diversas cubetas permiten que datos sean recopilados en 10 mm, 1 mm o ruta óptica de 0.1 mm de muestra. Datos fueron adquiridos durante el intervalo de longitud de onda con entre 250-900nm del detector con los siguientes parámetros; ancho de banda de 2nm, con paso de datos de 0.5nm, un fotodiodo de silicio con un fondo de línea de base de agua. La velocidad de análisis de deuterio (D2) y halógeno (WI) de fuentes de 400 nm/mm fueron usadas como las fuentes de energía primaria. Rutas ópticas de estos espectrómetros fueron ajustadas para permitir que el haz de energía pase por el centro de la cubeta de muestra. Preparación de la muestra se limitó a llenado y tapado de las cubetas y luego la colocación física de las muestras en el portador de la cubeta, dentro del compartimento de muestra completamente cerrada. Se determinó la absorción óptica de energía por los materiales de interés. La salida de datos se mide y muestra como unidades de absorbancia (por la ley de Beer-Lambert) frente a longitud de onda.
- Los patrones espectrales en un intervalo UV-Vis se obtienen para cada una de las soluciones/coloides producidos en el ejemplo 18.
- Específicamente, la figura 72C muestra los patrones espectrales UV-Vis de cada una de las 11 suspensiones/coloides (GB-151, GB-188, GB-175, GB-177, GB-176, GB-189, GB-194, GB-195, 196-GB, GB-198 y GB-199) en una gama de longitud de onda de aproximadamente 250nm-750nm.
- La figura 72D muestra los patrones espectrales UV-Vis para cada una de las 11 suspensiones sobre una gama de longitud de onda de interrogación de aproximadamente 435nm-635nm.
- En general, la espectroscopia UV-Vis es la medición de la longitud de onda y la intensidad de absorción de la luz visible y luz casi ultravioleta por una muestra. Luz ultravioleta y visible son lo suficientemente energéticas para promover electrones exteriores a niveles más altos de energía. Espectroscopia UV-Vis puede aplicarse a las moléculas e iones inorgánicos o complejos en solución.
- Los espectros UV-Vis tienen características amplias que pueden utilizarse para la identificación de la muestra, pero también son útiles para las mediciones cuantitativas. La concentración de un analito en solución puede determinarse midiendo la absorbancia en algunas longitudes de onda y aplicando la ley de Lambert-Beer.

Ejemplo 19

5 Fabricación de nanopartículas basadas en oro/suspensiones de nanopartículas o coloides Aurora-002, Aurora-004, Aurora-006, Aurora-007, Aurora-009, Aurora-011, Aurora-012, Aurora-013, Aurora-014, Aurora-016, Aurora-017, Aurora-019, Aurora-020, Aurora-021, Aurora-022, Aurora-023, Aurora-024, Aurora-025, Aurora-026, Aurora-027, Aurora-028, Aurora-029 and Aurora-030

10 En general, el ejemplo 15 utiliza una combinación de electrodo 30 y electrodo 1/5 diferente de cualquiera de los otros ejemplos descritos aquí. Específicamente, este ejemplo utiliza un primer conjunto de cuatro electrodos 1 y un electrodo único 5a en un miembro de conducto 30a' que crea una pluralidad de plasmas 4, resultando en líquido acondicionado 3'. El líquido acondicionado 3' fluye hacia y a través de un miembro de conducto longitudinal 30b', donde electrodos localizados paralelamente 5b/5b' se colocan a lo largo sustancialmente de toda la longitud longitudinal o de flujo del miembro de conducto 30b'. Se hace referencia específica a las figuras 23A, 23B, 23C que
15 muestran diversas vistas esquemáticas y en perspectiva de esta modalidad de la invención. Además, el cuadro 8 contiene parámetros de procesamiento relevantes asociados con esta modalidad de la invención.

Cuadro 8 (1/3)

ID de corrida:		Aurora-002	Aurora-004	Aurora-006	Aurora-007	Aurora-009	Aurora-011	Aurora-012	Aurora-013	Aurora-014
Vel. de flujo:	Interno (ml/min)	300	300	150	150	150	300	450	60	60
Voltios:	# de conj. 1	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
	Electrodos 5b	100	120	100	50	100	90	110	50	40
	# de electrodos 1	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	PE:NaHCO3 (mg/ml)	<u>0.396</u>								
	Diámetro del cable (mm)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Figura de config. del electrodo	23a								
	PPM de Au producido	12.3	15.9	39.6	4.1	17.8	17.4	12.7	46.5	65.7
Dimensiones	fig plasma 4	23a								
	Figuras del proced.	23a, 23b, 23c, 23d								
	Long. de alambre "(pulg) WL"	<u>54</u>								
	LT (pulg/mm)	<u>59/1500</u>								
	Cable apart (pulg/mm) "b"	<u>0.125/3.2</u>	<u>0.125/3.2</u>	<u>0.125/3.2</u>	<u>0.125/3.2</u>	<u>0.125/3.2</u>	<u>0.063/1.6</u>	<u>0.063/1.6</u>	<u>0.063/1.6</u>	<u>0.063/1.6</u>
	Corriente del electrodo (A)	10.03	14.2	15.3	5.2	11.9	15.9	19.5	10	7.87
	Radio hidrodinámico (nm)	23.2	19.4	23.2	26.2	19.6	16.3	13.1	26.2	22.0
	Diámetro prom. TEM (nm)	n/a								

Cuadro 8 (2/3)

ID de corrida:		Aurora-016	Aurora-017	Aurora-019	Aurora-020	Aurora-021	Aurora-022	Aurora-023	Aurora-024	Aurora-025
Vel. de flujo:	Interno (ml/min)	60	30	30	30	30	60	60	60	60
Voltios:	# de conj. 1	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
	Electrodos 5b	30	30	30	50	50	50	80	30	30
	# de electrodos 1	4	4	1	1	4	4	4	4	4
	PE:NaHCO3 (mg/ml)	<u>0.396</u>	<u>3.963</u>	<u>3.963</u>						
	Díametro del cable (mm)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Figura de config. del electrodo	23a								
	PPM de Au producido	35.5	24.8	22.5	128.2	67.1	64.2	73.8	0.8	0.5
Dimensiones	fig plasma 4	23a								
	Figuras del proced.	23a, 23b, 23c, 23d								
	Long. de alambre "(pulg) W _L "	<u>54</u>	<u>54</u>	<u>54</u>	<u>54</u>	<u>54</u>	<u>54</u>	<u>50</u>	<u>50</u>	<u>50</u>
	LT (pulg/mm)	<u>59/1500</u>								
	Cable apart (pulg/mm) "b"	<u>0.063/1.6</u>								
	Corriente del electrodo (A)	5.18	4.95	4.65	10.7	10	9.8	18	17	14.96
	Radio hidrodinámico (nm)	26.6	27.4	26.0	31.0	27.1	28.3	27.0	n/a	n/a
	Díametro prom. TEM (nm)	n/a	n/a	n/a	16 - 40	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

Cuadro 8 (3/3)

ID de corrida:		Aurora-026	Aurora-027	Aurora-028	Aurora-029	Aurora-030
Vel. de flujo:	Interno (ml/min)	60	60	60	60	60
Voltios:	# de conj. 1	1000	1000	1000	1000	1000
	Electrodos 5b	30	30	100	130	150
	# de electrodos 1	4	4	4	4	4
	PE:NaHCO3 (mg/ml)	<u>3.963</u>	<u>3.963</u>	<u>0.106</u>	<u>0.106</u>	<u>0.106</u>
	Diámetro del cable (mm)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Figura de config. del electrodo	23a	23a	23a	23a	23a
PPM de Au producido	fig plasma 4	3.7	2.0	8.1	21.6	41.8
	Figuras del proced.	23a	23a	23a	23a	23a
Dimensiones	Long. de alambre "pulg WL"	23a, 23b, 23c, 23d				
	LT (pulg/mm)	50	50	50	50	50
	Cable apart (pulg/mm) "b"	59/1500	59/1500	59/1500	59/1500	59/1500
	Corriente del electrodo (A)	<u>0.063/1.6</u>	<u>0.063/1.6</u>	<u>0.063/1.6</u>	<u>0.063/1.6</u>	<u>0.063/1.6</u>
	Radio hidrodinámico (nm)	13.4	16.32	6.48	10	12
	Diámetro prom. TEM (nm)	33.7 and 77.5	n/a	26.1	21.9	25.2
		n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

Con respecto a la figura 23A, dos fuentes de alimentación de CA 60 y 60a eléctricamente están conectados como se muestra y crear cuatro plasmas separados 4a, 4b, 4c y 4d en cuatro electrodos correspondientes 1a, 1b, 1c y 1d, en una primera parte de miembros de conducto 30a'. Como se muestra en la figura 23A, sólo un único electrodo 5a está conectado eléctricamente a todos los cuatro electrodos 1. Estas fuentes de energía 60 y 60a son las mismas fuentes de energía informadas en los otros ejemplos de este documento. Dos cantidades diferentes de NaHCO₃ potenciador de procesamiento se añadieron al líquido 3 antes a los cuatro plasmas 4a-4d que acondicionan el mismo como se indica en el cuadro 13. La cantidad y el tipo de potenciador de procesamiento informado no deben interpretarse como limitación de la invención. La tasa de flujo del líquido 3/3' dentro y fuera del miembro conductor 30a', así como en el miembro conductor 30b' también se informa en el cuadro 8. La tasa de flujo del miembro conductor 30b' fue aproximadamente 5% a 50% menor debido a la pérdida de líquido en la evaporación, con mayor evaporación en la entrada de potencia superior en los electrodos 5b/5b'. Diferentes tasas de flujo para el líquido 3/3' pueden ser utilizadas de conformidad con las enseñanzas aquí.

Sólo un conjunto de electrodos 5b/5b' se utilizó en esta modalidad particular. Estos electrodos 5b/5b' estaban conectados a una fuente de alimentación de CA 50, tal como se describe en los otros ejemplos en este documento. Los electrodos de alambre de oro 5b/5b' utilizados en este ejemplo en particular fueron los mismos cables de oro, con dimensiones como se indica en el cuadro 8, que se utilizaron en los otros ejemplos informados aquí. Sin embargo, una longitud relativamente larga (es decir, en relación con los otros ejemplos aquí) de electrodos de cable de oro se encontraba a lo largo de la longitud longitudinal L_T del miembro conductor 30b'. La longitud del cable para los electrodos 5b/5b' es reportada en el cuadro 8. Dos diferentes longitudes de cable 50 pulgadas (127 cm) o 54 pulgadas (137 cm) se utilizaron. Además, diferentes distancias transversales entre los cables 5b/5b' también se informan. Dos distancias transversales separadas se informan en el presente documento, es decir, 0.063 pulgadas (1.6 mm) y 0.125 pulgadas (3.2 mm). Longitudes de electrodos diferentes 5b/5b' son aprovechables así como una pluralidad de diferentes distancias transversales entre los electrodos 5b/5b'.

Los electrodos de cable 5b/5b' eran espacialmente situados dentro del líquido 3" en el miembro conductor 30b' por los dispositivos Gb, Gb', T8, T8', Tb y Tb' cerca del extremo de entrada 31 (consultar la figura 23C) y dispositivos correspondientes Gb, Gb', Cb, Cb', Cbb y Cb'b' (consultar la figura 23D) cerca del extremo final 32. Debe entenderse que una variedad de dispositivos podría utilizarse para causar que los electrodos 5b/5b' estén situados de forma contigua a lo largo del miembro conductor 30b' y los reportados en el presente documento son ejemplares. Requisitos importantes para la localización de los electrodos 5b/5b' incluyen la capacidad de mantener la separación transversal deseada entre los electrodos a lo largo de sus longitudes enteras que están en contacto con el líquido 3" (por ejemplo, contacto de los electrodos entre sí podría causar un corto circuito eléctrico). Específicamente, los electrodos 5b/5b' son jalados a través de los miembros guía Gb y Gb' elaborados de policarbonato cerca del extremo de entrada 31 y el vidrio cerca del extremo final 32. Los miembros Gb y Gb' en cada extremo del miembro conductor 30b' se ajustan en la ubicación por el circuito Cbb, Cb'b' cerca de un extremo de salida 32 del miembro conductor 30b' y circuitos similares Cb y Cb' en el extremo opuesto del conducto 30b'. Conexión eléctrica a los electrodos 5b/5b' se hace en el extremo de salida 32 del miembro conductor 30b' cerca de la parte superior de los miembros guía Gb y Gb'. Resortes de tensión Tb y Tb' se utilizan para mantener los cables de electrodo 5b/5b' y muestran que mantienen los electrodos en una relación espacial fija entre sí. A este respecto, los electrodos 5b/5b' pueden ser prácticamente paralelos a lo largo de toda su longitud, o pueden ser más cercanos en uno de sus extremos en relación con los otros (por ejemplo, creando diferentes distancias transversales a lo largo toda su longitud). El control de la distancia o distancias transversales entre el electrodo 5b/5b' influye en la corriente, concentración de densidad de corriente, voltaje, etc. Por supuesto, otros medios de posicionamiento ocurrirá para aquellos con experiencia en la técnica y los mismos están dentro de los límites y fronteras de la presente invención.

El cuadro 8 muestra una variedad de condiciones de procesamiento pertinentes, así como ciertos resultados incluyendo, por ejemplo, "radio hidrodinámico" (es decir, radios hidrodinámicos (reportados en nanómetros)) y el procedimiento actual que se aplicó a través de los electrodos 5b/5b'. Además, niveles de ppm resultantes también se informan para una variedad de condiciones de procedimiento con un mínimo de aproximadamente 0.5 ppm y una altura de aproximadamente 128 ppm.

Las figuras 73A1-73A2 muestran dos microfotografías TEM representativas de las nanopartículas de oro, secadas de la solución o coloide Aurora-020, que tiene una concentración de 128 ppm reportada de oro medido al día siguiente después de la síntesis. En dos semanas la concentración de la muestra se reduce a 107 ppm, después de otras 5 semanas la concentración se reduce a 72 ppm.

La figura 73B muestra una distribución de tamaño medida de las nanopartículas de oro medidas por el instrumento TEM/software comentado anteriormente en los ejemplos 5-7 correspondientes a Aurora-020 seca.

La figura 73C muestra gráficamente los conjuntos de medición de datos de dispersión de luz dinámica para los nanocristales (es decir, los radios hidrodinámicos) realizados de acuerdo con Aurora-020 referenciados en el cuadro 8 y medidos después de 7 semanas a partir de la síntesis. El principal pico en la gráfica de distribución de intensidad es alrededor de 23nm. Mediciones de dispersión de la luz dinámica en muestra de Aurora-020 fresca (no mostrada) resulta en el pico principal en 31nm. Cabe señalar que la información de tamaño de partícula de dispersión de luz dinámica es diferente de los histogramas TEM medidos porque la dispersión de luz dinámica utiliza algoritmos que asumen que las partículas son todas esferas (que no son), así como medidas del radio hidrodinámico (por ejemplo, la influencia de la partícula sobre el agua también se detecta y se informa además de los radios reales físicos de las partículas). En consecuencia, no resulta sorprendente que exista una diferencia en los tamaños de partícula informados entre los reportados en los datos de histograma TEM de aquellos reportados en los datos de dispersión de luz dinámica justo como en los otros ejemplos incluidos en este documento.

En consecuencia, se desprende de este método de procesamiento continuo que una variedad de parámetros de procedimiento puede influir en el producto resultante producido.

Ejemplo 20

Fabricación de nanopartículas basadas en oro/suspensiones de nanopartículas o coloides GA-002, GA-003, GA-004, GA-005, GA-009, GA-011 y GA-013 mediante un procedimiento por lotes

Este ejemplo utiliza un procedimiento por lotes de acuerdo con la presente invención. Figura 24A muestra el aparato utilizado para acondicionar el líquido 3 en este ejemplo. Una vez acondicionado, el líquido 3' fue procesado en el aparato que se muestra en la figura 24C. Un objetivo principal en este ejemplo es mostrar una variedad de potenciadores de procesamiento diferentes (aparece como "PE" en el cuadro 9). Específicamente, el cuadro 9 establece voltajes utilizados para cada uno de los electrodos 1 y 5, el tiempo de permanencia para el líquido 3 siendo expuesto al plasma 4 en el aparato de la figura 24A; el volumen del líquido utilizado en cada una de las figuras 24A y 24C; los voltajes que se utilizan para crear el plasma 4 en la figura 24A y los voltajes utilizados para los electrodos 5a/5b en la figura 24C.

Cuadro 9

ID de corrida		GA-002	GA-003	GA-004	GA-005	GA-009	GA-011	GA-013
Tiempo de residencia	Plasma 4	25	25	25	25	25	25	25
	Electrodos 5a/5b	42	42	42	42	42	42	42
Volumen H ₂ O & PE (ml)	Plasma 4	3790	3790	3790	3790	3790	3790	3790
	Electrodos 5a/5b	900	900	900	900	900	900	900
Volts:	Plasma 4	750	750	750	750	750	750	750
	Electrodos 5a/5b	300	300	300	300	298	205.6	148
PE*	Tipo:	Na ₂ CO ₃	K ₂ CO ₃	KHCO ₃	NaHCO ₃	NaHCO ₃	NaHCO ₃	NaHCO ₃
	Mg/ml:	0.22	0.29	0.44	0.47	0.52	0.51	0.51
Diámetro del cable (mm)		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Figura de config. final		17b	17b	17b	17b	17b	17b	17b
PPM		7.8	10.0	10.0	11.3	9.7	10.0	7.7
Temp. de líquido final °C		96	93.5	90.5	89	90.5	74.5	57
Dimensiones y configuración	Figura de plasma 4	24a	24a	24a	24a	24a	24a	24a
	Figura de electrodos 5a/5b	24c	24c	24c	24c	24c	24c	24c
	Contacto "W _L " (pulg/mm)	0.75/19	0.75/19	0.75/19	0.75/19	0.75/19	0.75/19	0.75/19
	Separación (pulg/mm)	1.5/38	1.5/38	1.5/38	1.5/38	1.5/38	0.25/6	0.063/1.6
Corriente de electrodo (A)		0.69	0.65	0.64	0.66	0.76	0.78	0.60
Radio hidrodinámico (nm)		11.1	12.0	13.9	11.9	17.6	17.1	10.3
Diámetro promedio TEM (nm)		12.24	12.74	14.09	14.38	11.99	11.99	11.76
"c-c" (pulg/mm)		n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m
Plasma 4	# de electrodo "x" (pulg/mm)	1a	1a	1a	1a	1a	1a	1a
	# de electrodo	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4	0.25/6.4
	# de electrodo	5a	5a	5a	5a	5a	5a	5a
"c-c" (pulg/mm)		n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m	n/m
Electrodos	# de electrodo	5a	5a	5a	5a	5a	5a	5a
	# de electrodo	5b	5b	5b	5b	5b	5b	5b

5 Con respecto a los potenciadores de procesamiento informados (PE) utilizados, cantidades diferentes mg/ml fueron utilizadas en un esfuerzo por tener conductividad similar para cada solución (por ejemplo, también similares cantidades molares de cationes presentes en el líquido 3/3'). El diámetro de cable de electrodo utilizado en cada ejemplo fue el mismo, aproximadamente 1.0 mm y se obtuvo de ESPI, que tiene una dirección de 1050 Benson Way, Ashland, Oregón 97520, como se informó en otra parte en el presente documento.

10 La cantidad de electrodos en contacto con el líquido 3' en el aparato que se muestra en la figura 24C fue la misma en cada caso, es decir, 0.75 pulgadas (19.05 mm).

15 El cuadro 9 muestra también los efectos de la separación de electrodo transversal (es decir, la distancia "b" entre los electrodos prácticamente paralelos 5a/5b que se muestran en la figura 24C) para el mismo potenciador de procesamiento, es decir, NaHCO₃. Es claro que el electrodo actual y temperatura final del líquido correspondiente era menor para la colocación más estrecha del electrodo (es decir, valores "b" más pequeños).

20 Una fuente de voltaje 60 (discutido en otra parte en el presente documento) se utiliza para crear el plasma 4 mostrado en la figura 24A. Una fuente de voltaje 50 (discutido en otra parte en el presente documento) fue utilizada para crear un voltaje y corriente entre los electrodos 5a/5b se muestra en la figura 24C.

El cuadro 9 también informa el radio hidrodinámico (es decir, un número único para "radios hidrodinámicos" tomados

del promedio de los tres picos más altos de amplitud en cada una de las figuras 74C-80C y " diámetro promedio TEM " que corresponde al tamaño promedio del nanocrystal de oro calculada a partir de las gráficas del histograma TEM mostradas en las figuras 74B-80B).

5 Figuras 74A1, 74A2- 80A1, 80A2 muestran dos microfotografías TEM representantes de cada uno de los nanocristales de oro, secado de cada solución o coloide que se hace referencia en el cuadro 9 formado de acuerdo con este ejemplo.

10 Las figuras 74B-80B muestran la distribución de tamaño medido de los nanocristales de oro medida mediante el instrumento TEM/software comentado anteriormente en los ejemplos 5-7 por cada suspensión o coloide referenciado en el cuadro 9 formado de acuerdo con este ejemplo.

15 Figuras 74C-80C muestran conjuntos de medición de datos de dispersión de luz dinámica gráficamente para los nanocristales (es decir, los radios hidrodinámicos) realizados de acuerdo con cada suspensión o coloide referenciado en el cuadro 9 formado de acuerdo con este ejemplo. Cabe señalar que la información de tamaño de partícula de dispersión de luz dinámica es diferente de los histogramas TEM medidos porque la dispersión de luz dinámica utiliza algoritmos que asumen los nanocristales y son todos esferas (que no son), así como medidas del radio hidrodinámico (por ejemplo, influencia del nanocrystal sobre el agua es también detectada y se informa además los radios físicos reales de los nanocristales). En consecuencia, no resulta sorprendente que exista una diferencia en los tamaños de nanocrystal informados entre los reportados en los datos de histograma TEM de los reportados en los datos de dispersión de la luz dinámica al igual que en los otros ejemplos incluidos en este documento.

Ejemplo comparativo 21

25 Fabricación de nanopartículas de oro/suspensiones de nanopartículas de acuerdo con los procedimientos de Bredig/Svedberg

30 Este ejemplo utiliza un plasma AC submarino creado entre dos electrodos de oro en un intento de hacer una suspensión de nanopartículas de oro similares a las realizadas por Bredig y Svedberg (discutido en los antecedentes).

35 Específicamente, la figura 81A muestra una vista en perspectiva de un aparato diseñado para funcionar como el aparato del plasma AC de Svedberg. La figura 81B muestra una vista de sección transversal del mismo aparato. En cada una de estas figuras, los electrodos de oro e1 y e2, cada uno con un diámetro de 1mm, fueron sumergidos en el agua 3. Aproximadamente 1 galón (3.78 l) de agua 3 estaba en un recipiente de vidrio. Miembros de manga de aislamiento eléctricamente s1 y s2 impidieron el arqueo eléctrico cuando no sea deseado. Los electrodos e1 y e2 fueron energizados con el mismo transformador 60 discutido en otra parte en el presente documento. El electrodo e1 se puso en la proximidad del extremo del electrodo e2 en un área designada "Sh". El extremo "ea" del electrodo de e1 fue golpeado para hacerlo aproximadamente plano. El ea final plano, a continuación, se pone en estrecha proximidad con el extremo del electrodo e2 cerca de la porción Sh. Cuando el extremo del electrodo ea se acerca a la parte Sh, se crea un plasma 4w submarino. Una vez estabilizado, el plasma submarino 4w se deja correr por aproximadamente 2.5 horas para hacer aproximadamente 1 galón (3.78 l) de coloide. Se muestran los resultados de la corrida de 2.5 horas en las figuras 82A y 82B.

45 La figura 82A es una fotomicrografía TEM representativa de las nanopartículas de oro realizadas de acuerdo con este ejemplo. Figura 82B es un histograma de distribución de tamaño de partícula de las mediciones de TEM de las nanopartículas de oro realizadas de acuerdo con este ejemplo. Como resulta de la fotomicrografía TEM, no hay nanocristales similares a aquellos de la presente invención.

50 EJEMPLO COMPARATIVO 22A

Suspensiones de nanopartículas basadas en oro comercialmente disponibles

55 Para fines de comparación, se obtuvieron ocho soluciones de oro coloidal disponibles en el mercado. Los nombres comerciales y fuentes se enumeran en el cuadro 10 a continuación:

Cuadro 10

Nombre de la solución	Fabricante	Descripción
Utopia Gold	Utopia Silver Supplements	Oro coloidal
SNG911219	Source Naturals, Inc.	Oro ultra coloidal
Nanopartz	Nanopartz	Nanopartículas de oro esférico exactas
Nanocomposix 15 nm	Nanocomposix	Oro Nanoxact de ácido tánico
Nanocomposix 10 nm	Nanocomposix	Oro Nanoxact tánico

Nombre de la solución	Fabricante	Descripción
Harmonic Gold	Harmonic Innerprizes	
ElectraClear	Inspirial Technologies	Oro coloidal
Mesogold	Purest Colloids, Inc	

5 La figura 90C muestra los patrones espectrales UV-Vis de cada una de las 7 de las 8 suspensiones de nanopartículas de oro disponibles comercialmente discutidas en la figura 22A (Utopia Gold, SNG911219, Nanopartz, Nanocomposix 15nm, Nanocomposix 10nm, Harmonic Gold y MesoGold) en una gama de longitud de onda de interrogación de aproximadamente 250nm-750nm.

10 La figura 90D muestra los patrones espectrales UV-Vis para 7 de las 8 suspensiones de nanopartículas de oro disponibles comercialmente discutidas en figura 22A (Utopia Gold, SNG911219, Nanopartz, Nanocomposix 15nm, Nanocomposix 10nm, Harmonic Gold y MesoGold) sobre una gama de longitud de onda interrogación de aproximadamente 435nm-635nm.

Análisis de tamaño de partículas y forma de partícula

15 Imágenes de microscopios electrónicos (TEM) de transmisión fueron analizadas por observación visual con la ayuda del software que se hace referencia en los ejemplos 5-7. Cristales/partículas individuales fueron asignados a uno de los cinco grupos de acuerdo a la proyección bidimensional que se muestra en las microfotografías. Las cinco categorías son: triángulo, pentágono, hexágono, diamantes y otros. Estas categorías corresponden a morfologías tridimensionales dilucidadas en la literatura y estudios previos de TEM que utilizan un portador de muestras de inclinación. La correspondencia de 2D/3D de las categorías de forma de partícula/cristal aparece en el cuadro 11.

20

Cuadro 11

Proyección bidimensional	Morfologías de nanopartículas tridimensional posibles
Triangulo	Tetraédrico
Pentágono	Bipiramidal pentagonal (es decir, decaédrica)
Hexágono	Bipiramidal hexagonal, icosaédricas, octaédricas
Diamante	Octaédrica, barias bipirámides alargadas, tetraédricas fusionadas, vistas laterales de bipirámides
Otra	Icosaédricas, esferas, elipses, barras, partículas agregadas, plaquetas, partículas de forma incierta

25 Ciertas formas de nanocristal pueden tomar múltiples proyecciones bidimensionales. Por ejemplo, un icosaedro, una forma posible para nanocristales de oro, puede aparecer como un hexágono, un heptágono irregular o un esferoide en una micrografía TEM. Mientras se tiene cuidado para discernir las formas hexagonales, octogonales y de otras cuando se ven en la proyección bidimensional, información concluyente con respecto a la forma verdadera de estos nanocristales no siempre se observan en la proyección bidimensional. Por lo tanto, sólo el tetraedro y categorías de bipirámide pentagonal (es decir, decaedro) pueden discernirse absolutamente. Hexagonal, diamante y otras categorías se agrupan.

30

35 Un nanocristal de bipirámide pentagonal visto en su lado podría proyectarse como un diamante. Esto es un suceso improbable dada la naturaleza plana del sustrato de muestra y teniendo en cuenta el escaso número de diamantes contados durante el análisis. Aquellos decaedros contados a través de la proyección bidimensional de pentágono son distintos de este grupo anterior, per se, y su recuento fue tomado como una figura de mérito o método de distinguir los cristales de la inventivos de aquellos de la técnica. Asimismo, triángulos o tetraedros también son fácilmente distinguibles y también pueden utilizarse para fines de comparación.

40 Agregación y aglomeración de partículas o nanocristales pueden ocurrir en un coloide o como un artefacto del procedimiento de secado necesario para la preparación/análisis de muestras TEM. Densas aglomeraciones y agregaciones más grandes (más de aproximadamente 50 partículas/nanocristales) no fueron analizadas debido a posibles errores de conteo. Se analizaron las formas de partículas/cristales y el número de cristales/partículas de agregados más pequeños y aglomeraciones visualmente resueltas. Además, sólo imágenes bien resueltas fueron utilizadas para esta investigación.

45 A fin de ser muy conservador, durante el análisis de micrografías TEM de todas las suspensiones o coloides producidos según la invención, cualquier cristal cuestionable fue asignados al grupo con la etiqueta "Otros". Cristales cuestionables fueron aquellos que posiblemente pertenecen a las categorías de cristal bien definido, pero existe incertidumbre (por ejemplo, un pentágono pequeño con una esquina oscurecida por una partícula adyacente). Por el contrario, al realizar el análisis de las partículas en los coloides comercialmente disponibles, cualquier partícula de forma cuestionable recibió "el beneficio de la duda" y fue asignado a la "categoría "hexagonal" a pesar de la incertidumbre de su estructura de cristal real. Por lo tanto las comparaciones de forma de cristal/partícula no están sesgadas y son muy conservadores en cuanto a posibles diferencias entre coloides disponibles comercialmente y

50

coloides nanocristalinos realizados de acuerdo con la invención.

5 Es claro del cuadro 12 que la presencia de nanocristales correspondientes en forma a bipirámides pentagonales y/o tetraedro son bastantes diferentes de los coloides disponibles comercialmente y ARCG-05. Además, estos nanonocristales tienen superficies sustancialmente "limpias", como se discute antes, mostradas y definidas en otras partes en el presente documento.

Cuadro 12

Producto	No. de ejemplo	Bipirámide pentagonal	Tetraedro	Octaedro	Hexagonal	Otras formas	PPM	Diám. prom. TEM (nm)	pH
GD-007	5	21%	10%	2%	40%	27%	14	14.3	8.9
GB-056	17	34%	13%	6%	30%	17%	12	12.1	9.1
GB-077	16	22%	8%	3%	40%	27%	8	8.7	9.0
GB-134	16	31%	18%	5%	27%	19%	9	17.5	9.2
GB-151	18	32%	8%	5%	36%	19%	8	10.9	9.4
GB-154	13	14%	7%	4%	23%	51%	5	14.1	9.7
GB-156	13	18%	16%	5%	30%	30%	5	19.4	9.2
GB-162	14	15%	32%	1%	16%	37%	8	8.9	9.0
GB-163	15	9%	21%	2%	28%	40%	8	20.6	9.1
GB-164	15	12%	12%	7%	32%	37%	8	20.4	9.3
GB-165	14	22%	19%	5%	24%	30%	7	14.7	9.0
GB-166	14	15%	10%	2%	24%	49%	6	13.0	9.0
GB-175	18	25%	22%	1%	23%	29%	11	11.8	9.3
GB-176	18	23%	20%	1%	35%	21%	10	10.4	9.3
GB-177	18	29%	19%	1%	28%	23%	10	10.9	9.3
GB-188	18	25%	23%	6%	23%	24%	8	10.6	9.1
GB-189	18	26%	21%	0%	23%	30%	8	10.4	9.2
GB-194	18	22%	19%	3%	33%	23%	9	12.1	9.2
GB-195	18	17%	16%	3%	45%	19%	8	11.1	9.2
GB-196	18	21%	16%	1%	31%	30%	9	12.1	9.1
GB-198	18	14%	10%	0%	51%	25%	10	11.7	9.2
GB-199	18	33%	9%	1%	40%	17%	12	13.0	9.1
GA-002	20	30%	23%	5%	24%	18%	11	12.2	10.5
GA-003	20	27%	17%	6%	32%	18%	10	12.7	10.3
GA-004	20	15%	9%	3%	38%	35%	10	14.1	9.0
GA-005	20	14%	13%	4%	31%	37%	11	14.4	9.1
GA-009	20	11%	11%	2%	36%	39%	10	12.0	9.2
GA-011	20	8%	6%	6%	37%	44%	10	12.0	8.9
GA-013	20	8%	13%	5%	28%	48%	8	11.8	8.7
GT-033	1-4	4%	1%	1%	26%	68%	2	11.8	6.7
1AC-261-1	12	12%	12%	2%	37%	37%	14	12.2	9.0
AURORA 020	19	15%	14%	1%	31%	39%	128	20.6	9.0
ARCG-05	21	3%	0%	2%	6%	89%	5	13.7	6.3
Utopia Gold	22	5%	2%	1%	5%	89%	9	4.7	5.1
SNG911219	22	2%	0%	0%	11%	87%	13	18.4	6.9
Nanopartz	22	2%	0%	0%	21%	77%	39	21.9	7.6
Nanocomposix 15nm	22	3%	4%	2%	10%	81%	49	17.8	5.2
Nanocomposix 10nm	22	2%	1%	1%	22%	73%	51	13.7	5.1

Producto	No. de ejemplo	Bipirámide pentagonal	Tetraedro	Octaedro	Hexagonal	Otras formas	PPM	Diám. prom. TEM (nm)	pH
Harmonic Gold	22	8%	2%	2%	35%	55%	5	8.9	8.8
electraClear	22	6%	2%	2%	20%	71%	3	5.7	6.3
MesoGold	22	5%	1%	2%	15%	78%	20	8.5	5.7

Ejemplo 22b

Ejemplo de potencial Zeta

5 La naturaleza y/o cantidad del cambio superficial (es decir, positivo o negativo) sobre las nanopartículas constituidas también puede tener una gran influencia en el comportamiento y/o los efectos de la nanopartículas/suspensión o coloide. Por ejemplo, una corona de proteína puede verse influenciada por el cambio de superficie en una nanopartícula. Estos cambios de superficie son comúnmente referidos como "potencial zeta". En general, es bien sabido que cuanto mayor sea el potencial zeta (positivo o negativo), mayor será la estabilidad de las nanopartículas en la solución (es decir, la suspensión es más estable). Sin embargo, controlando la naturaleza y/o cantidad de las cargas de superficie de nanopartículas constituidas el desempeño de tales soluciones de nanopartículas en una variedad de sistemas puede controlarse. Debe quedar claro a una persona con experiencia en la técnica que ligeros ajustes de composición química, atmósferas reactivas, intensidades de potencia, temperaturas, etc., puede causar una variedad de diferentes compuestos químicos (semi-permanentes y transitorio) nanopartículas (y componentes de nanopartículas) que se formaron, así como diferentes nanopartículas/soluciones (por ejemplo, incluso modificando las estructuras del líquido 3 (como el agua) per se). En consecuencia, este ejemplo mide el potencial zeta de varias suspensiones realizadas de acuerdo con la invención, como así como varias suspensiones de oro coloidales comúnmente disponibles.

20 "Potencial zeta" es conocido como una medida del potencial electro-cinético en sistemas coloidales. Potencial Zeta también se conoce como carga superficial de partículas. Potencial Zeta es también conocida como la diferencia de potencial que existe entre la capa estacionaria de líquido y el líquido dentro del cual se dispersó la partícula. Un potencial zeta a menudo se mide en milivoltios (es decir, mV). El valor del potencial zeta de aproximadamente 25mV es un valor arbitrario que ha sido elegido para determinar si existe o no estabilidad entre una partícula dispersa en un medio de dispersión. Así, cuando en el presente documento se hace referencia al "potencial zeta", debe entenderse que el potencial zeta que se refiere es una descripción o cuantificación de la magnitud de la carga eléctrica presente en la doble capa.

30 El potencial zeta se calcula de la movilidad electroforética por la ecuación de Henry:

$$U_E = \frac{2\varepsilon z f(ka)}{3\eta}$$

35 donde z es el potencial zeta, UE es la movilidad electroforética, ε es una constante dieléctrica, η es una viscosidad, f(ka) es la función de Henry. Para la aproximación de Smoluchowski f(ka) = 1.5.

40 Movilidad electroforética se obtiene midiendo la velocidad de las partículas en un campo eléctrico aplicado mediante Velocímetro de láser Doppler ("LDV"). En LDV el rayo láser incidente se centra en una suspensión de partículas dentro de una celda capilar plegada y la luz dispersada de las partículas se combina con el haz de referencia. Esto produce una señal de intensidad fluctuante donde el índice de fluctuación es proporcional a la velocidad de las partículas (es decir, la movilidad electroforética).

45 En este ejemplo, un dimensionador Zeta-S "Nano-ZS" producido por instrumentos de Malvern se utilizó para determinar el potencial zeta. Para cada medición que se llenó una muestra de 1 ml en la celda zeta desechable clara DTS1060C. Software de la tecnología de dispersión, versión 5.10 se utilizó para ejecutar el dimensionador Zeta y para calcular el potencial zeta. Se utilizaron los siguientes valores: dispersante - agua, temperatura de 25°C, viscosidad - 0.8872 cP, índice de refracción - 1.330, constante dieléctrica - 78.5, modelo de aproximación - Smoluchowski. Se realizó una corrida de cientos de repeticiones para cada muestra.

50 Figura 91 muestra el potencial zeta de dos soluciones de nanocrystal coloidal (GB-134 y GB-151) como una función del pH. El pH fue variado valorando una solución de 1% en peso de ácido acético. Las mediciones se realizaron en un dimensionador Zeta Malvern Instruments Nano-ZS90 en la celda capilar doblada DTS 1060 a 25°C. Corridas de sub 20 y 50 por mediciones se utilizaron en pH bajos y altos, respectivamente.

55 La figura 92 muestra las mediciones de conductividad para las mismas soluciones coloidales analizadas para el potencial Zeta. Las mediciones de conductividad se obtuvieron simultáneamente en el Malvern Instruments Zeta Sizer NanoZS90 cuando se determinó el potencial Zeta.

Ejemplo 23a

60 Esta ejemplo 13a utiliza un conjunto de condiciones de procesamiento similares a las establecidas en los ejemplos 5-7. Este ejemplo utiliza un aparato similar a los que se muestran en las figuras 17B, 18A, 19A-19B y 21A-21G. El cuadro 8 establece las condiciones de procesamiento específicos de este ejemplo que muestran las diferencias entre las condiciones de procesamiento establecidas en los ejemplos 5-7. Las diferencias principales en este

ES 2 623 504 T3

ejemplo incluyen potenciador de procesamiento añadido al líquido 3 y una tasa de flujo de entrada de líquido 3 más rápida.

Cuadro 13
0.528 mg/ml de NaHCO₃ (Au)

ID de corrida: GB-006
Velocidad de flujo: 240 ml/min

Voltaje: 255V
NaHCO₃: 0.528 mg/ml
Diámetro del alambre: 0.5mm
Configuración: Recta/Recta
PPM: 8.7

# de conjunto	# de electrodo	Distancia "c-c" pulg/mm	Distancia "x" pulg/mm	voltaje	Sección transversal
1	1a	4.5/114.3*	0.25	750	V
	5a		N/A	750	
2	5b	23/584.2**	N/A	255	Rectángulo 5.25" de profundidad
	5b'	2.5/63.5*	N/A		
3	5c	8.5/215.9	N/A	255	Rectángulo 5.25" de profundidad
	5c'		N/A		
4	5d	8.5/215.9	N/A	255	
	5d'		N/A		
5	5e	8/203.2	N/A	255	
	5e'		N/A	255	
		2/50.8**			
				Temperatura de la salida de agua	95C

* Distancia de la entrada del agua al centro del primer conjunto de electrodos

** Distancia del centro del último conjunto de electrodos a la salida de agua

La figura 93 muestra una salida de Viscotek representativa para la suspensión producida de acuerdo con el ejemplo 23a. Los números informados corresponden a los radios hidrodinámicos de nanocristales en la suspensión.

20 Ejemplo 23b

Este ejemplo 23b utiliza la suspensión del ejemplo 23a para la fabricación de un producto de crema o gel. Específicamente, unos 1,300 gramos de la suspensión elaborada de acuerdo al ejemplo 13a fue calentada a aproximadamente 60°C durante un período de aproximadamente 30 minutos. La suspensión se calienta en un vaso de precipitados de Pyrex ® de 1 litro sobre una placa calefactora metálica. Aproximadamente 9.5 gramos de Carbopol ® (ETD 2020, un carbómero fabricado por Noveon, Inc., Cleveland, OH) se agregaron lentamente a la suspensión calentada, agitando constantemente utilizando un mezclador de pintura plástico rotatorio de jaula. Esta mezcla se produjo durante unos 20 minutos hasta que se disolvieron los grandes grumos del Carbopol.

30 Aproximadamente 15 gramos de lanolina líquida de alta pureza (ahora Personal Care, Bloomington, IL) fue añadido a la suspensión y mezclado con el agitador antes mencionado.

Aproximadamente 16 gramos de aceite de jojoba de alta pureza fueron entonces agregados y mezclados a la suspensión.

35 Aproximadamente 16 gramos de trozos de manteca de cacao de alta pureza (haciendo jabón y suministros de belleza, North Vancouver, B.C.) fueron calentados en un vaso de precipitados de Pyrex ® de 500ml separado y colocado en una placa calefactora hasta que los fragmentos se convirtieran en líquido y la manteca de cacao líquida entonces fue agregada y mezclada a la suspensión antes mencionada.

40 Aproximadamente 16 gramos de hidróxido de potasio (solución al 18%) fue agregado y mezclado con los ingredientes antes mencionados para causar la suspensión a gel. La suspensión completa continuamente se mezcla con el mezclador giratorio de jaula de plástico para dar como resultado una crema o gel que se forman. Durante esta mezcla final de aproximadamente 15 minutos, aroma adicional de "isla tropical" (2 ml), se agregó. El resultado fue un gel cremoso, rosado.

45

Ejemplo 23c

Este ejemplo 23c utiliza la suspensión elaborada del ejemplo 7. Específicamente, este ejemplo utiliza el producto del ejemplo 7 (es decir, GD-015) para fabricar un producto de gel o crema. Específicamente, aproximadamente 650 gramos de la suspensión elaborada de acuerdo al ejemplo 7 fue calentada a aproximadamente 60°C durante un período de aproximadamente 30 minutos. La suspensión se calienta en un vaso de precipitados de Pyrex® de 1 litro sobre una placa calefactora metálica. Aproximadamente 9.6 gramos de Carbopol® (ETD 2020, un carbómero fabricado por Noveon, Inc., Cleveland, OH) se agregaron lentamente a la suspensión calentada, agitando constantemente utilizando un mezclador de pintura de plástico rotatorio de jaula. Esta mezcla se produjo durante unos 20 minutos hasta que se disolvieron los grandes grumos del Carbopol.

Aproximadamente 7 gramos de lanolina líquida de alta pureza (ahora Personal Care, Bloomington, IL) fue añadido a la suspensión y mezclado con el agitador antes mencionado.

Aproximadamente 8 gramos de aceite de jojoba de alta pureza fueron entonces agregados y mezclados a la suspensión.

Aproximadamente 8 gramos de trozos de manteca de cacao de alta pureza (haciendo jabón y suministros de belleza, North Vancouver, B.C.) fueron calentados en un vaso de precipitados de Pyrex® de 500ml separado y colocado en una placa calefactora hasta que los fragmentos se convirtieran en líquido y la manteca de cacao líquida entonces fue agregada y mezclada a la suspensión antes mencionada.

Aproximadamente 45 gramos del líquido contiene una tapa de gel líquido Advil® (por ejemplo, ibuprofeno líquido y potasio) se añade, y se mezcla completamente con la suspensión.

Aproximadamente 8 gramos de hidróxido de potasio (solución al 18%) fue agregado y mezclado para causar la suspensión a gel. La suspensión completa continuamente se mezcla con el mezclador giratorio de jaula de plástico para dar como resultado una crema o gel que se forman. Durante esta mezcla final de aproximadamente 15 minutos, aroma adicional de "isla tropical" (2 ml) se agregó. El resultado fue un gel cremoso, rosado.

Ejemplo 23d

Este ejemplo 23d utiliza la suspensión equivalente a GB-139 para fabricar un producto de gel o crema. Específicamente, aproximadamente 650 gramos de la suspensión fue calentada a aproximadamente 60°C durante un período de aproximadamente 30 minutos. La suspensión se calienta en un vaso de precipitados de Pyrex® de 1 litro sobre una placa calefactora metálica. Aproximadamente 9.6 gramos de Carbopol® (ULTREZ10, un carbómero fabricado por Noveon, Inc., Cleveland, OH) se agregaron lentamente a la suspensión calentada, agitando constantemente utilizando un mezclador de pintura de plástico rotatorio de jaula. Esta mezcla se produjo durante unos 20 minutos hasta que se disolvieron los grandes grumos del Carbopol.

Aproximadamente 7 gramos de lanolina líquida de alta pureza (ahora Personal Care, Bloomington, IL) fue añadido a la suspensión y mezclado con el agitador antes mencionado.

Aproximadamente 8 gramos de aceite de jojoba de alta pureza fueron entonces agregados y mezclados a la suspensión.

Aproximadamente 8 gramos de trozos de manteca de cacao de alta pureza (haciendo jabón y suministros de belleza, North Vancouver, B.C.) fueron calentados en un vaso de precipitados de Pyrex® de 500ml separado y colocado en una placa calefactora hasta que los fragmentos se convirtieran en líquido y la manteca de cacao líquida entonces fue agregada y mezclada a la suspensión antes mencionada.

Aproximadamente 8 gramos de hidróxido de potasio (solución al 18%) fue agregado y mezclado junto con los ingredientes antes mencionados para causar la suspensión a gel. La suspensión completa continuamente se mezcla con el mezclador giratorio de jaula de plástico para dar como resultado una crema o gel que se forman. El resultado fue un gel cremoso, rosado.

Ejemplo 23e

Este ejemplo 23e utiliza la suspensión equivalente a IAC-261 para fabricar un producto de gel o crema. Específicamente, aproximadamente 450 gramos de la suspensión fue calentada a aproximadamente 60°C durante un período de aproximadamente 30 minutos. La suspensión se calienta en un vaso de precipitados de Pyrex® de 1 litro sobre una placa calefactora metálica. Aproximadamente 4.5 gramos de Carbopol® (ULTREZ10, un carbómero fabricado por Noveon, Inc., Cleveland, OH) se agregaron lentamente a la suspensión calentada, agitando constantemente utilizando un mezclador de pintura de plástico rotatorio de jaula. Esta mezcla se produjo durante unos 20 minutos hasta que se disolvieron los grandes grumos del Carbopol.

Aproximadamente 6.5 gramos de hidróxido de potasio (solución al 18%) fue agregado y mezclado junto con los ingredientes antes mencionados para causar la suspensión a gel. La suspensión completa continuamente se mezcla con el mezclador giratorio de jaula de plástico para dar como resultado una crema o gel que se forman. El resultado fue un gel cremoso, rosado.

5 Ejemplo 24

Estudio in vitro de los efectos de formulación nanocrystalina de oro GB-079 en producción de citoquinas monocito

10 Resumen

15 Este ejemplo in vitro fue diseñado para determinar los efectos de la suspensión nanocrystalina de oro GB-079 en cuatro diferentes citoquinas/quimioquinas. Específicamente en este ejemplo, las células mononucleares de sangre periférica humanas ("hPBMC") fueron cultivadas en la presencia o ausencia de cada uno de los cuatro niveles diferentes de concentración o ppm de suspensión nanocrystalina de oro GB-079 (es decir, una suspensión o coloides hechos en conformidad con la descripción de un ejemplo aquí) en la presencia o ausencia de (como se describe aquí) lipopolisacárido bacteriano ("LPS").

20 Se sabe que el lipopolisacárido se une a TLR4, un receptor expresado en un número de células del sistema inmunológico diferentes, y tal enlace normalmente desencadena la activación y/o expresión de una serie de citoquinas, normalmente en forma dependiente de NFkB (es decir, Factor Nuclear kB-dependiente). Después de aproximadamente 24 horas de las condiciones de cultivo a aproximadamente 37°C en aproximadamente 5% CO₂ y una atmósfera humidificada de alrededor del 95% de humedad relativa, sobrenadantes fueron eliminados y analizados para la presencia de una serie de diferentes citoquinas/quimioquinas, incluyendo: MIF, TNFα, IL-6 e IL-10. La mayoría de, pero no la única fuente de estas citoquinas en la población hPBMC se esperaría que fueran los monocitos. Cultivos en ausencia de LPS indican si tratamientos inducen la producción de estas citoquinas/quimioquinas, mientras esos cultivos en presencia de LPS indicarán si los tratamientos son capaces de modular la producción de citoquinas en respuesta a un estímulo inflamatorio. Se realizaron ensayos de citoquinas por el Protocolo de ensayo extracelular de Luminex®. El sistema Luminex usa microesferas recubiertas de anticuerpos que se unen específicamente a las citoquinas siendo ensayadas. Cuando excitados por la luz láser se miden las microesferas que han enlazado el antígeno y esto es una evaluación directa de la cantidad de las citoquinas que se producen y los datos fueron siempre como datos sin procesar y cantidades absolutas de cada citoquinas/quimioquinas medidas.

35 Preparación de hPBMC

Materiales utilizados para la preparación de la celda:

	aislamiento de PBMC	Suministrador	No. de cat.
40	Histopaque 1077	Sigma	H8889
	RPMI 1640 x 10	Sigma	R1145
	Agua libre de endotoxinas (EFW)	Gibco	15230-170
	Tubos falcon de 50 ml	Corning	430829
	Citrato ACD	Sigma	C3821-50 ml
45	Suero AB	servicio nacional de sangre	
	Placas de plástico de 24 pozos	Costar/Corning	3524
	LPS	Sigma	
	<u>Suplementos de medios</u>		
	Penicilina/estreptomicina	Sigma	P0871
50	HEPES	Sigma	H0887
	Glutamina	Gibco	25030-024
	Bicarbonato sódico (7.5%)	Gibco	25080

Equipo

55 NucleoCounter (es decir, número de célula y contador de viabilidad hecha por Chemometec)
Centrifugadora de escritorio
Campana de cultivo de tejidos

Colección de sangre humana

60 La sangre de un voluntario sano fue extraída a una jeringa y colocada en un tubo falcon de 50 ml. Anticoagulante de citrato 3.3 ml (ACD, Sigma) se añadió a los tubos falcon de 50 ml en forma estéril. Tubos fueron invertidos para mezclar.

Método de preparación celular

1. 10x RPMI + suplementos (25 ml 10x RPMI + 2.5 ml Penstrep + 2.5 ml L-glutamina + 5 ml HEPES + 6.7 ml de solución de bicarbonato de sodio (7.5%)) se mezclan en un tubo falcon, en este documento se hace referencia como los "medios de cultivo".
2. Sangre fue resuspendida en un volumen igual de 1x RPMI 1640 (diluido de 10x RPMI en EFW - 200 ml preparados [20 ml en 180 ml]) y mezclado por inversión en un tubo falcon.
3. La histoplaca fue precalentada a temperatura ambiente (RT) y se añadieron 20 ml en un tubo falcon de 50 ml.
4. La histopalaca fue suavemente enchapada con 30 ml de sangre/medio después se mezclan.
5. La muestra de mezcla de sangre de histoplaca se giran a 1600rpm en una centrifugadora de escritorio para unos 25 min a RT (sin freno).
6. PBMC fueron separados en la capa de interfaz entre el medio y la histoplaca, las células fueron retiradas por aspiración en un tubo falcon de 50 ml y 10 ml de medio de cultivo se añadió al mismo.
7. La muestra de células se giran a 1800 rpm durante unos 10 minutos en RT.
8. La muestra celular fue lavada dos veces con 30 ml de RPMI y resuspendida en el medio de cultivo (RPMI, complementado como se describe antes = RPMI/sin suero).
9. Durante el giro, RPMI complementado con 5% de suero AB se preparo.
10. La muestra celular fue resuspendida en 2 ml RPMI + suplementos + suero.
11. Se completaron los recuentos celulares y evaluación de viabilidad se realizó mediante el Nucleocontador (es decir, un contador de viabilidad celular).
12. Las células fueron resuspendidas en 1x RPMI para obtener una concentración final de 2.5×10^6 células/ml.
13. 500 μ l de células fueron trasladadas en una placa de 24 pozos.
14. 10 x RPMI + suplementos (500 μ l PenStrep, 500 μ l L-glutamina, 1 ml HEPES, 2.5 ml de suero AB) preparados mezclando untos en un tubo falcon, formando así los "medios de prueba".
15. La suspensión nanocrystalina de oro GB-079 inventiva se añadió a los pozos de la placa de 24 pozos (volumen total de 900 μ l)
16. 100 μ l 10x RPMI + suplementos se agregaron a cada pozo de una placa de 24 pozos Costar.
17. Los 24 placas de pozos fueron colocados en una incubadora humidificada establecida a 37°C/5% CO₂ durante 1 hora.
18. LPS se preparó en la concentración final 4x en 1x RPMI
19. 500 μ l de LPS se agregaron por pozo, o medio 500 μ l a pozos no reciben LPS, llevando el volumen total del pozo de material a cada pozo a 2 ml.
20. Placas fueron colocadas en una incubadora humidificada establecida a 37°C/5% CO₂ durante aproximadamente 24 horas.
21. 1800 μ l (3 x 600 μ l alícuotas) de sobrenadante se quitaron para análisis de ELISA y Luminex.
22. Sobrenadantes fueron almacenados a -80°C hasta que se ensayó en el sistema Luminex®.

Sistema de ensayo de Luminex®

- 40 Los sobrenadantes fueron ensayados en conformidad con la Protocolo de ensayo extracelular Luminex®, consultado el 11 de enero de 2010, en la siguiente dirección:

<http://www.invitrogen.com/etc/medialib/filelibrary/pdf.Par.1540.File.dat/Luminex%20Extracellular%20Protocol.pdf>

45

Cuadro 14

Muestra	Compuesto	EFW	10x RPMI	Células	LPS	1x RPMI
Células + vehículo		900 μ l	100 μ l	500 μ l		500 μ l
Células + vehículo + LPS		900 μ l	100 μ l	500 μ l	500 μ l	
Células + [prueba] _{1:5}	400 μ l	500 μ l	100 μ l	500 μ l		500 μ l
Células + [prueba] _{1:10}	200 μ l	700 μ l	100 μ l	500 μ l		500 μ l
Células + [prueba] _{1:20}	100 μ l	800 μ l	100 μ l	500 μ l		500 μ l
Células + [prueba] _{1:40}	50 μ l	850 μ l	100 μ l	500 μ l		500 μ l
Células + [prueba] _{1:100}	20 μ l	880 μ l	100 μ l	500 μ l		500 μ l
Células + [prueba] _{1:5} + LPS	400 μ l	500 μ l	100 μ l	500 μ l	500 μ l	
Células + [prueba] _{1:10} + LPS	200 μ l	700 μ l	100 μ l	500 μ l	500 μ l	μ l
Células + [prueba] _{1:20} + LPS	100 μ l	800 μ l	100 μ l	500 μ l	500 μ l	
Células + [prueba] _{1:40} + LPS	50 μ l	850 μ l	100 μ l	500 μ l	500 μ l	
Células + [prueba] _{1:100} + LPS	20 μ l	880 μ l	100 μ l	500 μ l	500 μ l	

Las células fueron estimuladas con LPS (una dosis alta de 1mg/ml y una dosis baja de 10ng/ml), los sobrenadantes fueron luego recopilados después de 24 horas y analizados en las cantidades presentes de las 4 citoquinas discutidas aquí. Los pozos de control contenían células y el compuesto de prueba inventivo GB-079 pero no LPS. Resultados obtenidos para cada una de las otras citoquinas/quimioquinas se muestran en las figuras 94A-94D.

5 La figura 94A muestra los efectos de GB-079 sobre la producción de IL-6 por células mononucleares de sangre periférica humana (hPBMC). Está claro de la figura 94A que se redujeron los niveles de IL-6 por GB-079 en PBMC estimulada por LPS. También se observó cierta producción de IL-6 con las más altas concentraciones de GB-079 en ausencia de estimulación de LPS en cinco niveles de concentración diferentes.

10 La figura 94B muestra los efectos de GB-079 sobre la producción de IL-10 por hPBMCs. Está claro de la figura 94B que los niveles de IL-10 observados fueron afectados por la adición de GB-079 en todos los niveles de concentración.

15 Figura 94C muestra los efectos de GB-079 sobre producción de MIF por hPBMCs. Específicamente, figura 94C muestra la siguiente estimulación LPS, se redujeron los niveles de MIF de manera dependiente de la dosis. Esta reducción se observó en los niveles de dilución de 1:5 y 1:10, mientras que los niveles MIF volvieron a aquellos de las muestras de control por el 1:20 de concentración de GB-079.

20 Además, la figura 94D muestra que GB-079 en las más altas concentraciones causaron un aumento en los niveles de TNF α (con ambas dosis probadas de LPS) por encima de las muestras estimuladas con vehículo control. También se observó cierta producción de TNF α con las dosis más altas de GB-079 en ausencia de estimulación de LPS.

25 Ejemplo 25

Estudio de artritis inducida por colágeno (CIA) en ratones

Resumen

30 Este ejemplo demuestra la eficacia de dos de las composiciones inventivas de oro nanocristalino (es decir, GT033 y GD-007) en un modelo de ratón CIA. Específicamente, ratones DBA/1 machos (12 semanas de edad) recibieron 100 μ g de colágeno de pollo tipo II emulsionado en adyuvante completo de Freund ("CII/CFA") en el día 0 del estudio por inyección en la base de la cola. Inflamación articular clínica fue marcada tres veces semanalmente desde el día 14 hasta la terminación en el día 42. Los resultados se resumen en la figura 95. De acuerdo con el protocolo siguiente se recibieron los tratamientos. Sangrados fueron tomados en el día 0 y 42. En la terminación los animales se desangraron, las patas traseras fueron retiradas y las articulaciones del tobillo estaban preparadas para el examen histopatológico. Resultados de Histopatología figuran en el cuadro 6 y cuadro 7.

40 Metodología

Animales

45	<p>Especie: ratones</p> <p>Cepa: DBA/1</p> <p>Fuente: Harlan</p> <p>Género y número: macho, 30</p> <p>Edad: alrededor de 12 semanas de edad al comienzo del estudio.</p> <p>Identificación: cada ratón fue dado un número de identidad única.</p>
50	<p>Ganadería: en la recepción, todos los animales fueron examinados para signos externos de enfermedad y todos los animales poco saludables fueron excluidos de evaluación adicional. Los animales fueron alojados en grupos de cinco bajo condiciones libres de patógenos específicos (spf), en una habitación termostáticamente controlada (22 \pm 4°C) en una unidad animal. Los animales se equilibraron en condiciones estándar de alojamiento de animales durante al menos 72 horas antes de usar. El estado de salud de los animales fue supervisado a lo largo de este período y la idoneidad de cada animal para uso experimental se evaluó antes de inicio del estudio.</p>
55	<p>Alojamiento: los animales fueron alojados en grupos de 10 cada jaula en una habitación controlada, para garantizar la temperatura correcta, humedad y 12 horas de ciclo de luz/oscuridad para la duración del estudio.</p>
60	<p>Dieta: dieta de pellas irradiada y el agua era disponible ad libitum durante los períodos de retención, aclimatación y post-dosis.</p>

Compuesto y reactivos

- 5 Colágeno de pollo tipo II (Sigma, C9301).
 Adyuvante incompleto de Freund ("IFA") (Sigma, FF5506)
 Mycobacterium tuberculosis H37Ra (BD Biosciences, 231141)
 Solución salina amortiguada de fosfato ("PBS")
 Formulaciones de nanocristales de oro de compuestos de prueba GT033 y GD-007.
 Vehículo: agua.

10 Grupos de tratamiento y dosis

Grupo de control 1, primer tratamiento "Grupo 2" y el segundo tratamiento "Grupo 3" cada uno tuvo 10 animales por grupo.

- 15 Grupo 1: Día 0 CII/CFA, dado el agua potable normal desde día 0-42.
 Grupo 2: Día 0 CII/CFA, formulación de nanocristal de oro (GT033; Ejemplo 4/cuadro 1d; ppm de oro 2.0) como agua potable desde día 0-42.
 Grupo 3: Día 0 CII/CFA, formulación de nanocristal de oro (GD-007; Ejemplo 5/cuadro 2a; ppm de oro 14.8) como el líquido solo para beber desde día 0-42.

20 Protocolo

1. A la llegada de los animales, la salud de todos los animales se comprobó y después de pasar la prueba de salud, cada uno fue numerado con una etiqueta única en la oreja.
 25 2. Los animales se dejan aclimatarse durante al menos 72 horas.
 3. Colágeno de pollo tipo II se preparó a fin de lograr una suspensión con una concentración de aproximadamente 16 mg/ml en 0.1 M de ácido acético. Después de la disolución durante la noche a 4°C, la solución fue diluida con PBS frío para lograr una suspensión con una concentración de aproximadamente 8 mg/ml.
 4. Mycobacterum fresco se preparo por molido finamente con un mortero y pistadero y añadiendo unos 7 ml de IFA, gota a gota, para crear una emulsión o suspensión de CFA con una concentración final de aproximadamente 5 mg/ml.
 30 5. Una emulsión de colágeno de pollo tipo II y CFA fue preparada utilizando volúmenes aproximadamente iguales de cada uno para dar como resultado en la suspensión inyectable de colágeno en CFA (es decir, "CII/CFA").
 6. En el día 0, los animales fueron inyectados con 50µl de la solución CII/CFA en la base de la cola.
 35 7. Tratamientos mediante la formulación de nanocristal de oro GT033 (es decir, grupo 2) y formulación de nanocristal de oro GD-007 (es decir, el grupo 3) recibieron conforme a la programación anterior hasta el día 42. Concretamente, cada botella de agua que contiene cualquier agua potable normal, GT033 o GD-007 fue detenido según sea necesario cada día o cada tercer día. Las botellas no fueron específicamente limpiadas o específicamente vaciadas durante la prueba en el día 42.
 40 8. Los puntajes de las extremidades se determinaron tres veces por semana desde el día 14 al final del estudio. Cada una de las cuatro extremidades recibió una puntuación de acuerdo a lo siguiente;

0 = Normal.

- 45 1 = Ligera hinchazón de articulaciones completas o inflamación del dígito individual.

2 = Hinchazón intermedia de toda la articulación con enrojecimiento y/o inflamación en más de un dígito.

- 50 3 = severa inflamación de articulación y enrojecimiento extendiendo a varios dígitos.

4 = severa inflamación de articulación y enrojecimiento extendiendo a varios dígitos; signos evidentes de remodelación de hueso.

- 55 9. Todos los animales fueron sangrados en los días 0 y día 42 y el suero recuperado se almacenó para análisis opcional.

10. Los animales fueron sacrificados el día 42 y las articulaciones de tobillo fueron eliminadas y colocadas en formalina neutra amortiguada en preparación para histopatología.

- 60 11. Estas secciones fueron procesadas y teñidas con hematoxilina y tinta eosina ("H & E") y fueron anotados por un histopatologista cualificado (y experimentalmente cegado) mediante una medición semi-cuantitativa del grado de infiltración y daño.

Figura 95 muestra gráficamente los resultados del puntaje de la extremidad CIA-prueba. Claramente la formulación de nanocristal de oro GD-007 (Grupo 3), que tienen una concentración de oro medida de aproximadamente 14.8 ppm, realiza lo mejor, en par (o mejor), quizás con un tratamiento con esteroides típico, cuyos resultados también se han colocado en figura 95 (aunque en realidad no medido). La formulación de nanocristal de oro GT033 (grupo 2) realiza mejor que el grupo de Control 1 en una concentración de aproximadamente 2.0 ppm de nanocristales de oro

suspendidas en agua.

Se realiza histopatología de las patas izquierda y derecha desde cada uno de los 10 ratones en el grupo 1 (control) y grupo 3 (GD-007). No se realiza histopatología de los ratones del grupo 2.

Cada par de patas se asignó un código numérico de patología (por ejemplo, R0248-09 de un ratón del grupo 1) y las extremidades se distinguen como la izquierda ("L") o derecha ("R") de cada animal numerado.

Histopatología/ Metodología:

- Fue disecada la piel de la pata.
- Las muestras diseccionadas fueron descalcificadas para permitir las secciones.
- Habitualmente se procesaron las muestras descalcificadas, seccionan y una sección teñida de H & E se preparó para el examen. Esto incluye las dos mitades de cada espécimen que está hemiseccionada.
- Cada pata histopat fue anotada como se describe a continuación. Las muestras fueron anotadas de forma cegada, sin conocimiento del protocolo experimental o la identidad de los grupos.
- Múltiples articulaciones falangeal y tarsal estaban generalmente presentes en cada sección. Puntuación relacionada con las más gravemente afectadas de estas uniones en cada caso.

Cuadro 15

Sistema de puntuación

En este caso, tres aspectos de la patología de articulación fueron anotados por separado para contribuir a una puntuación compuesta (es decir, máxima puntuación posible = 9). Por lo tanto, cuanto mayor sea el número, mayor será el daño. Microfotografías representativas de las articulaciones correspondientes a las categorías mencionadas 0-3 se muestran en las figuras 96A-96D, respectivamente. Compilaciones representativas de estos grados 0-3 se muestran en las figuras 97A (es decir, grado 0) a través de la figura 97E (es decir, grado 9).

Aspecto	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
Inflamación	Articulación normal	Hiperplasia sinovial media con inflamación dominada por neutrófilos. Números bajos de neutrófilos y macrófagos en el espacio de articulación.	Hiperplasia sinovial con inflamación moderada a marcada que involucra neutrófilos y macrófagos. Neutrófilos y macrófagos en el espacio de la articulación; puede ser algunos desechos de tejido necrótico	Hiperplasia sinovial con inflamación marcada que involucra neutrófilos y macrófagos. La pérdida de linaje sinoviocito. Inflamación puede extenderse desde el sinovio a tejido circundante incluyendo el musculo. Numerosos neutrófilos y macrófagos en el espacio de la articulación, junto con desechos de tejido necrótico significativo
Daño de cartílago articular	Articulación normal	El cartílago articular muestra solo cambio degenerativo medio. Formación del pannus inicial puede estar presente periféricamente	Cartílago articular muestra cambio degenerativo moderado y pérdida focal. La formación de pannus está presente focalmente	Interrupción significativa y pérdida de cartílago articular con formación de pannus extensa
Daño a hueso metafiseal subyacente	Articulación normal	No hay cambio a hueso metafiseal subyacente	Puede ser necrosis focal o fibrosis de hueso metafiseal	Interrupción o colapso de hueso metafiseal. inflamación extensiva, necrosis o fibrosis que se extiende a espacio medular de la metafisis

Cuadro 16 - Puntaje de histopatología de la pata

	No. de patología	No. de ratón y extremidad	Inflamación	Cartílago	Hueso	Puntaje total	Comentarios
Control	R0248-09	1.1 L	1	0	0	1	Algunos neutrófilos en sinovio grueso medianamente de forma local
		1.1 R	2	2	2	6	
	R0249-09	1.2 L	3	2	2	7	
		1.2 R	1	0	0	1	
	R0250-09	1.3 L	3	2	2	7	
		1.3 R	0	0	0	0	
	R0251-09	1.4 L	3	2	2	7	
		1.4 R	3	1	1	0	
	R0252-09	1.5 L	3	2	2	7	
		1.5 R	3	2	2	5	Reacción localizada a P1-metatarsal
	R0253-09	1.6 L	0	0	0	7	
		1.6 R	3	1	2	7	
	R0254-09	1.7 L	3	2	2	0	
		1.7 R	3	2	2	6	
	R0255-09	1.8 L	0	0	0	7	
		1.8 R	3	1	1	7	
R0256-09	1.9 L	0	0	0	0		
	1.9 R	0	0	0	6		
R0257-09	1.10 L	0	0	0	7		
	1.10 R	0	0	0	7		
Grupo 3 de tratamiento	R0258-09	2.1 L	0	0	0	0	
		2.1 R	0	0	0	5	
	R0259-09	2.2 L	0	0	0	0	
		2.2 R	0	0	0	0	
	R0260-09	2.3 L	0	0	0	0	
		2.3 R	0	0	0	0	
	R0261-09	2.4 L	0	0	0	0	
		2.4 R	0	0	0	0	
	R0262-09	2.5 L	0	0	0	0	
		2.5 R	0	0	0	0	
	R0263-09	2.6 L	0	0	0	0	
		2.6 R	0	0	0	0	Tiene respuesta inflamatoria subcutánea localizada; articulaciones normales
	R0264-09	2.7 L	0	0	0	0	
		2.7 R	0	0	0	0	
	R0265-09	2.8 L	0	0	0	0	
		2.8 R	0	0	0	0	
	R0266-09	2.9 L	3	1	0	4	
		2.9 R	0	0	0	0	
R0267-09	2.10 L	3	1	2	6	Reacción metatarsal-P1 localizada con hueso nuevo periostal marcada y formación de cartílago – probablemente reparación de fractura localizada más que enfermedad de articulación	
	2.10 R	3	2	2	7		

Cuadro 17

Puntajes promedio de grupo			
Grupo	Patas (n=)	Puntaje promedio	Mo. [%] de articulaciones afectadas
1-control	20	3.65	14/20 [70%]
2-GD-007	20	0.85	3/20 [15%]

Como es habitual para este tipo de modelo murino de CIA, un animal en el "Grupo 3" de tratamiento, GD-007, (es decir, R0266-09) exhibe una falta de correlación entre sus articulaciones derecha e izquierda en términos de la presencia/ausencia de artritis. Discrepancias similares ocurren en algunos de los ratones de control, así como las diferencias en la severidad de la artritis entre diferentes articulaciones en el mismo ratón (por ejemplo, R0250-09).

Está claro, sin embargo, que la patología más grave se produjo en el grupo de Control 1 (es decir, agua potable) y la patología menos grave ocurrió en el primer "grupo 2 de tratamiento" (es decir, formulación de nanocrystal de oro GD-007).

Un animal en el grupo 3 de tratamiento (es decir, R0267-09) sufrió una fractura que probablemente representaron sus puntajes más altos. Exclusión de este animal dio lugar a un puntaje promedio de 0.22. Además, los datos de histopatología no sugieren ningún daño resultante en absoluto en 8 de los 10 ratones (es decir, 16 articulaciones de pata totales examinadas). Claramente la formulación de nanocrystal de oro GD-007 tuvo un efecto positivo significativo en esta prueba de CIA.

Está claro que las formulaciones de nanocrystal de oro producidas según la invención significativamente reducen los efectos negativos de artritis inducida en el modelo de CIA, relativa al control. Se sabe que la reducción excesiva de IL-6 y/o reducción de MIF excesiva reducen los efectos negativos de las condiciones artríticas. En consecuencia, sin querer obligarse por cualquier teoría particular o explicación, mediante la reducción de MIF excesivo, y/o una o varias vías de señalización asociadas con MIF, pueden reducirse las condiciones artríticas. La formulación nanocrystalina de oro GD-007 mostró significativamente mejores resultados, relativos al control. Estos resultados, junto con los resultados que se muestran en el ejemplo in vitro y el modelo de ratón EAE ejemplar aquí, sugieren que pueden alterar las composiciones nanocrystalinas de oro inventiva MIF y/o más vías de señalización asociadas con MIF, así como IL-6.

Ejemplo: Comparación de dosis

Como se mencionó anteriormente, en la prueba de nanocrystal de oro, cada ratón tenía acceso a solución GD-007 como la única fuente de líquido para beber. Para calcular la dosis de oro consumido por un ratón por día, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Dosis} = \frac{\text{volumen consumido (ml)} \times \text{concentración (mg/l)}}{\text{Peso de los animales (kg)}}$$

donde

- Dosis es el nanocrystal de oro consumido por el ratón por día en mg/kg/día,
- Volumen es una cantidad media de solución 134-GBD bebida por un ratón por día en ml/día,
- Concentración es la cantidad de nanocrystal de oro en la solución de GD-007 en mg/ml,
- Peso es un peso del cuerpo de ratón en kg.

Para calcular la dosis de nanocrystal de oro se utilizan los siguientes supuestos:

- Volumen = 4 ml
- Concentración = 0.0148 mg/ml
- Peso = 0.025 kg

Esto se traduce en una dosis de nanocrystal de oro de 2.4 mg/kg/día.

A continuación es la comparación del contenido de oro en dosis normalmente utilizadas para el tratamiento de auranofina en el modelo de ratón de artritis inducida por colágeno de tipo II. Dosis de auranofina típica es de 40 mg/kg/día (Agata et al., 2000). Dado que el contenido de oro en auranofina es del 29%, esto se traduce en dosis de oro de aproximadamente 12 mg/kg/día.

En el único estudio humano conocido (Abraham et al. 1997, 2008) usando nanopartículas de oro, una dosis de nanopartículas de oro 30 mg/día fue utilizada para los pacientes con un peso de 108 a 280 lb. Esto corresponde a aproximadamente 0.24 a 0.61 mg/kg/día de dosis de nanopartículas de oro.

A continuación se muestra una comparación entre los niveles de dosis de contenido de oro en auranofina, oro en nanopartículas de oro y los nanocristales de oro novedosos, utilizados en estos estudios de eficacia diferentes, en el cuadro 17a, demostrando que los nanocristales de oro novedosos presentes son fundamentalmente diferentes de y realizan de forma muy diferente y en un nivel mucho mayor de potencia que, oro convencional, ya sea en forma molecular en auranofina, o en forma de nanopartículas como en Abraham, et. al.

Cuadro 17a

Estudio	Tipo de producto de oro	Oro mg/kg/día
Ratón RA CIA	Nanocristales de oro novedosos	2.4
Agata/ratón RA CIA	Auranofina	12 (5X)
Dosis humana estimada*	Nanocristales de oro novedosos	0.005
Abraham/humano	Oro coloidal	0.24 a 0.61 (47X a 122X)
*usando ratón/ratón Auranofin/factor de potencia de nanocristales aplicado a dosis humana de auranofina		

Ejemplo 26

Modelo murina aguda de encefalitis auto-inmune experimental ("EAE")

Resumen

Este ejemplo demuestra la eficacia de la composición inventiva nanocristalina de oro GB-056 en un modelo de ratón EAE. Ratones hembras de Biozzi 7-8 semanas de edad fueron desafiados en el flanco con homogenado de médula espinal de ratón en CFA en el día 0 del estudio por inyección en la base de la cola. Diez ratones del grupo de tratamiento fueron oralmente administrados con el tratamiento de suspensión de nanopartículas de oro GB-056 (es decir, como se describe en ejemplo 17) como su único líquido para beber mediante el uso de botellas de agua estándar. Formulación nanocristalina de oro fresca GB-056 se proporcionó diariamente junto con botellas de agua limpia. Ratones del grupo control recibieron agua potable ordinaria. Puntuación clínica en esta prueba EAE fue completada por un sistema de puntaje estándar de 0-5.0 anotado desde el primer día hasta la terminación en el día 28. Los resultados se presentan en el cuadro 9, así como en las figuras 98-99. Tratamientos se proporcionaron de acuerdo al protocolo de abajo.

Metodología

Animales

Especie: Ratones
 Cepa: BIOZZI
 Fuente: Harlan
 Género y número: Hembra, 20
 Edad: Aproximadamente 7-8 semanas de edad al comienzo del estudio.
 Identificación: Cada ratón fue dado un número de identidad única.
 Ganadería: en la recepción, todos los animales fueron examinados para signos externos de enfermedad y todos los animales poco saludables fueron excluidos de evaluación adicional. Los animales fueron alojados en grupos de cinco bajo condiciones libres de patógenos específicos (spf), en una habitación termostáticamente controlada (22 ± 4°C) en una unidad animal. Los animales se equilibraron en condiciones estándar de alojamiento de animales durante al menos 72 horas antes de usar. El estado de salud de los animales fue supervisado a lo largo de este período y la idoneidad de cada animal para uso experimental se evaluó antes de inicio del estudio.
 Alojamiento: los animales fueron alojados en grupos de 10 cada jaula en una habitación controlada, para garantizar la temperatura correcta, humedad y 12 horas de ciclo de luz/oscuridad para la duración del estudio.
 Dieta: dieta de pellas irradiada y el agua era disponible ad libitum durante los períodos de retención, aclimatación y periodos post-dosis.

Compuesto y reactivos

Ratón y homogenado de la médula espinal ("MSCH") producidos internamente.
 Adyuvante de Freund incompleto ("IFA") (Sigma, FF5506)
 Tuberculosis Mycobacterium H37Ra (BD Biosciences, 231141)
 Solución salina amortiguada con fosfato ("PBS") interno.
 Suspensión nanocristalina de oro de compuesto de prueba GB-056 (discutido en otra parte en el presente

documento) Vehículo: agua.

Grupos de tratamiento y dosis

5 Grupo 1 de control y el grupo de tratamiento 2 cada uno tiene 10 animales por grupo.

Grupo 1: Día 0 una mezcla de MSCH/FIA/tuberculosis (ver protocolo abajo) fue inyectada en cada ratón en la base de la cola y cada uno recibió agua potable normal dispensada de una botella de agua, desde el día 0 a día 28.

10 Grupo 2: Día 0 una mezcla de MSCH/CFA/tuberculosis fue inyectada en cada ratón en la base de la cola y cada uno recibió formulación de nanocrystal de oro (GB-056) dispensada de una botella de agua limpia diariamente con GB-056 fresco proporcionada diariamente, como el único líquido para beber, desde día 0 a día 28.

15 Protocolo

A la llegada de los animales, la salud de todos los animales se verificó y después de pasar la prueba de salud, cada uno fue numerado con una etiqueta única oreja.

- 20 1. Los animales se dejan aclimatar durante al menos 72 horas.
2. La médula espinal fue reconstituida en PBS que contiene mycobacterium tuberculosis H37RA. Esto dio lugar a 6.6 mg/ml de MSCH y 400ug/ml de H37RA. Un volumen igual de adyuvante incompleto de Freund fue añadido a esta mezcla para hacer el inmunógeno final (3.3 mg/ml SCH y 200ug/ml H37RA). Esta mezcla no puede considerarse completo de Freund porque la cantidad de mycobacterium era mucho menor.
25 3. En el día 0, los animales fueron inyectados con 50µl de la solución que se discutió en el paso 3 en la base de la cola.
4. Tratamiento mediante la formulación de nanocrystal de oro GB-056 fue dada conforme a la programación anterior hasta el día 28. GB-056 fresco fue proporcionada diariamente (es decir, reemplazado aproximadamente cada 24 horas).
30 5. Los puntajes se determinaron diariamente desde el primer día hasta el final del estudio. Puntuación de cada ratón ocurrió de acuerdo a la siguiente;

0: Normal

0.5: Cola parética

1.0: Cola flácida

35 1.5: Reflejo de corrección lento y/o ausente

2.0: Parálisis de extremidad trasera

2.5: Parálisis de extremidad posterior y marcha inusual

3.0: Parálisis de dos extremidades traseras

3.5: Parálisis de dos extremidades traseras + una parálisis de extremidad frontal

40 4.0: Parálisis de dos extremidad traseras + una o dos parálisis de extremidades delanteras

5.0: Moribundo

6. Los animales fueron sacrificados el día 28 y el cerebro y la médula espinal fueron eliminados y colocados en formalina amortiguada- neutral en preparación para histopatología.

45 7. Estas secciones fueron procesadas y teñidas con tinción de hematoxilina y eosina ("H & E"). Los cuadros 18a-18b muestran el puntaje para cada uno de los 20 ratones en este estudio EAE.

Cuadro 18a

Control agua	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16	Día 17	Día 18	Día 19	Día 20	Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25	Día 26	Día 27	Día 28
# animal																			
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	2	2.5	5	5	5	5	5	5
2	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.5	1.5	2.5	2.5	5	5	5	5	5	5	5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.5	1.5	0
4	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5
6	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.5	1.5	5	5	5	5	5	5	5	5
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	2	2.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1.5	2	2	2	2	2	1.5	1.5	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.5	3	3	3	3	3	3

GR-056	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16	Día 17	Día 18	Día 19	Día 20	Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25	Día 26	Día 27	Día 28
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.5	2.5	3	3	3	3
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	2	2.5	3	3	2.5	1.5	1.5	1.5	1.5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.5	2	5	5	5	5	5	5	5	5	5
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1.5	1.5	1.5	1.5	2.5	3	3	3	3	3

 = libre de enfermedad

Cuadro 18b

	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16	Día 17	Día 18	Día 19	Día 20	Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25	Día 26	Día 27	Día 28
<u>MEDIA</u>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.40	0.65	1.00	1.65	2.00	2.30	2.30	2.45	2.40	2.40	1.95
Control de agua GR-056	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.30	0.50	0.85	0.90	1.10	1.20	1.30	1.25	1.10

	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16	Día 17	Día 18	Día 19	Día 20	Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25	Día 26	Día 27	Día 28
<u>SEM</u>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.21	0.29	0.29	0.48	0.59	0.66	0.66	0.62	0.63	0.63	0.73
Control de agua GR-056	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.20	0.26	0.52	0.53	0.54	0.56	0.57	0.57	0.54

	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16	Día 17	Día 18	Día 19	Día 20	Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25	Día 26	Día 27	Día 28
<u>INCIDENCIA</u>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Control de agua GR-056	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16	Día 17	Día 18	Día 19	Día 20	Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25	Día 26	Día 27	Día 28
<u>INCIDEN. ACUM.</u>	0	0	0	0	0	0	0	20	30	40	60	70	70	70	80	80	80	80	90
Control de agua GR-056	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	30	30	30	30	40	40	40	40	40

	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16	Día 17	Día 18	Día 19	Día 20	Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25	Día 26	Día 27	Día 28
<u>LIBRE DE ENF. ACUM.</u>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Control de agua GR-056	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	70	60	40	30	30	20	20	20	10

La figura 98 muestra gráficamente el porcentaje de animales que desarrollan cualquier síntoma de la enfermedad en cada uno del grupo Control 1 y el grupo de tratamiento 2 de nanocristal de oro (es decir, GB-056). Grupo de control 1 mostró que 90% de los ratones desarrollaron por lo menos algunos de los síntomas, mientras que sólo el 40% de los ratones en el grupo 2 de tratamiento había desarrollado cierto nivel de síntomas.

La figura 99 muestra el promedio de puntaje EAE para cada grupo. De notar, la aparición de cualquier síntoma se retrasó por dos días en el grupo de tratamiento 2 de nanocristal de oro 2 y la puntuación general del grupo de tratamiento 2 fue significativamente inferior a los promedios reportados en el grupo control 1. Claramente la formulación de nanocristal de oro GB-056, que tiene una concentración de oro medida alrededor de 12 ppm, superaron significativamente el grupo control 1 en esta prueba EAE.

Como es típico de este modelo EAE, un animal del grupo de tratamiento 2 (es decir, animal 4) murió; mientras que 3 animales en el grupo control 1 mueren.

La patología más grave se produjo en el grupo control 1 y la menos severa en el grupo de tratamiento 2.

Un animal en el grupo de tratamiento 2 que murió (es decir, animal 4) causó al grupo a tener mayor puntuación. Claramente la suspensión de inventiva de nanocristal de oro GB-056 tuvo un efecto positivo significativo en esta prueba EAE. Sin desear ligarse por una teoría en particular o la explicación, los resultados de este ejemplo, en combinación con los resultados del modelo murina de CIA y el análisis de citoquina in vitro de MIF, sugieren fuertemente que MIF y/o vías de señalización MIF son favorablemente influenciadas por las composiciones nanocristalinas de oro inventivas de la presente invención.

Ejemplo 27

Exposición a largo plazo de suspensión nanocristalina de oro GD-013 en ratones

El propósito de este ejemplo era observar si los efectos negativos de toxicología se produjeron en ratones cuando los ratones bebieron, ad libitum, suspensión nanocristalina de oro GD-013 como su única fuente de líquido durante un período prolongado de tiempo.

Un total de 25 ratones hembra se utilizan en este ejemplo, cinco (5) en el grupo de control; y diez (10) en cada uno de los dos grupos de tratamiento. El grupo de control recibió agua embotellada regular en sus botellas para beber. Los dos grupos de tratamiento recibieron dos concentraciones diferentes de GD-013 como su único líquido para beber. Un primer grupo de tratamiento recibió una suspensión de cristal GD-013 50% (con el otro 50% de agua purificada de RO/DI) mientras el segundo grupo de tratamiento recibe suspensión de cristal 100% GD-013. Todos los grupos se les permitió beber como mucho o poco, según se desee; alimento fue proporcionado ad libitum también. El peso de cada animal y la cantidad promedio de líquido consumido se registro semanalmente. En la semana 23 del estudio, 6 ratones fueron sacrificados (3 ratones de cada uno de los grupos de tratamiento de suspensión de cristal GD-013) para la necropsia y patología. Los ratones restantes continuaron consumiendo las suspensiones de dos tratamientos a través de 46 semanas.

Materiales y métodos:

En este tipo de estudio de exposición es aceptable el uso de solo un sexo, hembras, a los efectos de las pruebas de toxicidad. Datos de otros estudios han demostrado que generalmente no hay diferencia entre los sexos, pero cuando uno de los sexos reacciona más fuertemente es normalmente las hembras. Los machos sólo se utilizan cuando hay algún tipo de evidencia que indica que pueden tener una reacción más fuerte. Ya que, no hay tal información que indica que los machos se verían afectados de esta manera, se utilizaron sólo hembras. Las hembras utilizadas fueron adultos, nulíparas y no preñadas. La cepa Webster Suizo de ratones multiplicados por mezcla de razas fue utilizada en este ejemplo. Esta cepa fue escogida debido a su uso generalizado en propósitos generales e investigación de toxicología. También se sabe que no tiene ningún déficit genético perjudicial que potencialmente podría interferir con la recopilación de datos.

CUADRO 19: Información del estudio

Especies	Cepas	Grupo	Modo de administración	Dosis	Duración
Mus musculus	Webster Suizo	Control -5/F 50% GD-013-10/F 100% GD-013-10/F	Vía una botella de agua	Ad libitum	23 semanas y 46 semanas

Preparación de dosis

5 Todos los grupos de tratamiento involucrados en este estudio recibieron las suspensiones nanocristalinas referenciadas GD-013 en sus botellas de agua. Los ratones se les permiten beber libremente. El grupo de control recibió agua purificada y embotellada.

CUADRO 20: Información de tratamiento con GD-013

Grupo de tratamiento	Números de lote	Contenido de Au
Control	Agua embotellada	0.0 ppm Au
50% de GD-013 Au 50% RO H ₂ O	50/50 GD-013/RO H ₂ O	7.6 ppm Au
100% GD-013 Au	GD-013	15.2 ppm Au

Vivienda y alimentación

10 Todo el personal de estudio que entra en el área de estudio de ratón llevaba ropa de protección personal (es decir, guantes, mascarillas y cubiertas de zapato). Ratones fueron comprados de Harlan Laboratories. Tras la recepción de los ratones, los ratones recibieron identificación permanente en forma de un tatuaje de cola (Harvard Apparatus tattoo). Los ratones fueron luego aleatoriamente asignados y alojados por grupos de 5 ratones por jaula. Las jaulas fueron lo suficientemente grandes como para permitir suficiente espacio para 5 personas y no eran tan pequeñas como para obstaculizar las observaciones claras de cada animal. Los ratones fueron aclimatados al entorno de laboratorio durante un período de una semana. El área de alojamiento se mantuvo a una temperatura constante de 22°C (± 30°C), y la humedad relativa se mantuvo en 30%-50%. Iluminación artificial, de completo espectro fue utilizado (PureLite 60w, 120v bombillas). Temporizadores se utilizaron para lograr un ciclo de día de 12 horas y de oscuridad de 12 horas. Alimento fue proporcionado ad libitum (Purina Certified Rodent Diet 5002). Un lecho de mazorca de maíz estándar se provee en las jaulas. Los cambios de la jaula se llevaron a cabo una vez semanal. Cuando un animal se encontró muerto la jaula fue cambiada inmediatamente después de que el animal muerto fue eliminado.

Observación y procedimiento

Después del periodo de aclimatación, ambos grupos de tratamiento comenzaron a recibir las suspensiones nanocristalinas GD-013 señalada en sus botellas de agua. El grupo de control siguió recibiendo agua potable purificada. El primer día de tratamiento cada ratón fue pesado y se registraron sus pesos. Al comienzo de cada semana, todos los ratones fueron nuevamente pesados y grabaron sus pesos. Además, la cantidad aproximada de agua y suspensión de cristal GD-013 consumida, fue registrada cada semana. Durante el estudio los ratones se observaron anomalías o signos de sufrimiento.

Aumento de peso

35 Cuando comenzó el estudio, todos los ratones fueron aproximadamente del mismo peso. Cada semana, cada animal fue pesado y su peso fue grabado. El peso individual de cada animal en los grupos fue entonces promediado y trazado gráficamente en la figura 106 para mostrar la ganancia de peso promedio de todos los grupos en el transcurso del estudio. Una línea vertical en la semana 23 está presente en la figura 106 y denota el tiempo cuando se realiza la histopatología.

Consumo promedio diario

45 Cada semana la cantidad de: (1) agua, (2) 50% GD-013 y (3) 100% GD-013 que consume cada grupo fue medido. Una vez la cantidad de líquido, 50% de agua purificada, que se ha consumido durante la semana anterior se ha determinado, se hicieron cálculos para encontrar una ingesta diaria aproximada por animal en el transcurso de la semana. Los datos de consumo de líquidos durante 46 semanas se muestran en la figura 107.

Resultados/conclusiones:

50 Aumento de peso

55 Análisis estadístico de los pesos medios de los grupos se realizó para determinar si hay alguna diferencia en la ganancia de peso y/o pérdida de peso entre los grupos. Cada grupo de tratamiento se comparó con el grupo de control; y los dos grupos de tratamiento también fueron comparados entre sí. En general hay una pérdida de peso estadísticamente significativa entre el grupo de tratamiento 100% GD-013 y el grupo control ($P < 0.05$). No hay ninguna ganancia/pérdida de peso estadísticamente significativa entre los dos grupos de tratamiento o entre el grupo de tratamiento 50% GD-013 y el grupo de control.

60

Consumo semanal promedio

Todos los tres grupos consumen lo que se consideran cantidades normales de líquido diario, de modo que una deshidratación no era un problema. Nuevamente, análisis estadísticos de los valores de consumo de cada grupo se realizó para determinar si hay una diferencia significativa en el consumo. Ambos grupos de tratamiento fueron comparados con el grupo de control y ambos grupos de tratamiento fueron comparados entre sí. El grupo de control consume significativamente menos que ambos grupos de tratamiento ($P < 0.05$). No hay ninguna diferencia estadística entre la cantidad consumida por los grupos de tratamiento ($P > 0.05$). No hay diferencias observables en salud, comportamiento o problemas relacionados con la deshidratación.

Mortalidad

Hay dos muertes registradas en el estudio, uno de cada grupo de tratamiento. La primera muerte ocurrió en el grupo GD-013 50% en la semana 20. La segunda muerte ocurrió en la semana 22 en el grupo GD-013 100%. El ratón del grupo de tratamiento GD-013 50% siempre fue mucho menor que el resto y nunca gana peso; se desconoce la causa de esto. El otro ratón no demostró ningún indicador de peligro o mala salud. Ninguna patología era posible para estos dos ratones.

Patología

Se presentaron tres ratones de cada grupo de tratamiento de patología en la semana 23. Para evaluación histopatológica se presentaron los siguientes órganos: corazón, timo, pulmón, hígado, riñón, bazo, estómago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon, vejiga urinaria, ovario, músculos estriados, pelo piel, médula ósea (fémur/tibia), hipófisis y cerebro. Los hallazgos de patología llegaron a la conclusión de que a pesar de las anomalías que se observaron, todos fueron considerados hallazgos incidentales que se asociaron con variación normal entre personas y desgaste y uso normal. Ninguno de los hallazgos en el informe de patología indica algún grado de toxicidad para los órganos objetivo. El patólogo fue completamente ciego a cual tratamiento recibieron los ratones en el estudio, ni el patólogo tenía ningún conocimiento de tratamiento en los ratones de control a fin de eliminar posibles desviaciones en los hallazgos de patología.

Se examinaron a groso modo todos los tejidos que se hace referencia más arriba y sólo el bazo y el hígado se encontraron con mínimas a leves variaciones de color. Los hallazgos histopatológicos solo específicos se informan en el cuadro 21. Los números "2-3", "2-5" y "4-7" en la fila de GD-013 50% se refieren a tres diferentes ratones, a los que se dirigen los "Comentarios". Asimismo, los "comentarios" de histopatología sobre el bazo se dirigen a tres ratones, "3-3," "5-9" y "5-10"; mientras que los "comentarios" sobre el hígado se aplican sólo a un ratón (es decir, "5-10"). Todos los exámenes a groso modo son consistentes con la congestión de eutanasia y/o almacenamiento de grasa y se consideran que están dentro de los límites normales. No se observaron lesiones graves.

Cuadro 21 Hallazgos de patología

Grupo	Hallazgos histopatológicos	Comentarios
50% GD-013	Bazo: hematopoyesis, extramedularmente, multifocal, pulpa roja mínima (2-3, 2-5, 4-7)	EMH: normalmente observado en grados mínimos a moderados, se considera un hallazgo común, incidental no indicativo de cambio o infección tóxica
100% GD-013	Bazo: hematopoyesis, extramedularmente, multifocal, pulpa roja, mínima a moderada (3-3, 5-9, 5-10) Hígado: microgranuloma, focal, mínimo, hepatocitos (5-10)	EMH: normalmente observado en grados mínimos a moderados, se considera un hallazgo común, incidental no indicativo de cambio o infección tóxica Hígado: condición considerada ser de bacterial que muestra desde el sistema portal hepático; no indicativo de infección o cambio tóxico

Ejemplo 28

Estudio de toxicidad aguda de absorción y distribución de 35 días

El propósito de este estudio de 35 días es determinar la absorción y la distribución y la toxicidad aguda (si existe) de dos suspensiones de cristal (GB-134 y GB-151) y compara los resultados para un producto Mesogold comercialmente disponible. Trece ratones participaron en este estudio. Se determinaron las concentraciones de oro en la orina y las heces, así como en ciertos órganos vitales y la sangre de los animales de prueba. Además, una selección de los órganos de algunos individuos fueron examinados de forma histológica para determinar si hay alguna anomalías. Además, todos los ratones fueron autorizados a beber hasta el punto que ellos eran sacrificados para este estudio. Este procedimiento se sigue para asegurar, por ejemplo, que se pueden determinar las exactas concentraciones de oro en la sangre.

Materiales y métodos:

Cuadro 22 Información del estudio

Especie	Cepa	Grupo	Modo de administración	Dosis	Duración
Mus musculus	Webster Suizo	Mesogold-3/F GB-134-10/F GB-151-10/F	Elección libre	Mesogold, GB-134, GB-151	35 días

5

Preparación de dosis

10 Todos los grupos de tratamiento en este estudio recibieron sus soluciones en sus botellas de agua. Los ratones se les permiten beber a libre elección. Cada grupo recibió: Mesogold (1), (2) GB-134 o (3) GB-151 (todas las cuales no fueron diluidos) en sus botellas de bebida.

Cuadro 23 Información de tratamiento de solución de Au

Grupo de tratamiento	Números de lote	Contenido de Au
Mesogold	Mesogold	19.8 ppm Au
GB-134	GB-134	8.9 ppm Au
GB-151	GB-151	8.3 ppm Au

Observación y procedimiento

15 Después de que los animales recibieron sus respectivos tratamientos para un día, se iniciaron colecciones de jaula metabólica de heces y orina. Un total de nueve animales por semana fueron alojados en las jaulas metabólicas y se recogen sus heces y orina. Mientras que en las jaulas metabólicas los ratones en cuestión siguieron recibiendo en sus botellas de agua el líquido que se había asignado a beber. La cantidad de líquido consumido durante el período de 24 horas también fue medida y registrada. Las muestras de orina y heces, a continuación, se reunieron y analizaron para concentración de Au. El volumen de orina excretado y el peso de las heces recolectadas también se midieron y registraron.

25 Al final del estudio, todos los 13 animales fueron enviados a los laboratorios Taconic (Rockville, MD) para la realización de un informe de necropsia y patología a groso modo o para tener órganos y muestras de sangre recogidas y devolución para mayor análisis (discutida más adelante en este documento). Se realizaron evaluaciones microscópicas en los tejidos siguientes: corazón, pulmón, hígado, bazo, riñones, cerebro, estómago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon. Además, cierto corazón, pulmón (izquierda y derecha), hígado, bazo, riñones (izquierdo y derecho) y cerebro fueron recogidos y devueltos en un frasco de vidrio vacío, estéril para más análisis de concentración.

30

Procedimiento para la digestión de heces y muestras de orina

35 Se desarrollaron métodos específicos para determinar la cantidad de oro en las heces y la orina. Copas de muestra PTFE y bombas de digestión de microondas fueron ordenadas de Fisher Scientific y obtenidas Parr Instrument Company (www.parrinst.com). Copa de muestra de 23 ml PTFE (Fisher Cat No. 0102322A) y bomba de digestión de microondas Parr 4781 (Fisher Cat No. 0473155) fueron utilizados para la digestión.

40 El microondas utilizado fue una Panasonic 1300 Watt. No. de modelo NN-SN667W, No. de serie 6B78090247.

Orina

45 1.5 gramos de orina se pesan en una copa de muestra PTFE. Cuando la orina supera esa masa, se prepara otra digestión. Cuando la masa de muestra de orina muestra está por debajo de 1.5 gramos la cantidad adecuada de agua D.I. se agrega para llevar a la masa hasta aproximadamente 1.5 gramos. 0.24 ml de 50% v/v HNO₃ se añade a la copa de muestra, seguido de 0.48 ml de 36% v/v HCl. La copa de muestra fue sellada y colocada dentro de una bomba de microondas. La bomba de microondas fue sellada y colocada en el centro de microondas. La muestra fue irradiada hasta que el tornillo indicador de teflón se eleva hasta 1 mm desde la parte superior de la bomba. El tiempo que la bomba se lleva en el microondas oscila entre 30 a 60 segundos dependiendo de la muestra de orina. La bomba de digestión microondas fue removida del microondas y enfriada durante 20-30 minutos, hasta que el tornillo indicador de teflón se redujo a su posición original. La copa de muestra fue retirada de la bomba de digestión de microondas, y la muestra líquida fue transferida a un frasco para pruebas.

50

Heces (1 muestra de pella):

55

Una pella fecal individual se pesa en una copa de muestra de PTFE. 5 ml de agua D.I. se añade a la copa de muestra. 0.8 ml de 50% v/v HNO₃ se añade a la copa de muestra, seguido de 1.6 ml de 36% v/v HCl. La copa de muestra fue sellada y colocada dentro de una bomba de microondas. La bomba de microondas fue sellada y colocada en el centro de las microondas. La muestra fue irradiada hasta que el tornillo indicador de teflón se eleve hasta 1 mm desde la parte superior de la bomba. El tiempo que la bomba se lleva en el microondas oscila entre 20 a 30 segundos dependiendo de la masa de la muestra de 1 pella fecal. La bomba de digestión de microondas fue removida del microondas y enfriada durante 20-30 minutos, hasta que el tornillo indicador de teflón se redujo a su posición original. La copa de muestra fue retirada de la bomba de digestión de microondas, y la muestra líquida fue transferida a un frasco para pruebas.

Muestra a granel de heces

Aproximadamente 0.300 gramos de heces se pesaron en una copa de muestra PTFE. 5 ml de agua D.I. se añadieron a la copa de muestra. 0.8 ml de 50% v/v HNO₃ se añade a la copa de muestra, seguido de 1.6 ml de 36% v/v HCl. La copa de muestra fue sellada y colocada dentro de una bomba de microondas. La bomba de microondas fue sellada y colocada en el centro de las microondas. La muestra fue irradiada hasta que el tornillo indicador de teflón se eleve hasta 1 mm desde la parte superior de la bomba. El tiempo que la bomba se lleva en el microondas oscila entre 20 a 40 segundos dependiendo de la masa de la muestra a granel de heces. La bomba de digestión de microondas fue removida del microondas y enfriada durante 20-30 minutos, hasta que el tornillo indicador de teflón se redujo a su posición original. La copa de muestra fue retirada de la bomba de digestión de microondas, y la muestra líquida fue transferida a un frasco para pruebas. Muestras a granel de heces pueden requerir varias digestiones para digerir todas las heces presentes en la muestra original.

Nota: Si la muestra no parece ser digerida completamente (es decir, sólidos aún presentes/decoloración en las paredes laterales de la copa de muestra de PTFE) se realizó una segunda digestión. Esto requiere una segunda adición de volúmenes de agua D.I., 50% v/v HNO₃ y 36% v/v HCl especificado para la muestra correspondiente. (Véase antes procedimientos para volúmenes correctos). La muestra fue entonces nuevamente colocada en microondas, y se les permitió enfriar durante 20-30 minutos antes de transferir a un frasco de muestra para pruebas.

*D.I. agua = agua desionizada.

*PTFE = politetrafluoroetileno

Uno digerido, todas las muestras fueron analizadas usando las técnicas de espectroscopia de absorción atómica descritas anteriormente en este documento.

Los hallazgos de patología para el estudio de 35 días se muestran en el cuadro 24. Todos los tejidos fueron examinados a groso modo y sólo el bazo y el hígado se encontraron con mínimas a leves variaciones de color. Todos los exámenes a groso modo son consistentes con la congestión de eutanasia y/o almacenamiento de grasa y se consideran dentro de los límites normales. No se observaron lesiones graves. Los comentarios fueron dirigidos a ratones específicos y se indican en el cuadro 24. La designación "M-3" se refiere a un ratón en el grupo Mesogold; mientras que "GB-134-7" se refiere a un ratón en el grupo "GB-134"; y "G151-9" se refiere a un ratón en el grupo "GB-151".

Cuadro 24

Grupo	Hallazgos histopatológicos	Comentarios
Mesogold	Bazo: hematopoyesis, extramedularmente, multifocal, pulpa roja mínima a moderada (M-3) Hígado: microgranuloma, focal, mínima, hepatocitos (M-3)	EMH: normalmente observado en grados mínimos a moderados, se considera un hallazgo común, incidental no indicativo de cambio o infección tóxica Hígado: condición considerada ser de bacterial que muestra desde el sistema portal hepático; no indicativo de infección o cambio tóxico
GD-134	Bazo: hematopoyesis, extramedularmente, multifocal, pulpa roja mínima (GB-134-7, GB-134-8) Hígado: microgranuloma, focal, mínima, hepatocitos (GB-134-8)	EMH: normalmente observado en grados mínimos a moderados, se considera un hallazgo común, incidental no indicativo de cambio o infección tóxica Hígado: condición considerada ser de bacterial que muestra desde el sistema portal hepático; no indicativo de infección o cambio tóxico
Gb-151	Bazo: hematopoyesis, extramedularmente, multifocal, pulpa roja mínima (GB-151-9, GB-151-10) Hígado: microgranuloma, focal, mínima, hepatocitos (GB-134-8)	EMH: normalmente observado en grados mínimos a moderados, se considera un hallazgo común, incidental no indicativo de cambio o infección tóxica

La figura 108 muestra que no hay ninguna diferencia significativa en la ganancia de peso encontrada entre cualquiera de los grupos (todos $P > 0.05$)

5 Figura 109 muestra que no hay diferencia significativa en el consumo de fluidos entre cualquiera de los grupos (todos $P > 0.05$)

10 La figura 110 muestra que hay una diferencia significativa en la cantidad de Au encontrada en las heces entre el grupo MesoGold y los grupos GB-134 y GB-151 ($P < 0.01$). No hay una diferencia significativa entre los grupos GB-134 y GB-151 ($P > 0.05$). El cuadro 25 muestra los resultados reales de registro.

Cuadro 25 - Cantidad promedio semanal de Au se encontrado en las heces

Semana	Grupos de tratamiento		
	Meso (ppm)	GB-134 (ppm)	GB-151 (ppm)
0	1.7286	0.5343	0.6871
1	58.8611	24.3989	24.8668
2	59.0330	19.1658	27.4792
3	91.3662	15.9090	19.6045
4	86.5076	18.4982	18.1742
5	65.3942	20.3575	24.9802

15 La figura 111 muestra que no hay diferencia significativa en la cantidad promedio de oro encontrado en la orina entre cualquiera de los grupos (todos $P > 0.05$)

Cuadro 26 - Cantidad promedio semanal de Au se encontrado en la orina

Semana	Grupos de tratamiento		
	Meso (ppm)	GB-134 (ppm)	GB-151 (ppm)
0	0.0090	0.0240	0.0330
1	0.1318	0.0821	0.0263
2	0.1004	0.3453	0.0727
3	0.4471	0.1518	0.1264
4	0.1457	0.0920	0.0360
5	0.1953	0.0261	0.0380

Procedimiento para las mediciones de análisis por activación de neutrones de muestras de tejido y sangre

20 Algunas muestras de corazón, hígado, bazo, riñones, cerebro y sangre fueron analizadas para contenido de oro. Específicamente, se utilizó el análisis de activación de neutrones. Análisis de activación de neutrones instrumental (NAA) es especialmente potente en su sensibilidad y su capacidad para determinar con precisión muchos elementos en una sola muestra. NAA no requiere tratamientos químicos ni especial preparación química de muestras, reduciendo así las posibilidades de pérdidas, contaminación y cualquier disolución de muestra de tejido incompleta, por ejemplo.

25 El método NAA implica un peso de la muestra de tejido en frascos de polietileno. Un material inerte se agrega a cada vial para evitar pérdidas por evaporación. Cada frasco se identifica con un código de barras y un monitor de flujo de neutrones pegado a la base de cada frasco. Estos frascos se apilan en paquetes de un pie largo para irradiación con neutrones de un reactor nuclear. Los paquetes contienen muestras duplicadas seleccionadas al azar y estándares de oro (o concentraciones conocidas de oro) se insertan en las posiciones aleatorias en los paquetes.

30 Todos los paquetes son tratados de una manera similar. Los paquetes se envían para la exposición a un flujo de neutrones en un reactor nuclear. Específicamente, los paquetes se insertan en el núcleo de un reactor nuclear durante unos 45 minutos. Los paquetes se rotan durante la irradiación para que no haya ninguna variación de flujo horizontal. (La variación de flujo vertical es monitoreada con los monitores de flujo individual). Esta irradiación provoca que cualquier oro presente en la muestra sea radiactivo y que el oro a continuación, comience a emitir radiación en forma de rayos gamma penetrantes cuyas energías (o longitudes de onda) son características de oro (por ejemplo, Au 198, ke 411.8 V).

35 Después de un período de descomposición de seis días, las muestras irradiadas se cargan en un sistema de conteo. Concretamente, cada muestra irradiada y parcialmente descompuesta se coloca junto a un espectrómetro de rayos gamma con un detector de germanio coaxial de alta resolución. Rayos gamma irradian continuamente de cada muestra (siempre que esté presente el oro) y la interacción de los rayos gamma irradiados con el detector lleva a pulsos de voltaje discretos proporcionales en altura a las energías de rayos gamma incidente. Un analizador multicanal especialmente desarrollado ordena los pulsos de voltaje del detector de acuerdo a su tamaño y digitalmente construye un espectro de energías de rayos gamma frente a intensidades. El tiempo de conteo es alrededor de 45 minutos por muestra. Comparando las posiciones de pico espectral y áreas con los estándares de la genoteca, oro se identifica cualitativa y cuantitativamente. Los resultados del análisis se especifican más adelante.

50

5 Junto con el cuadro 27 a continuación, la figura 112 muestra un gráfico de barras, por tipo de órgano de ratón y el coloide que fue consumido oralmente por los ratones identificados. Los números al final de cada identificación de coloide se refieren a un ratón específico. Específicamente, se examinaron los órganos de dos ratones, GB-151-4 y GB-151-5. GB-151-4 significa que el ratón # 4 consume GB-151. Se analizaron también órganos de otro ratón, GB-134-3 (es decir, ratón # 3 que consume suspensión GB-134). Órganos de otro ratón, ratón #2, (Meso-2) consumen un oro coloidal comercialmente disponible. Mientras que el tamaño de la muestra era relativamente pequeño, las diferencias son evidentes.

10 Oro no fue detectado en dos muestras de cerebro, GB-151-6 y GB-134-3, con el límite de detección de 0.35 ppb y 0.25 ppb, respectivamente. No se analizaron muestras de sangre GB-151-5 y GB-134-3 debido a la insuficiente cantidad disponible para el análisis.

Cuadro 27. Concentración de oro en diferentes muestras de tejido diferentes y sangre medida por NAA

ID de muestra	Masa de muestra, g	% en peso de oro, ppb
GB-151-4, -5 corazón*	0.356	0.89±0.187
GB-151-5, Hígado	1.536	1.76±0.107
GB-151-4, -5 bazo*	0.213	1.74±0.244
GB-151-4, -5, -5 riñón*	0.661	2.54±0.170
GB-151-4, -5 cerebro*	0.889	0.73±0.102
GB-151-6 corazón	0.129	0.94±0.329
GB-151-6 hígado	0.899	2.34±0.140
GB-151-6 bazo	0.093	4.00±0.480
GB-151-6 sangre	0.386	1.06±0.212
GB-151-6 R&L riñón	0.476	2.16±0.203
GB-151-6 cerebro	0.432	<0.35
GB-134-3 corazón	0.158	1.10±0.275
GB-134-3 hígado	0.523	0.91±0.146
GB-134-3 bazo	0.118	1.14±0.342
GB-134-3 R&L riñón	0.406	1.59±0.191
GB-134-3 cerebro	0.455	<0.25
Meso-2 corazón	0.145	1.67±0.301
Meso-2 hígado	0.935	6.67±0.254
Meso-2 bazo	0.080	3.01±0.572
Meso-2 R&L riñón	0.415	7.63±0.351
Meso-2 cerebro	0.400	0.74±0.148
Meso-2 sangre	0.268	2.05±0.287
*los órganos de dos ratones se combinaron para hacer una muestra		

REIVINDICACIONES

1. Una composición de suspensión farmacéuticamente aceptable que comprende:

- 5 a.) agua;
b.) un potenciador de procesamiento; y
c.) nanocristales de oro suspendidos en dicha agua formando una suspensión, en la que dichos nanocristales de oro:

10 i.) tienen superficies que:

- (1) están sustancialmente libres de impurezas orgánicas u otras o películas; o
(2) no tienen constituyentes químicos adheridos o unidos a las mismas que forman una capa, superficie o película que cubre al menos el 50% del cristal, y preferiblemente al menos el 25% del cristal;

- 15 ii.) tienen un tamaño de partícula modal inferior a 100 nm;
iii.) están presentes en dicha suspensión a una concentración de 2-200 ppm; y
iv.) contienen al menos un plano cristalino de índice bajo que se extiende espacialmente que se selecciona del grupo que consiste en {111}, {110} y {100} y sus equivalentes; y

20 en la que dicha suspensión tiene un pH de entre 4,0 y 9,5 y un potencial zeta de al menos -20 mV.

2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha suspensión tiene un pH de entre 5,0 y 9,5.

25 3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que dicha suspensión tiene un potencial zeta de al menos -40 mV.

30 4. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dichos nanocristales tienen un tamaño de partícula modal inferior a 50 nm.

5. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el potenciador de procesamiento comprende bicarbonato de sodio.

35 6. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dichos nanocristales tienen formas, comprendiendo dichas formas bipirámides pentagonales y tetraedros en un intervalo del 15 al 50 %.

7. Una composición tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en el tratamiento de un paciente con una afección que responde a terapia con oro.

40 8. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la afección se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, osteoartritis, lupus eritematoso sistémico, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple, psoriasis, eczema, uveítis, diabetes mellitus, glomerulonefritis, enfermedad vascular aterosclerótica e infarto, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, VIH, VHB, VHC, tuberculosis, malaria, lombrices y cáncer(es).

45 9. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la afección es artritis o esclerosis múltiple.

50 10. Una composición tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para administración oral.

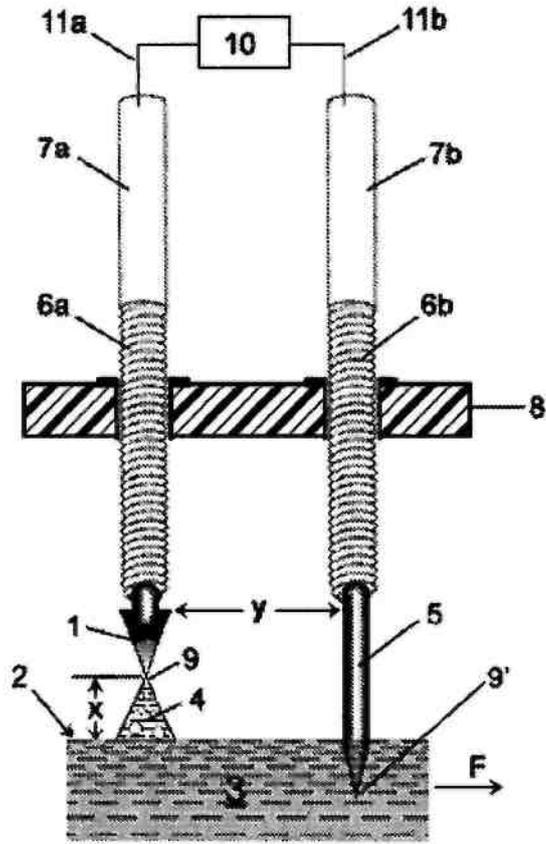


FIG. 1A

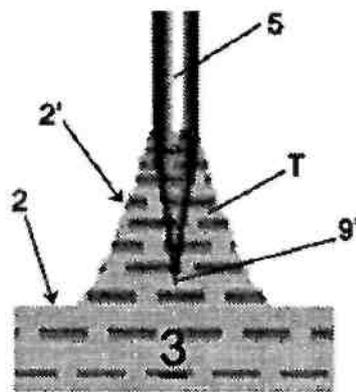


FIG. 1B

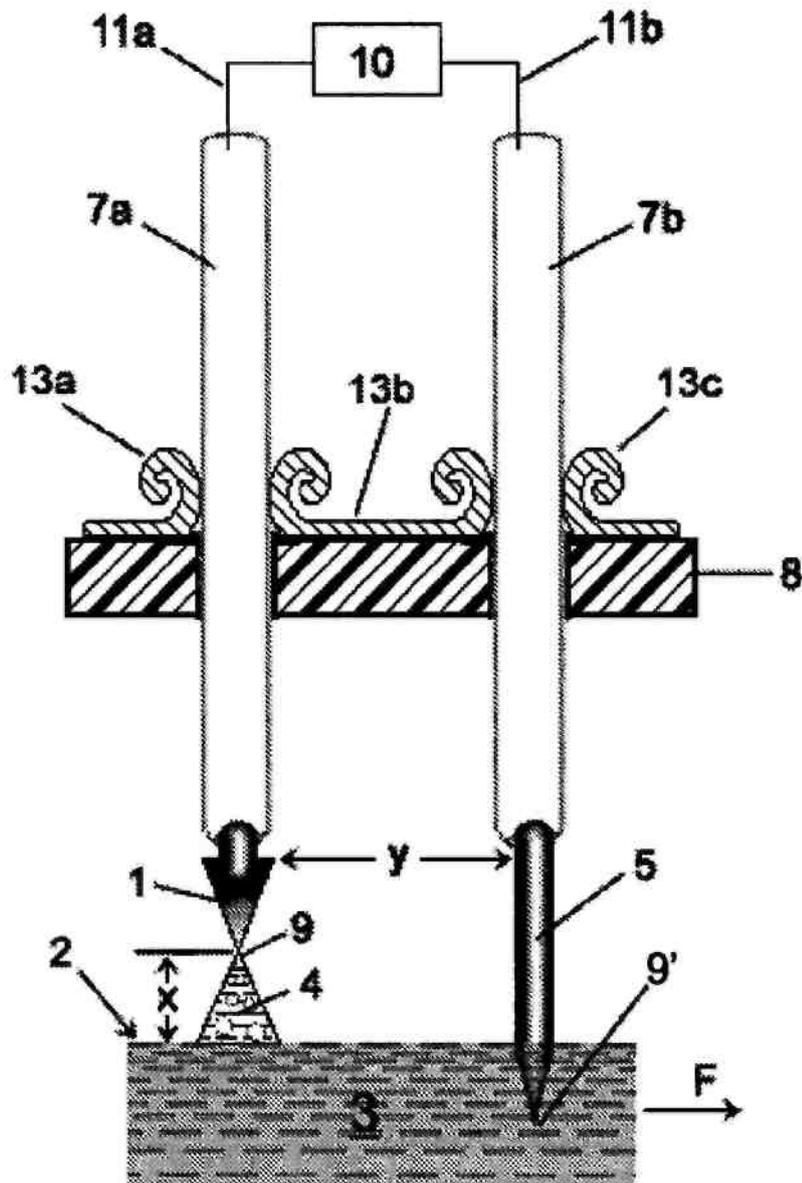


FIG. 1C

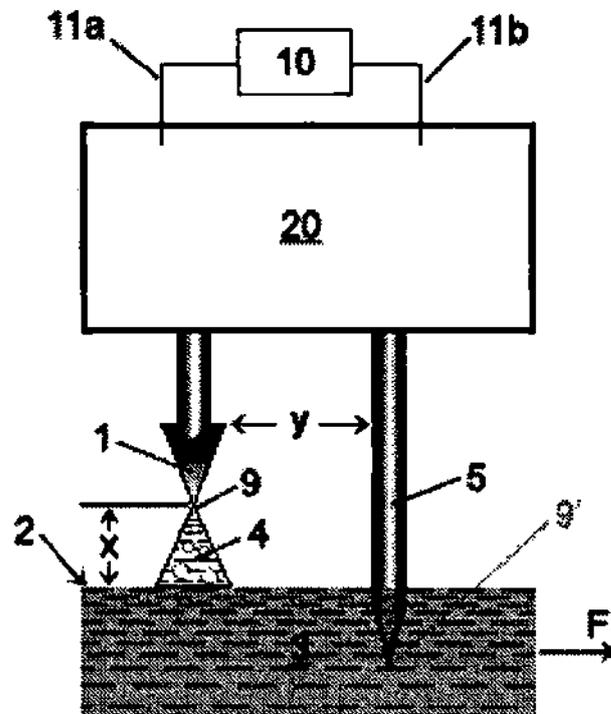


FIG. 2A

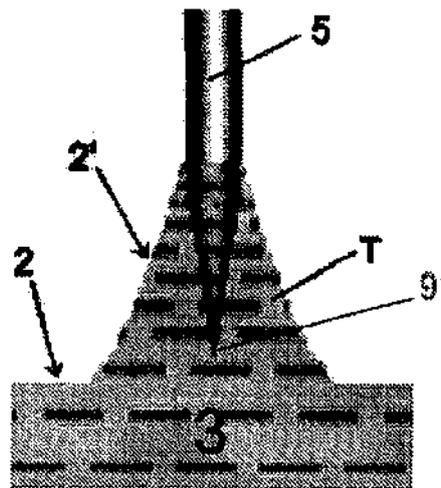


FIG. 2B

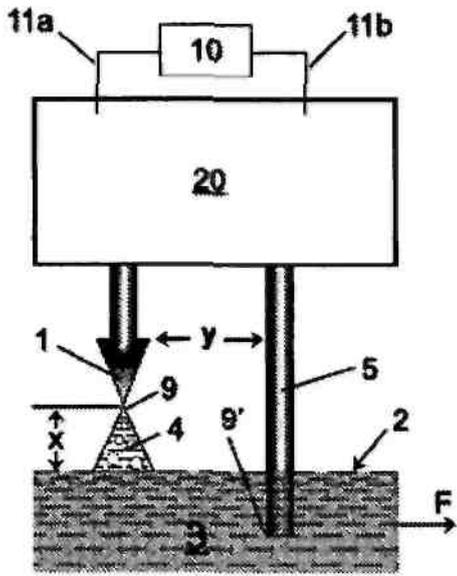


FIG. 3A

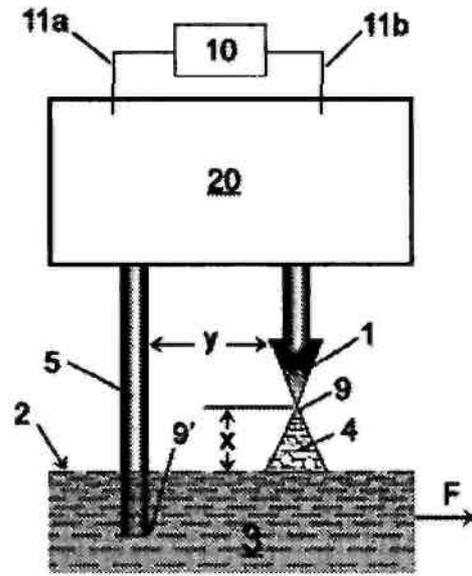


FIG. 3B

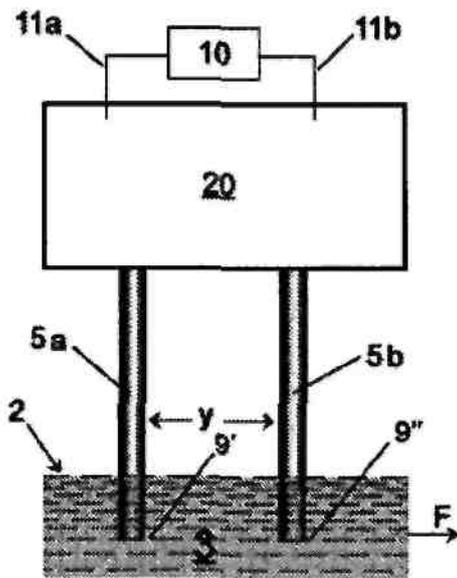


FIG. 3C

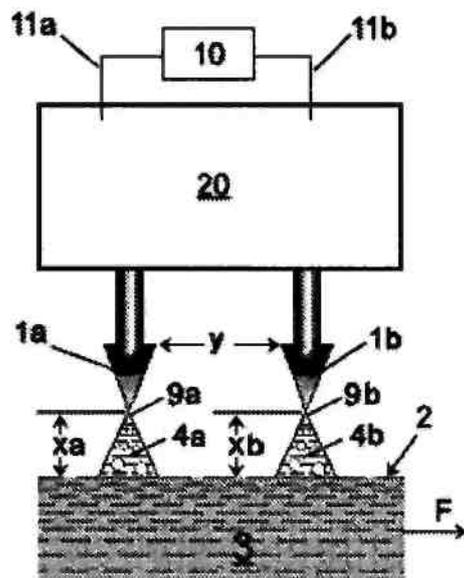


FIG. 3D

FIG. 4A

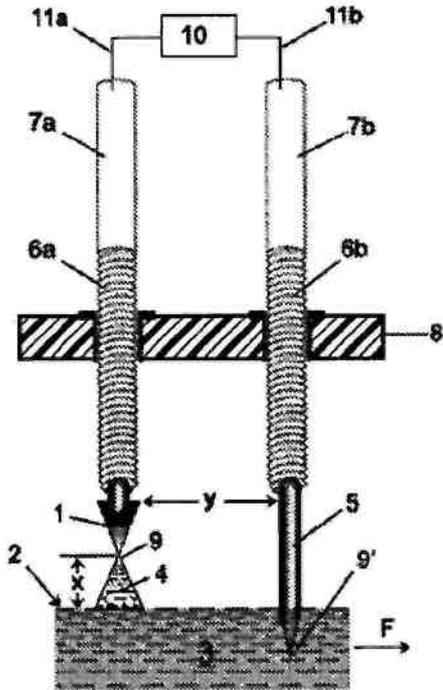


FIG. 4B

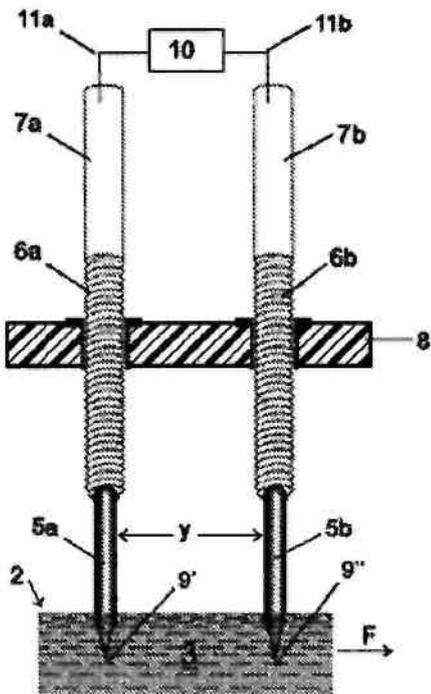
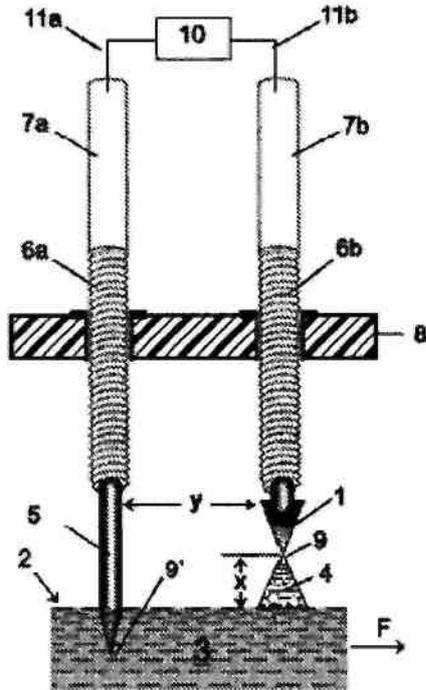


FIG. 4C

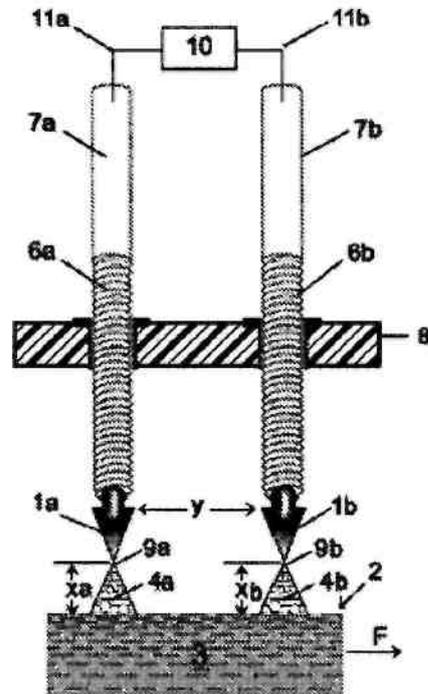
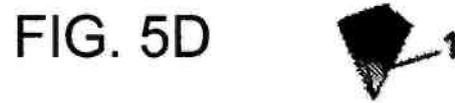


FIG. 4D



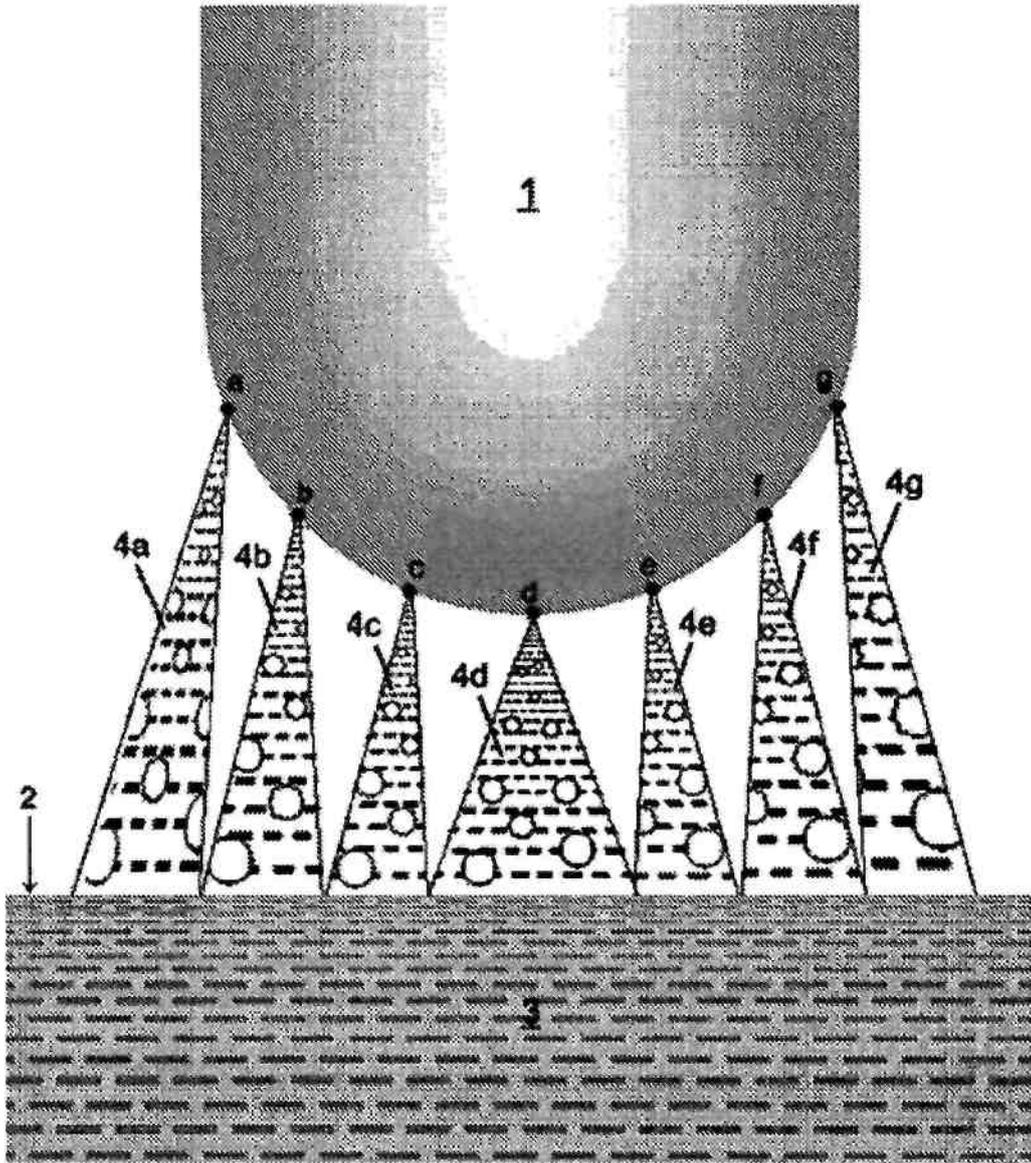


FIG. 6

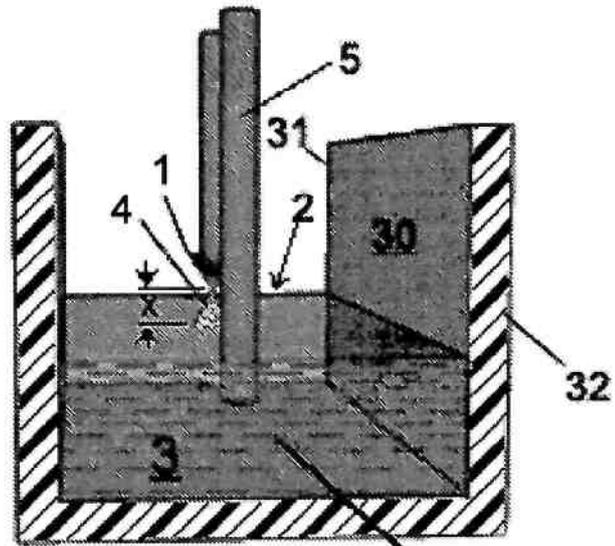


FIG. 7A

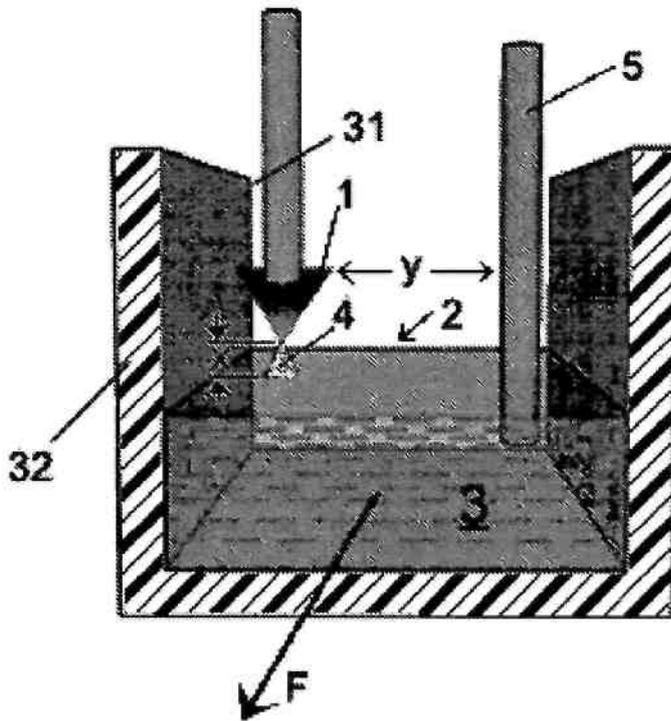


FIG. 7B

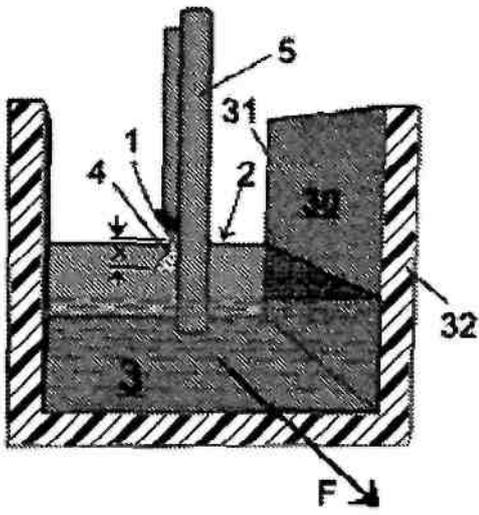


FIG. 8A

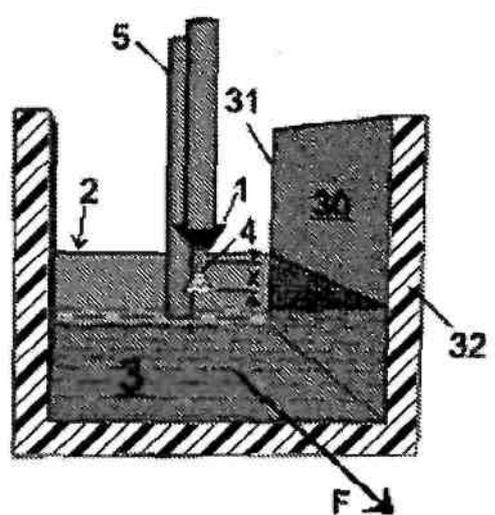


FIG. 8B

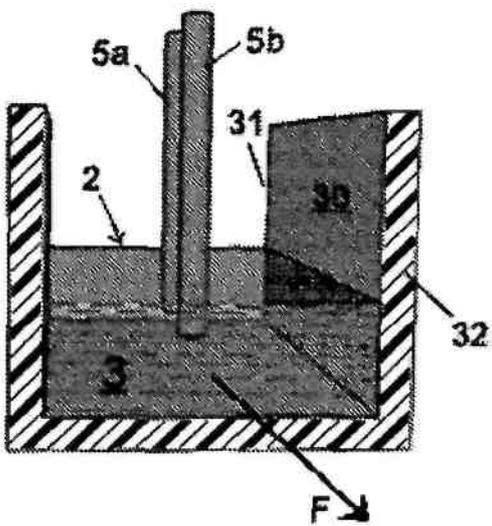


FIG. 8C

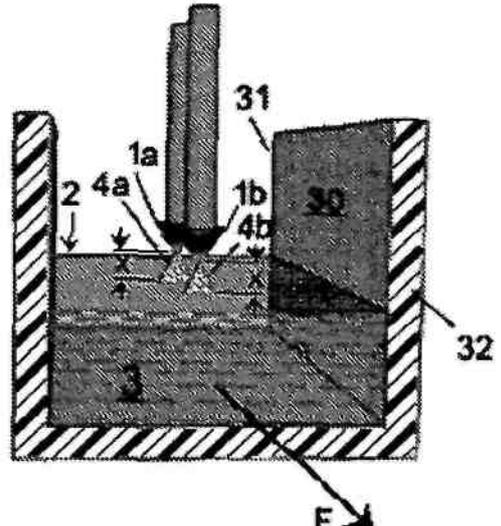


FIG. 8D

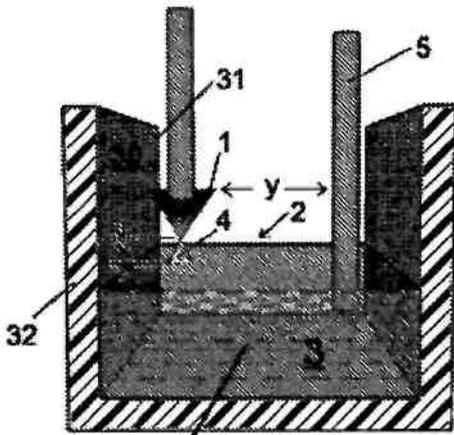


FIG. 9A

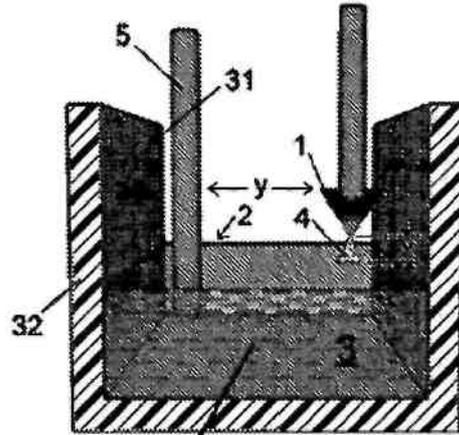


FIG. 9B

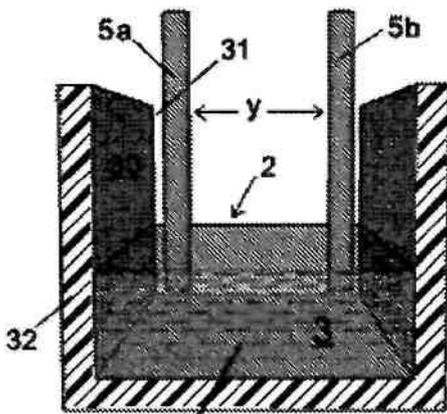


FIG. 9C

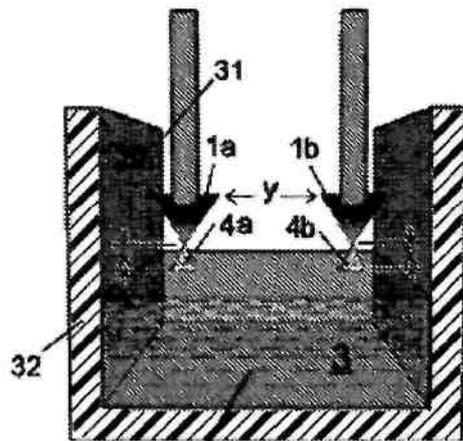


FIG. 9D

FIG. 10A

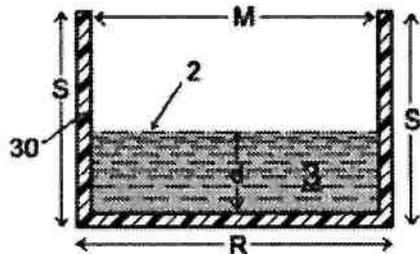


FIG. 10B

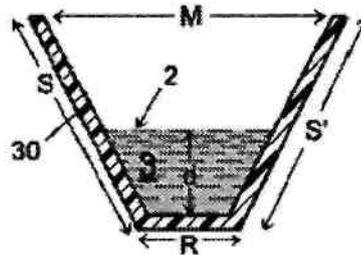


FIG. 10C

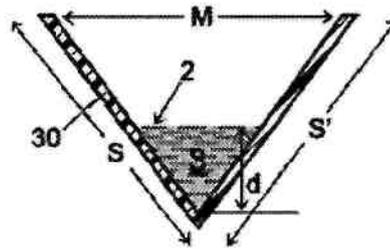


FIG. 10D

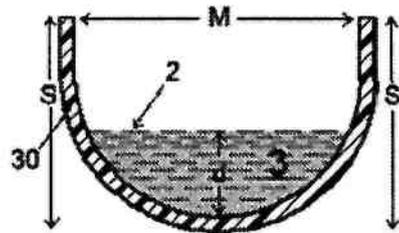
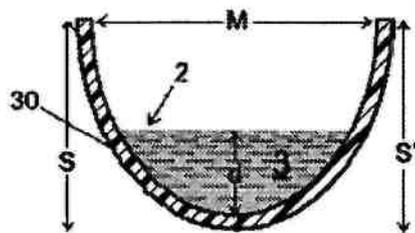


FIG. 10E



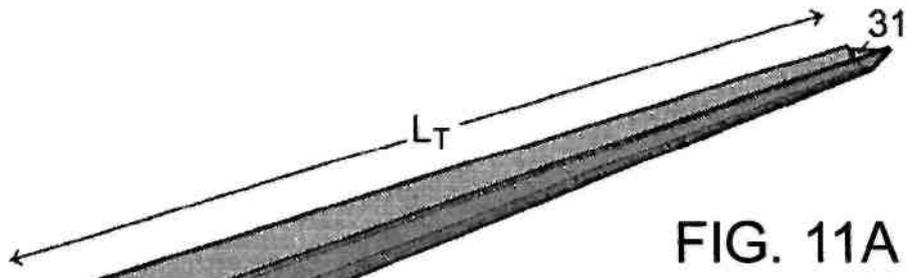


FIG. 11A

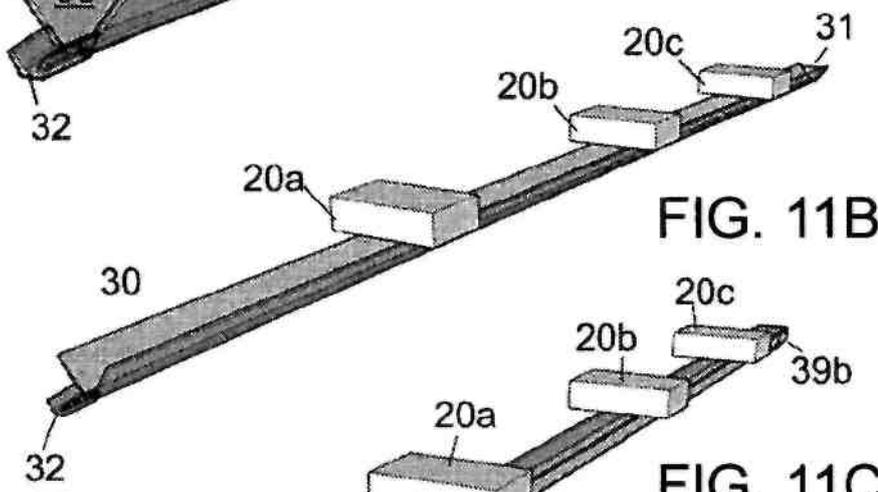


FIG. 11B

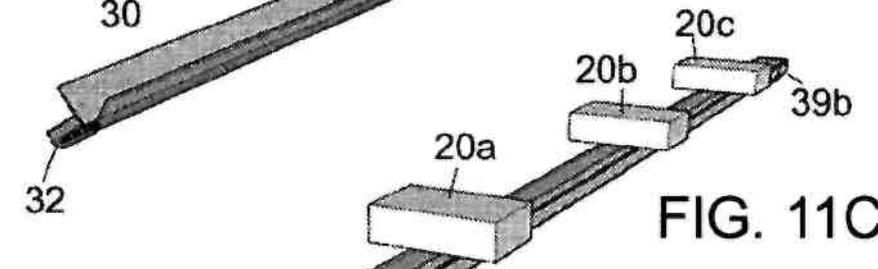


FIG. 11C

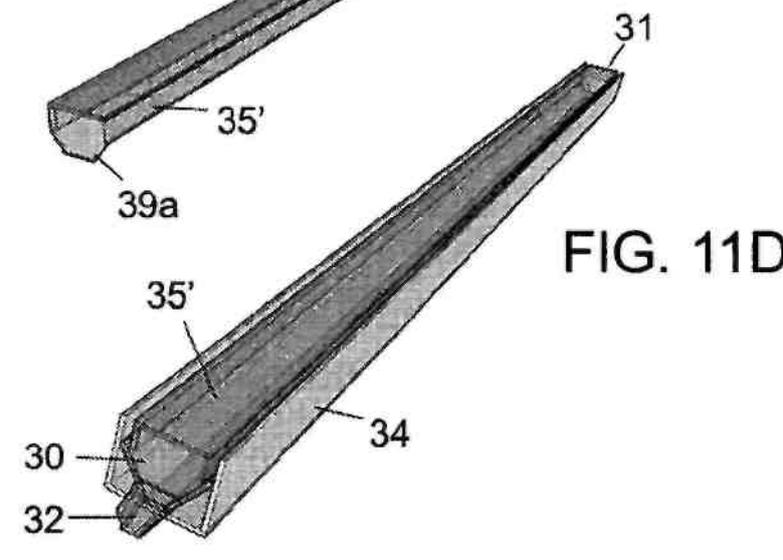


FIG. 11D

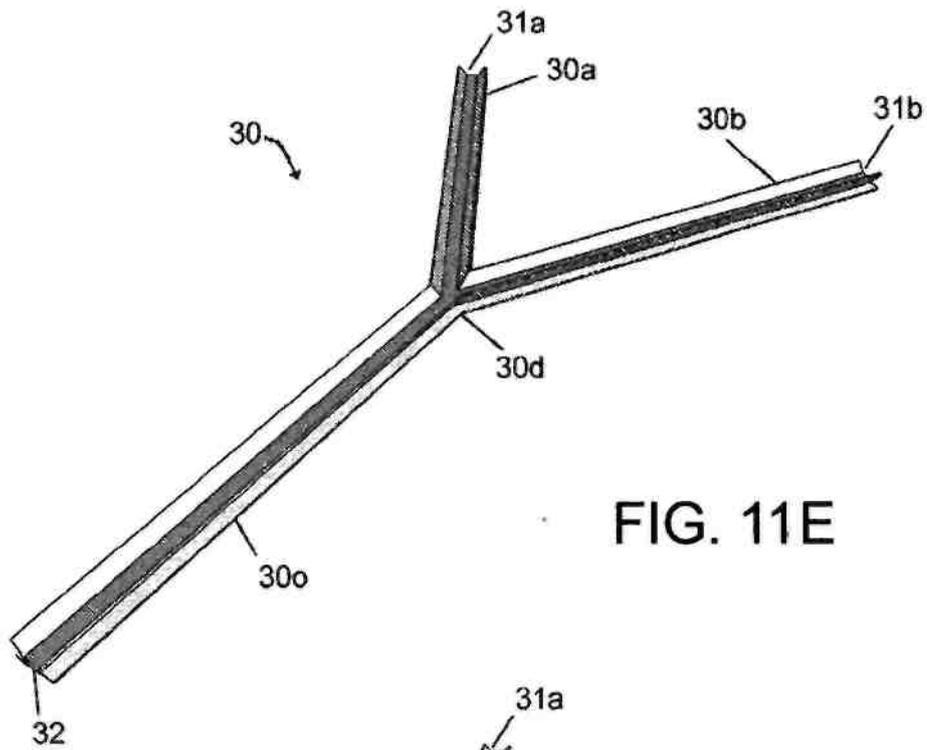


FIG. 11E

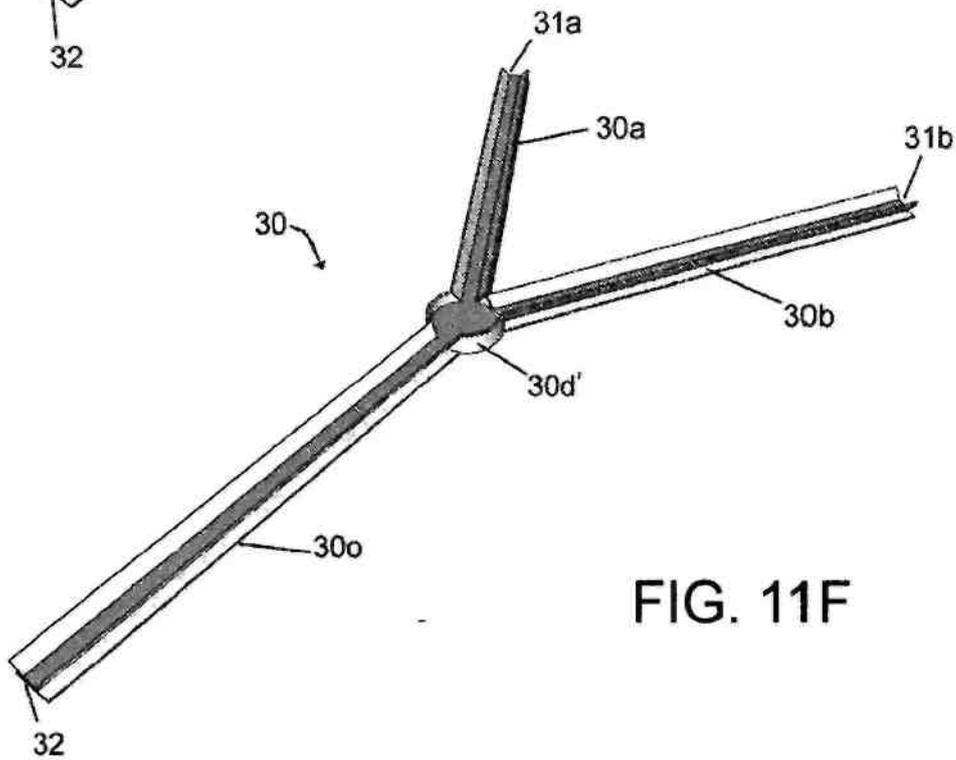


FIG. 11F

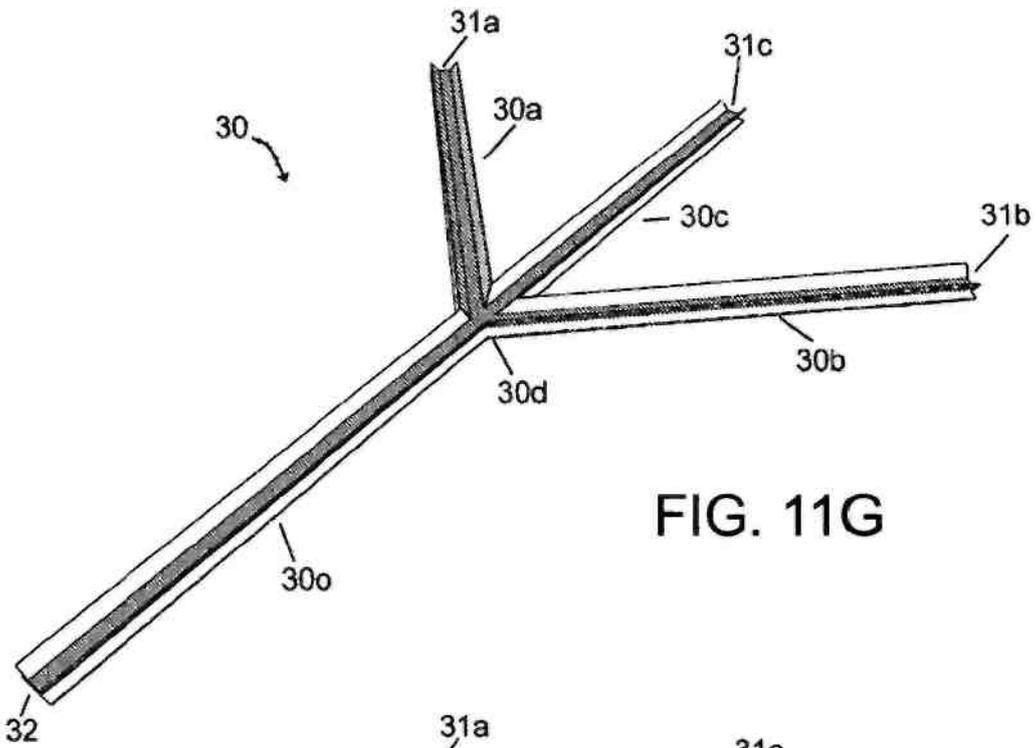


FIG. 11G

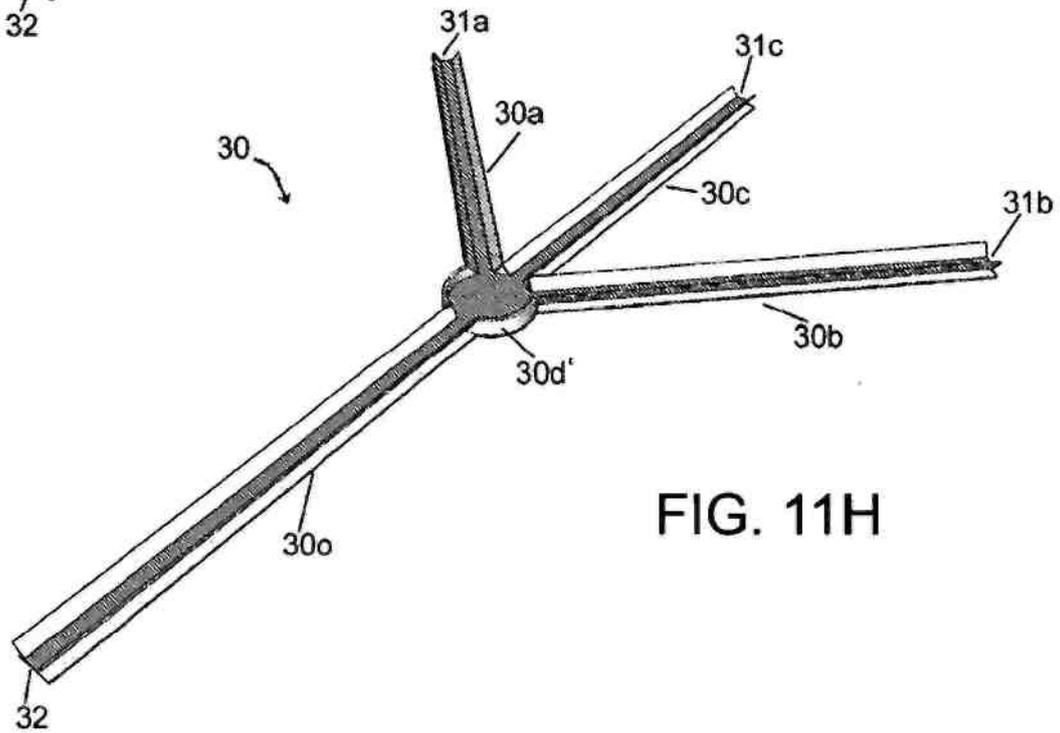


FIG. 11H

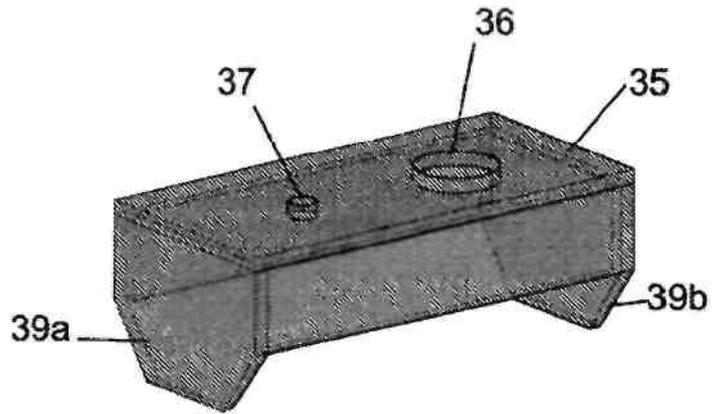


FIG. 12A

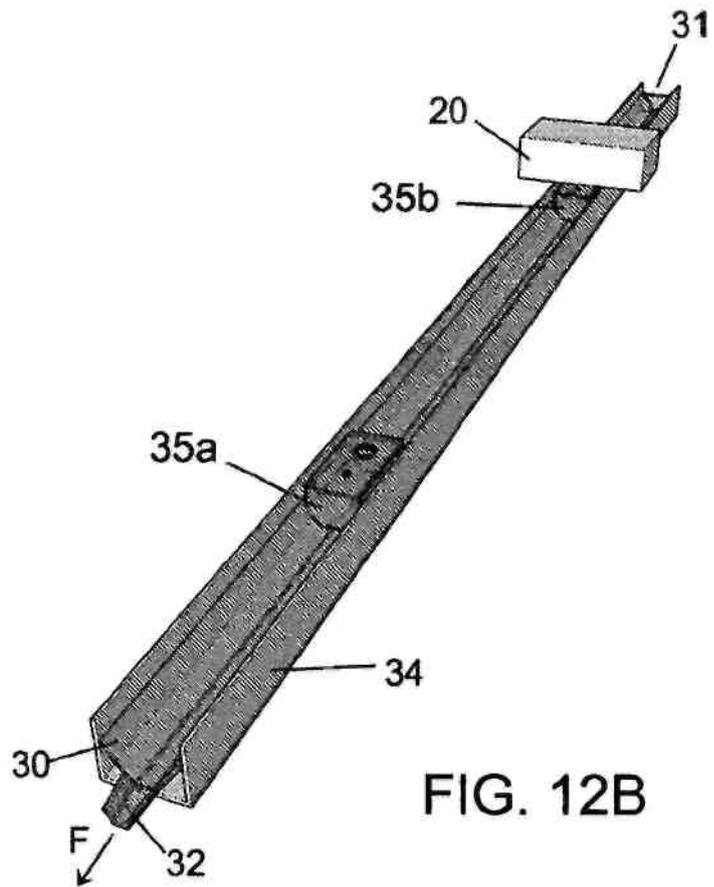
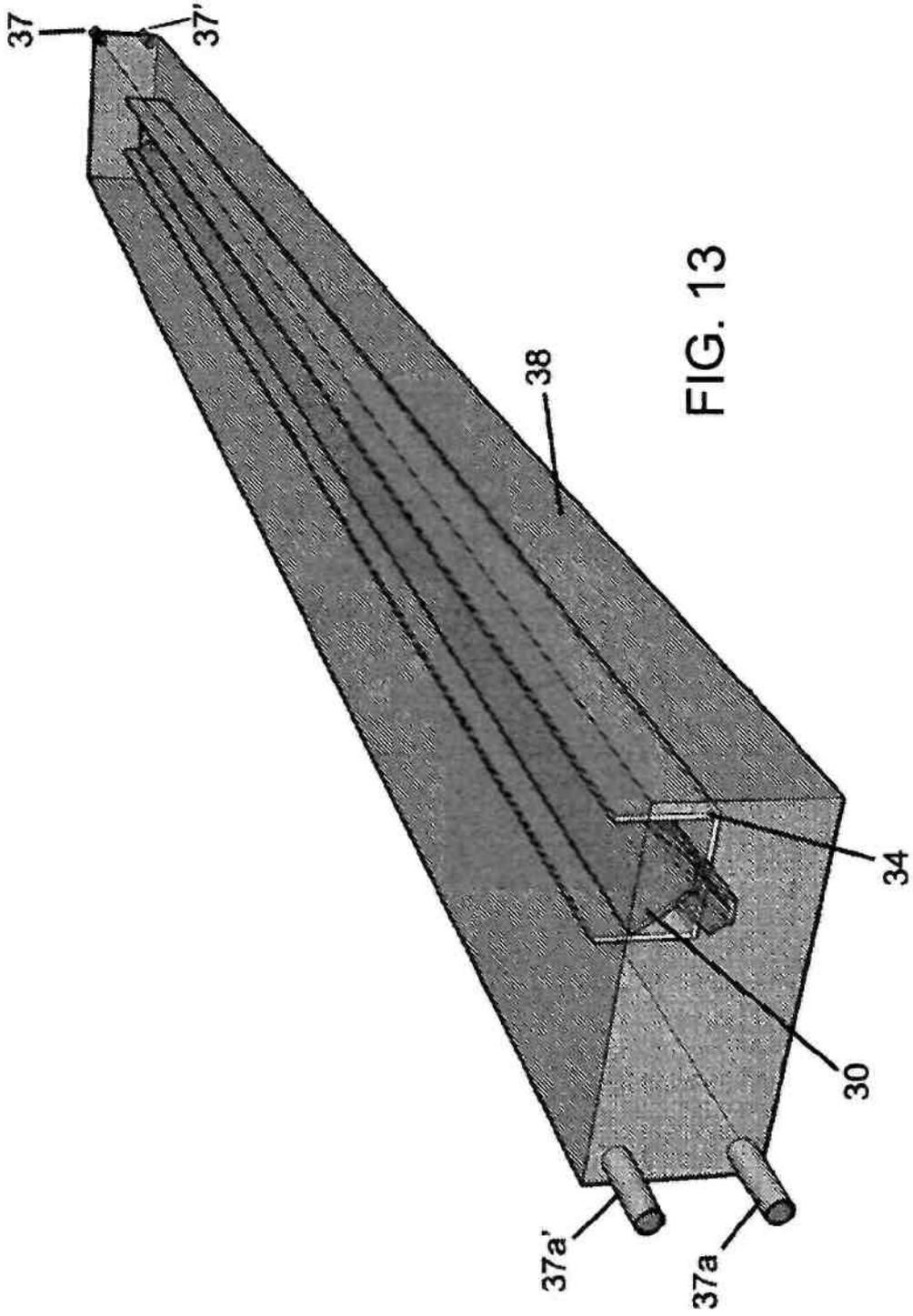


FIG. 12B



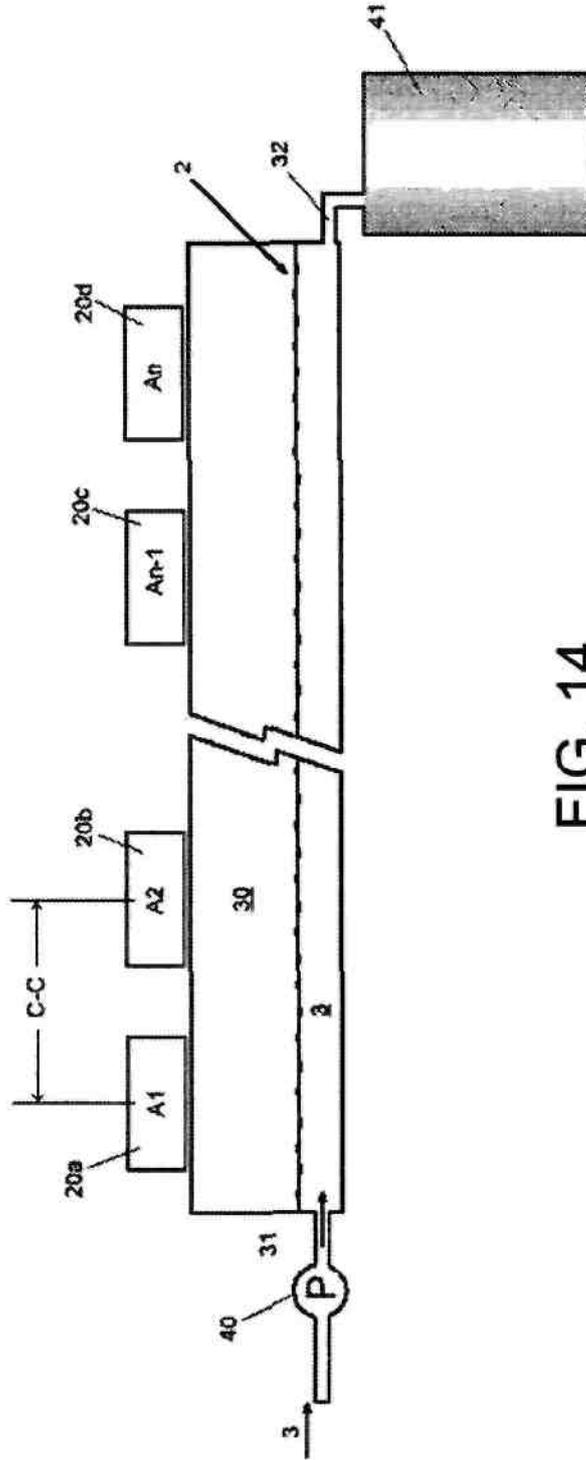


FIG. 14

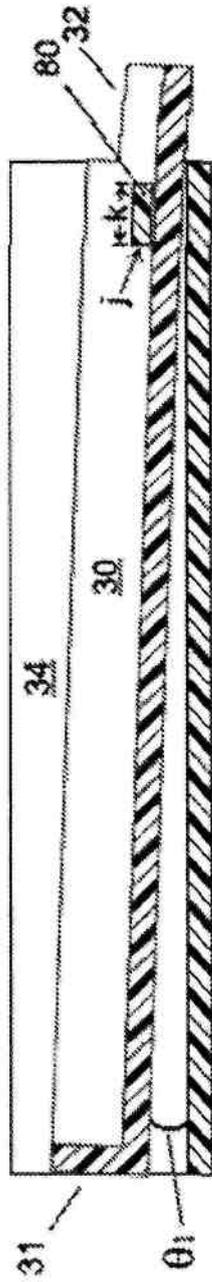


FIG. 15A

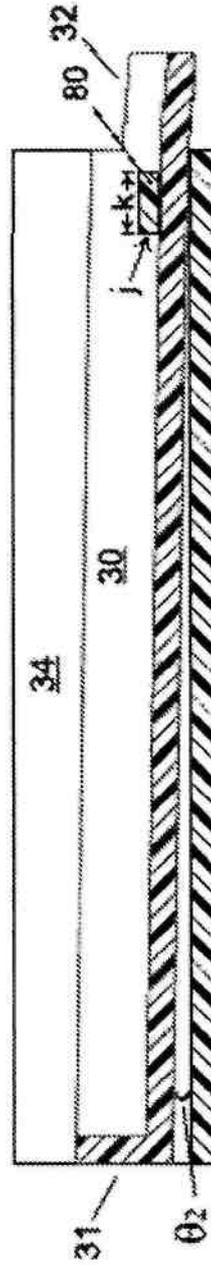


FIG. 15B

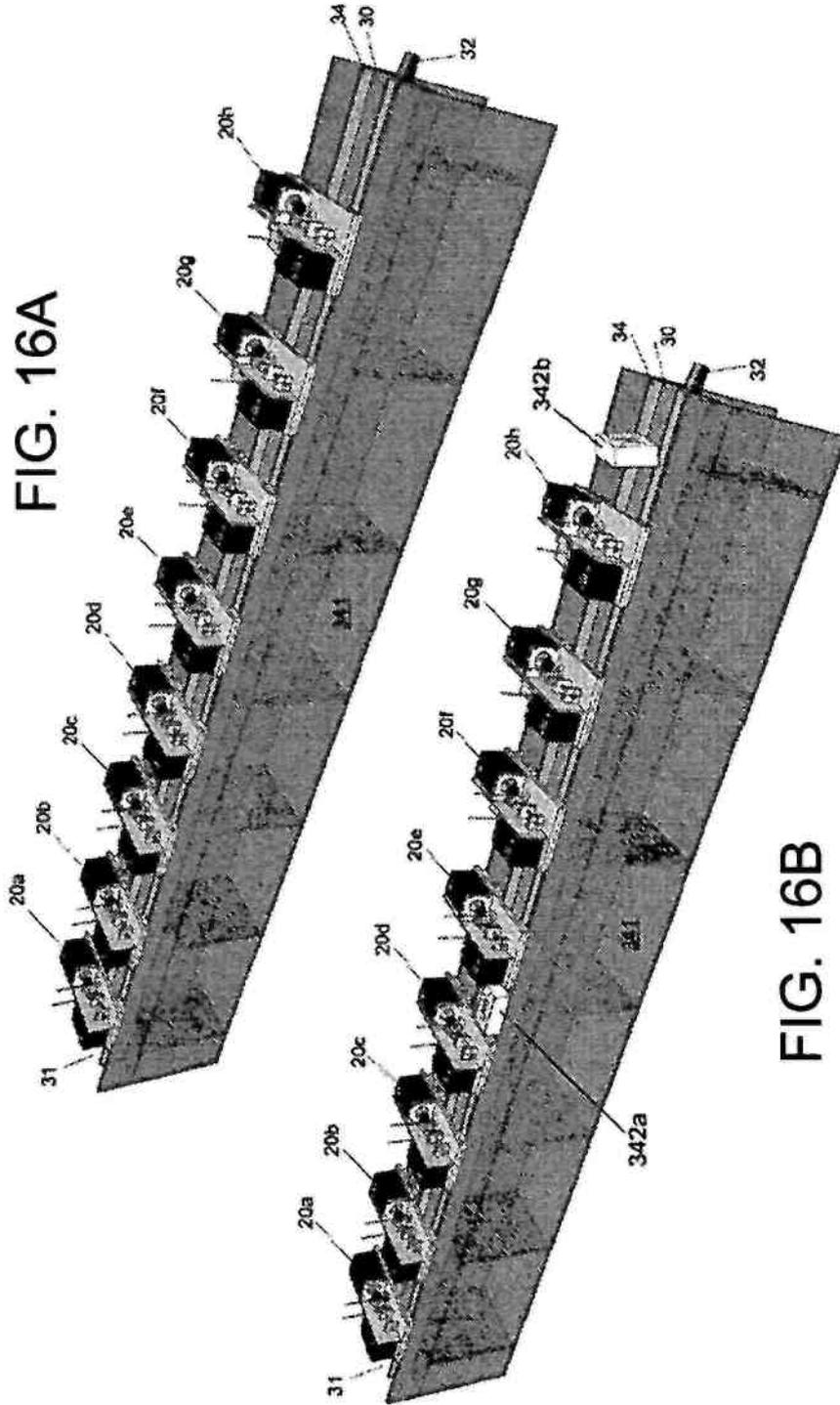


FIG. 16A

FIG. 16B

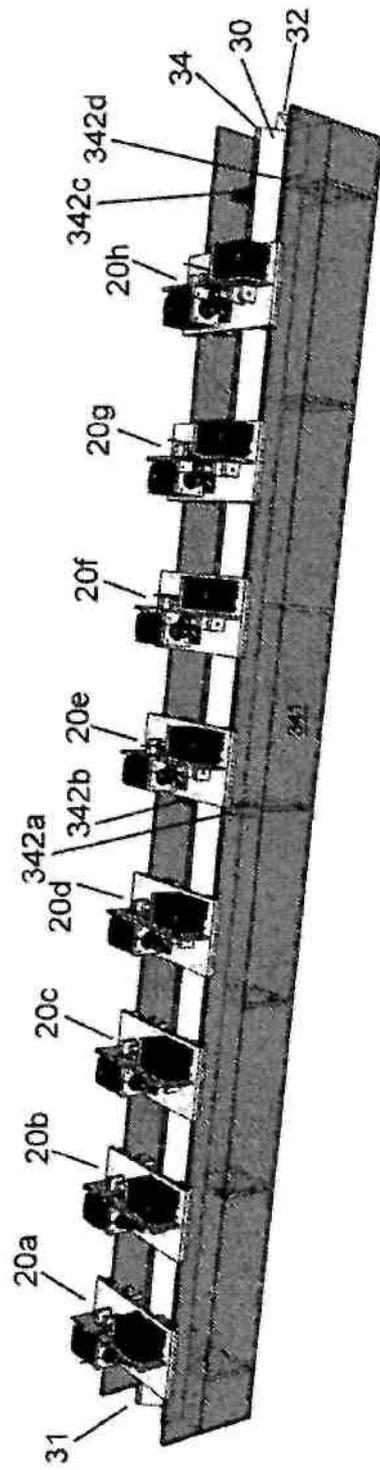
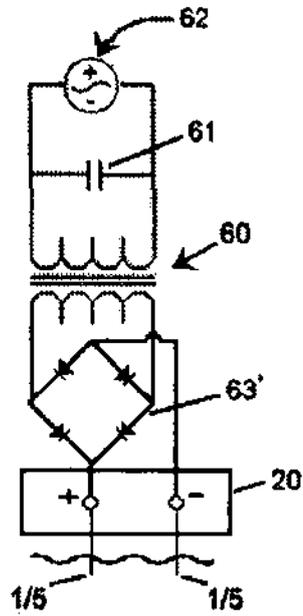
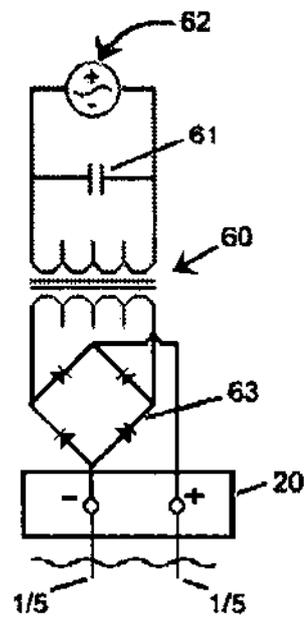
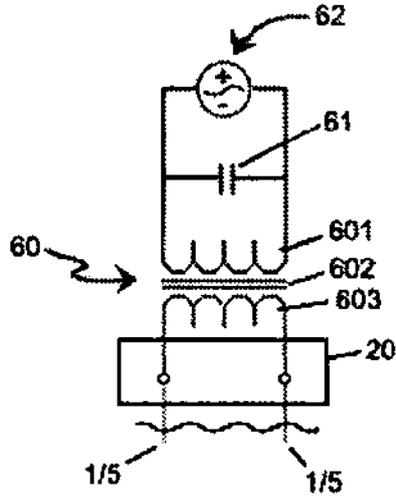


FIG. 16C



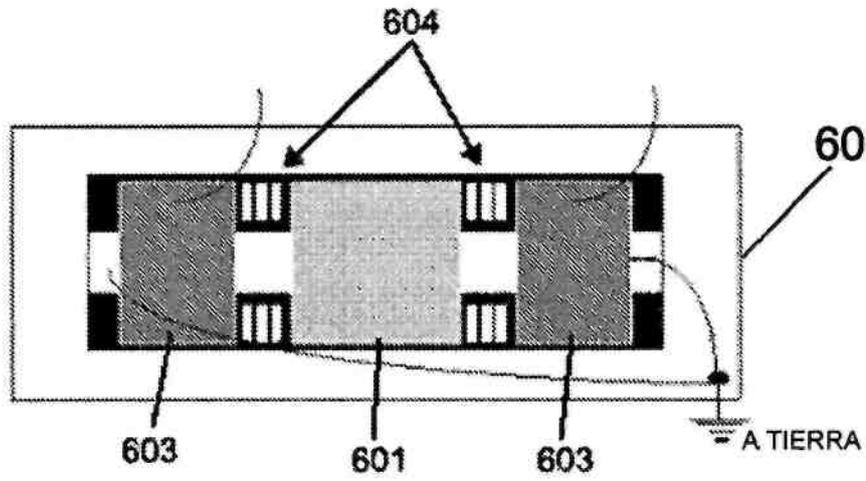


FIG. 16G

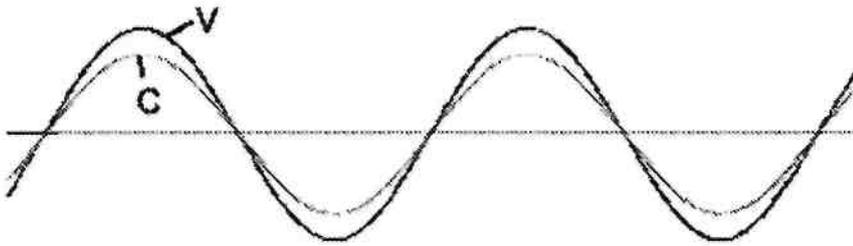


FIG. 16H

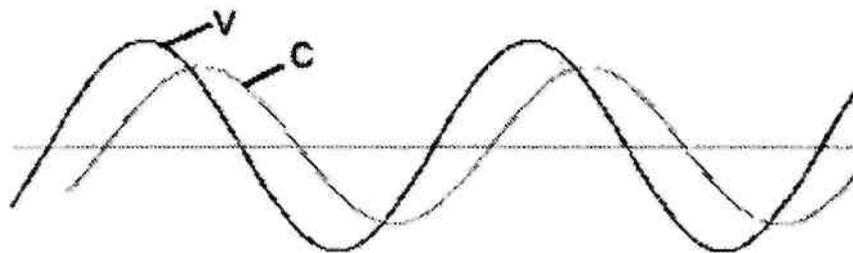


FIG. 16I

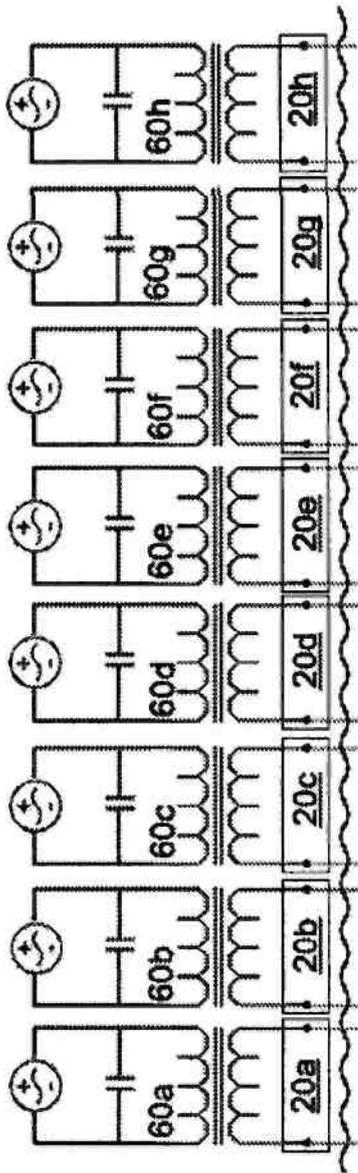


FIG. 16J

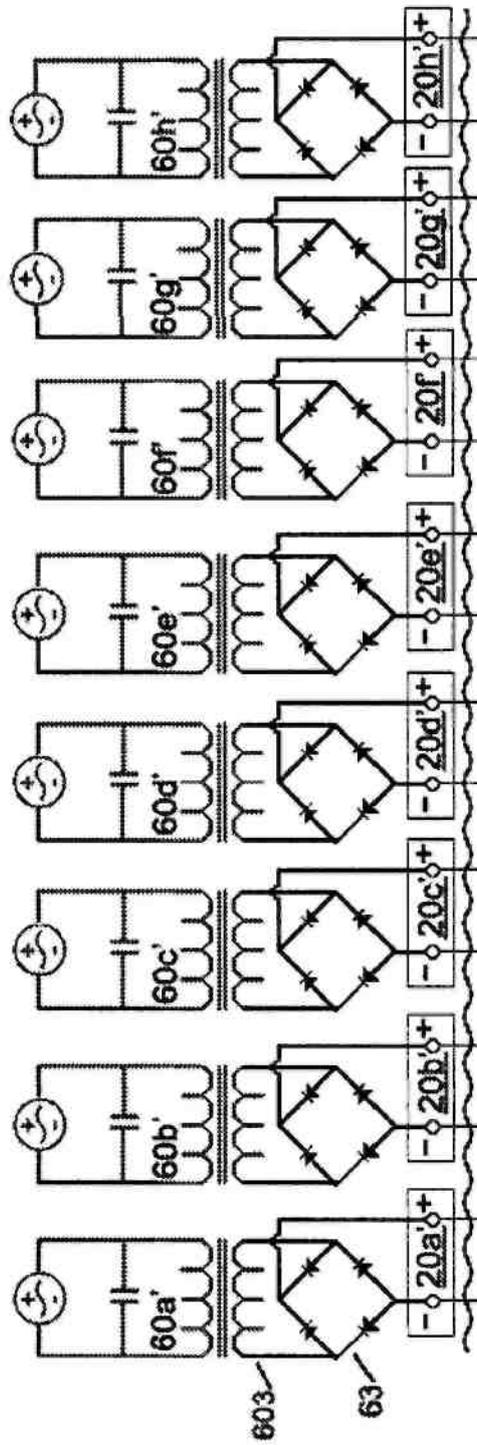


FIG. 16K

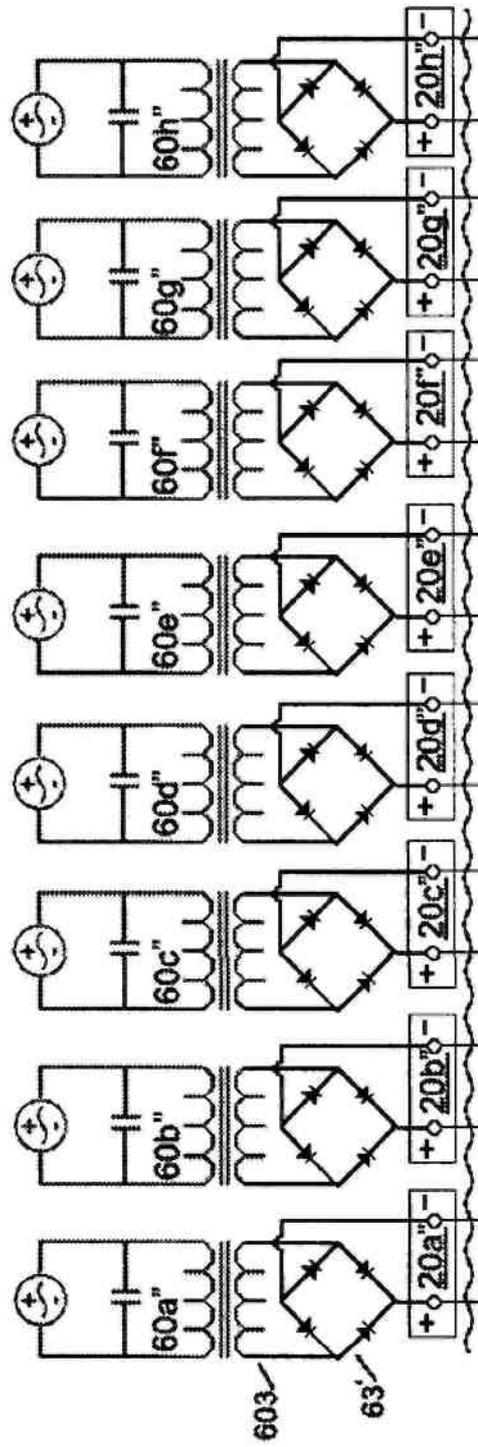


FIG. 16L

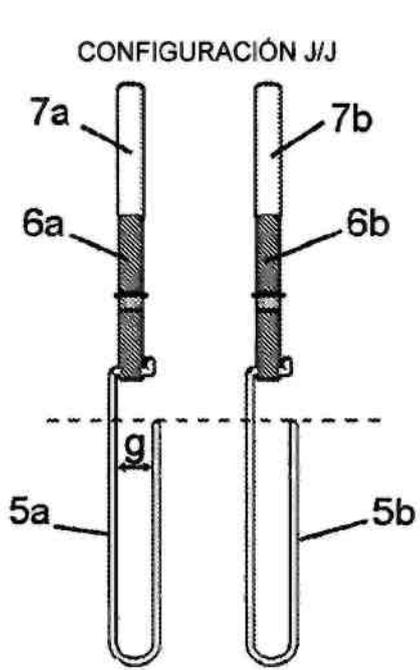


FIG. 17A

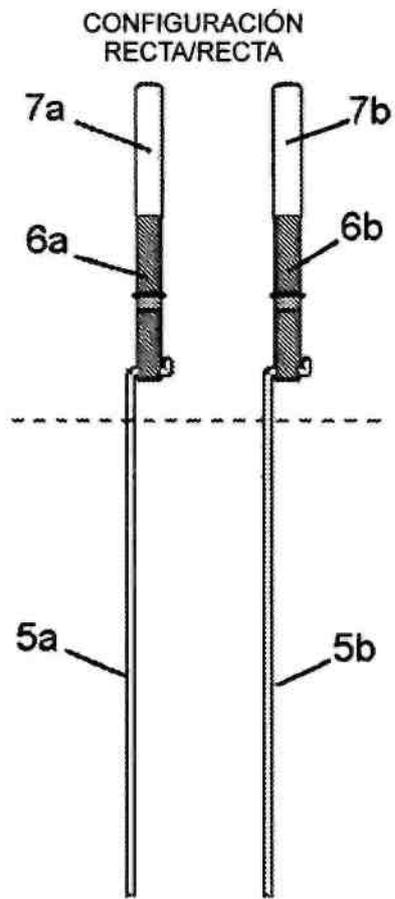


FIG. 17B

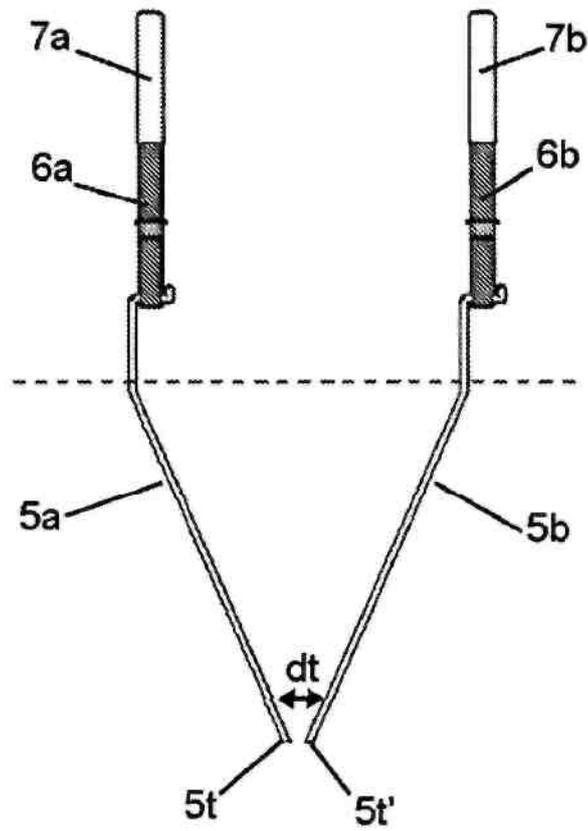


FIG. 17C

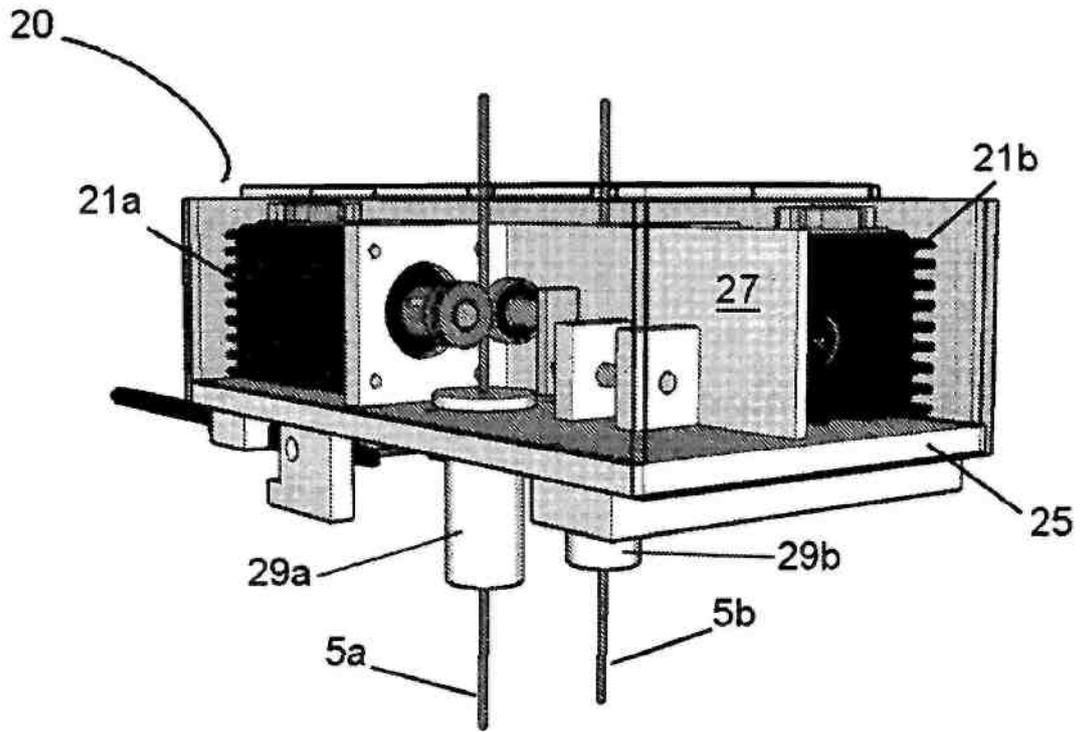


FIG. 17D

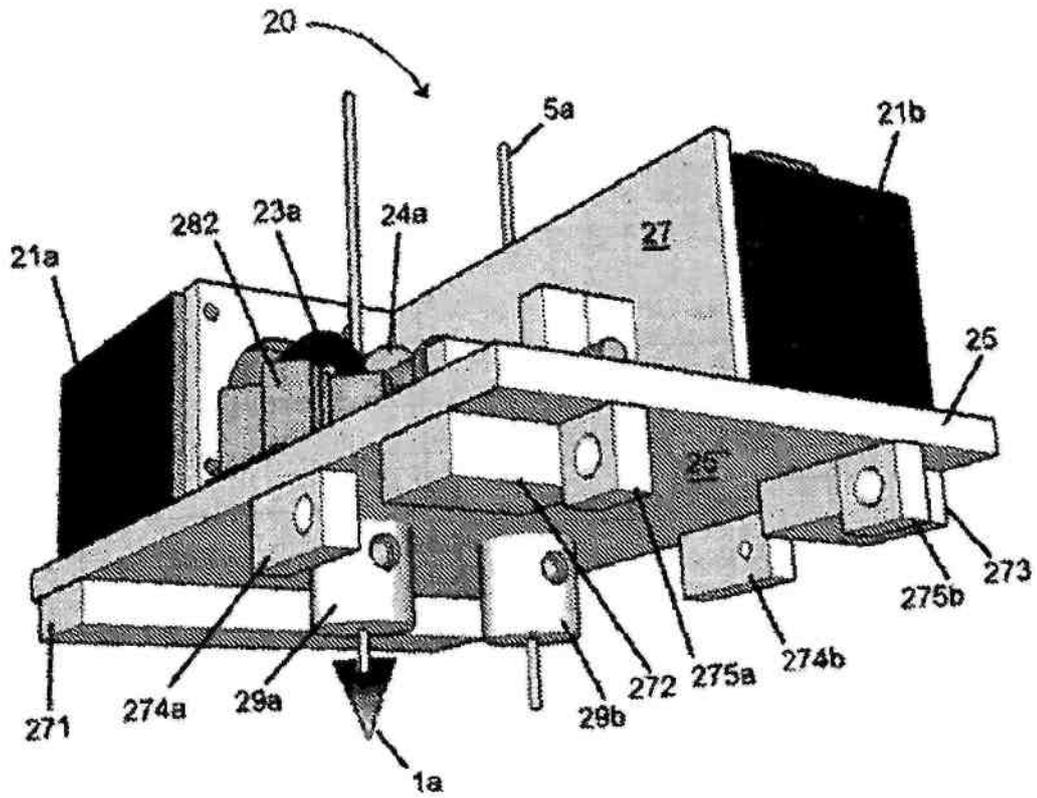


FIG. 17E

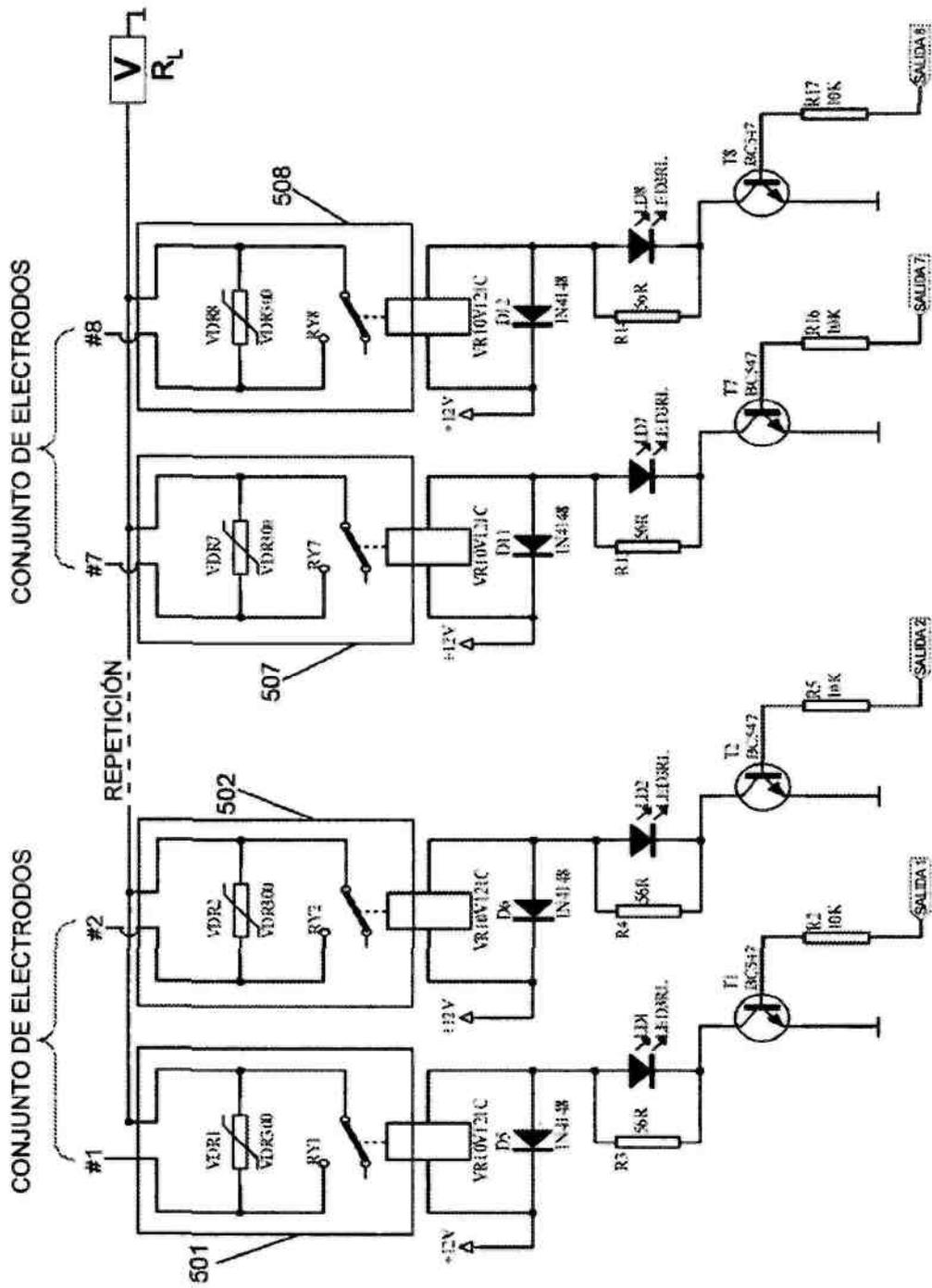


FIG. 17G

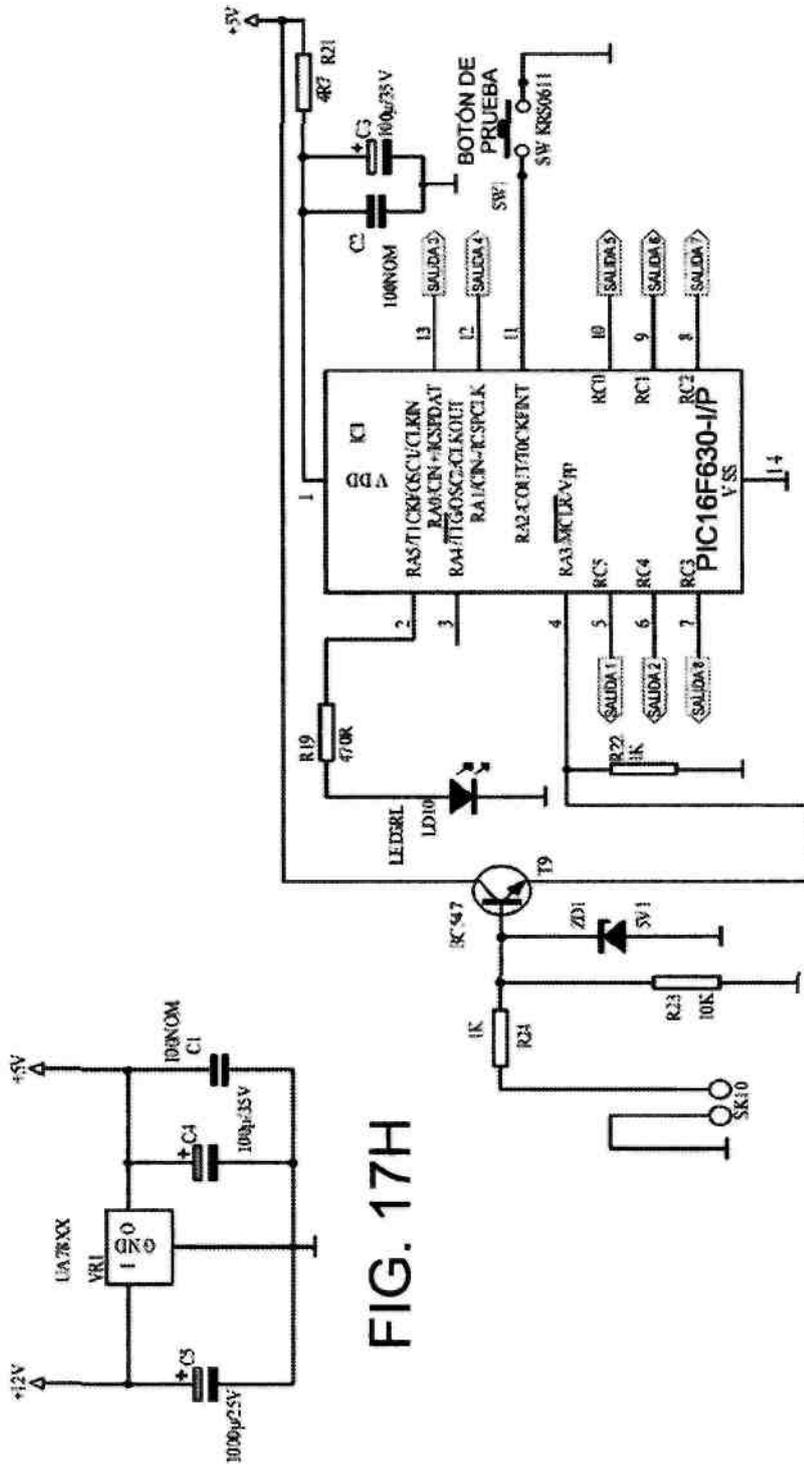
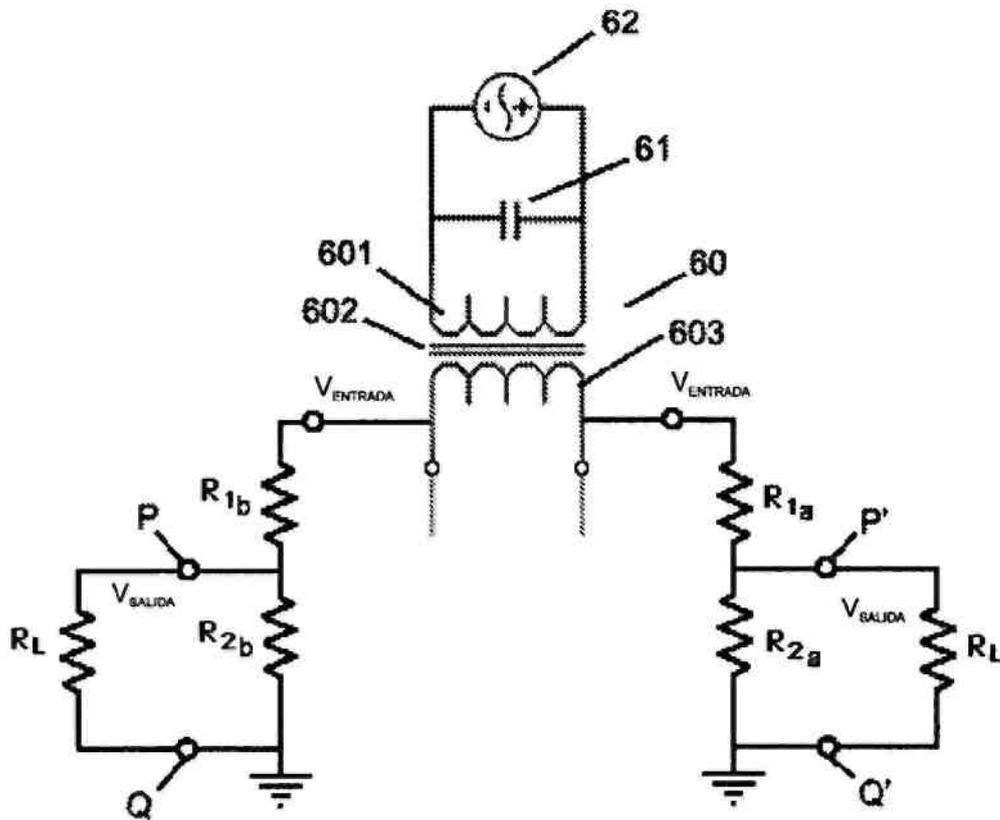


FIG. 17I



$$V_{\text{SALIDA}} = \frac{V_1(R_2 \parallel R_L)}{(R_1 + R_2 \parallel R_L)}$$

$R_L = 10\text{M Ohm}$ IMPEDANCIA DE ENTRADA DEL MULTÍMETRO

FIG. 17J

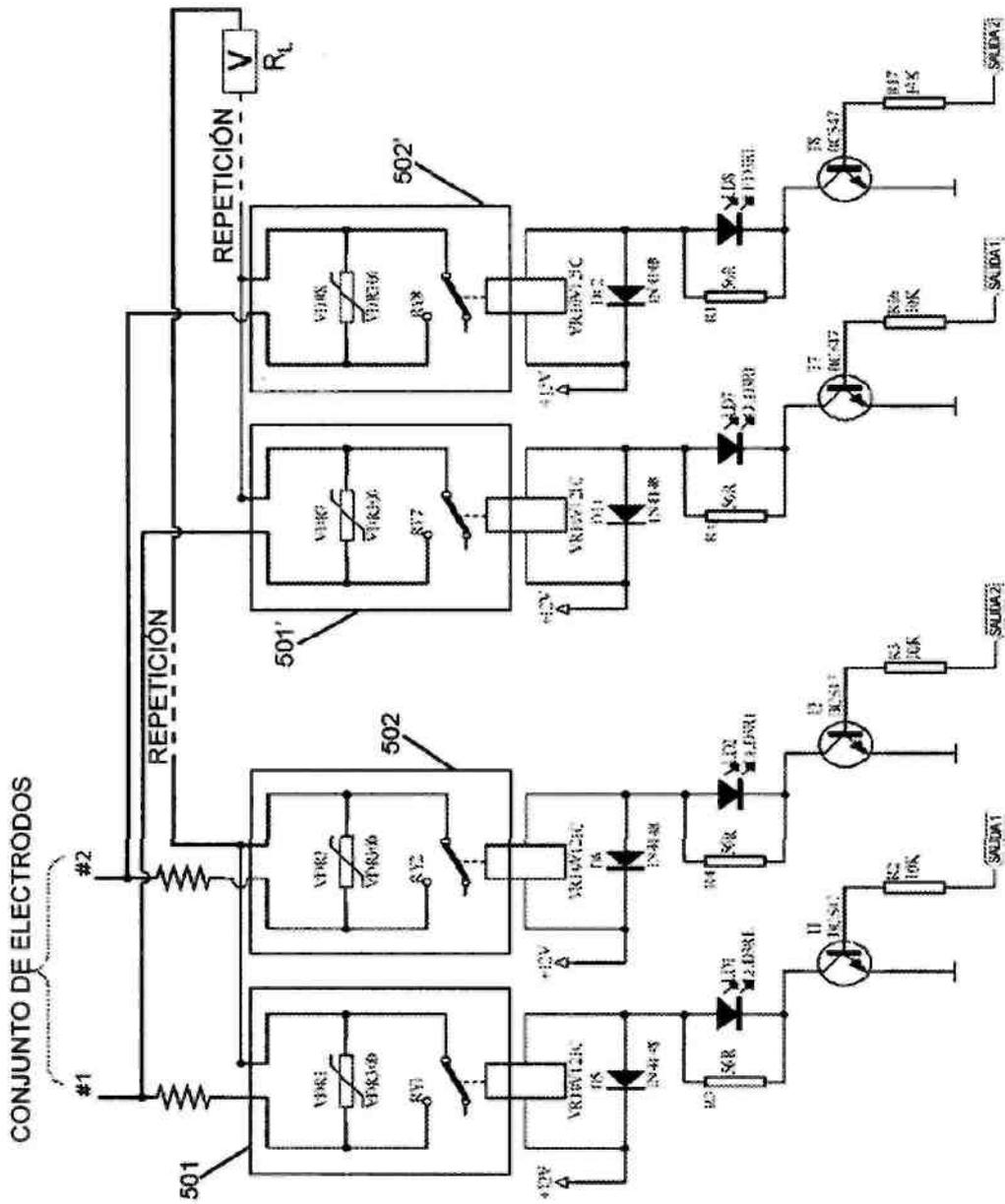
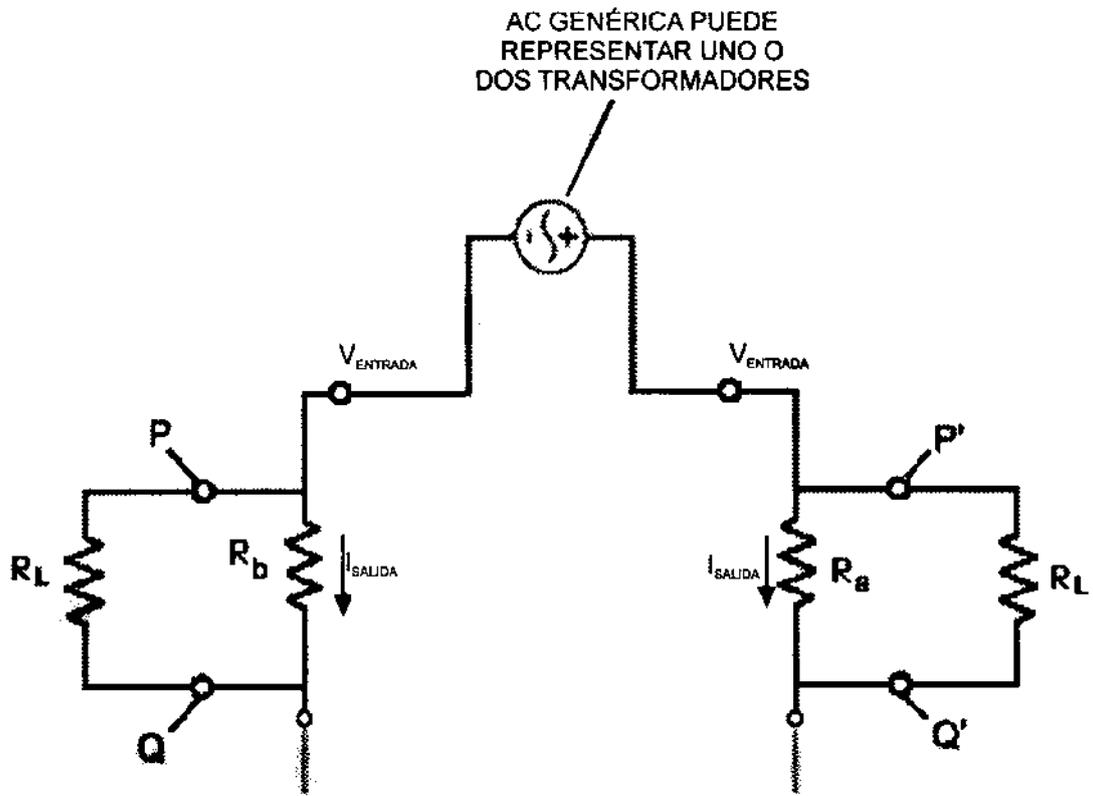


FIG. 17K



$$I_{SALIDA} = \frac{V_{SALIDA}}{(R_b || R_L)}$$

$R_L = 10M$ Ohm IMPEDANCIA DE ENTRADA DEL MULTÍMETRO

FIG. 17L

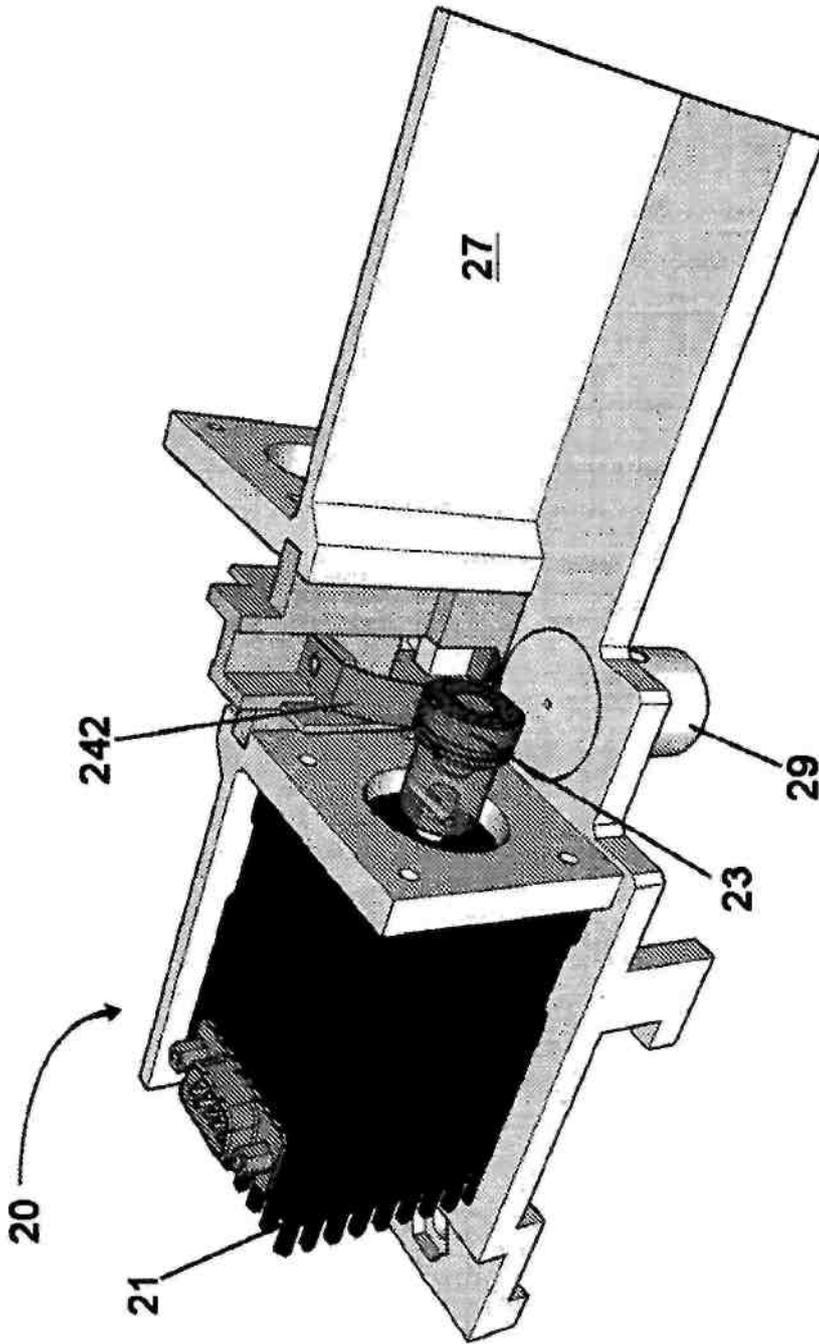


FIG. 17M

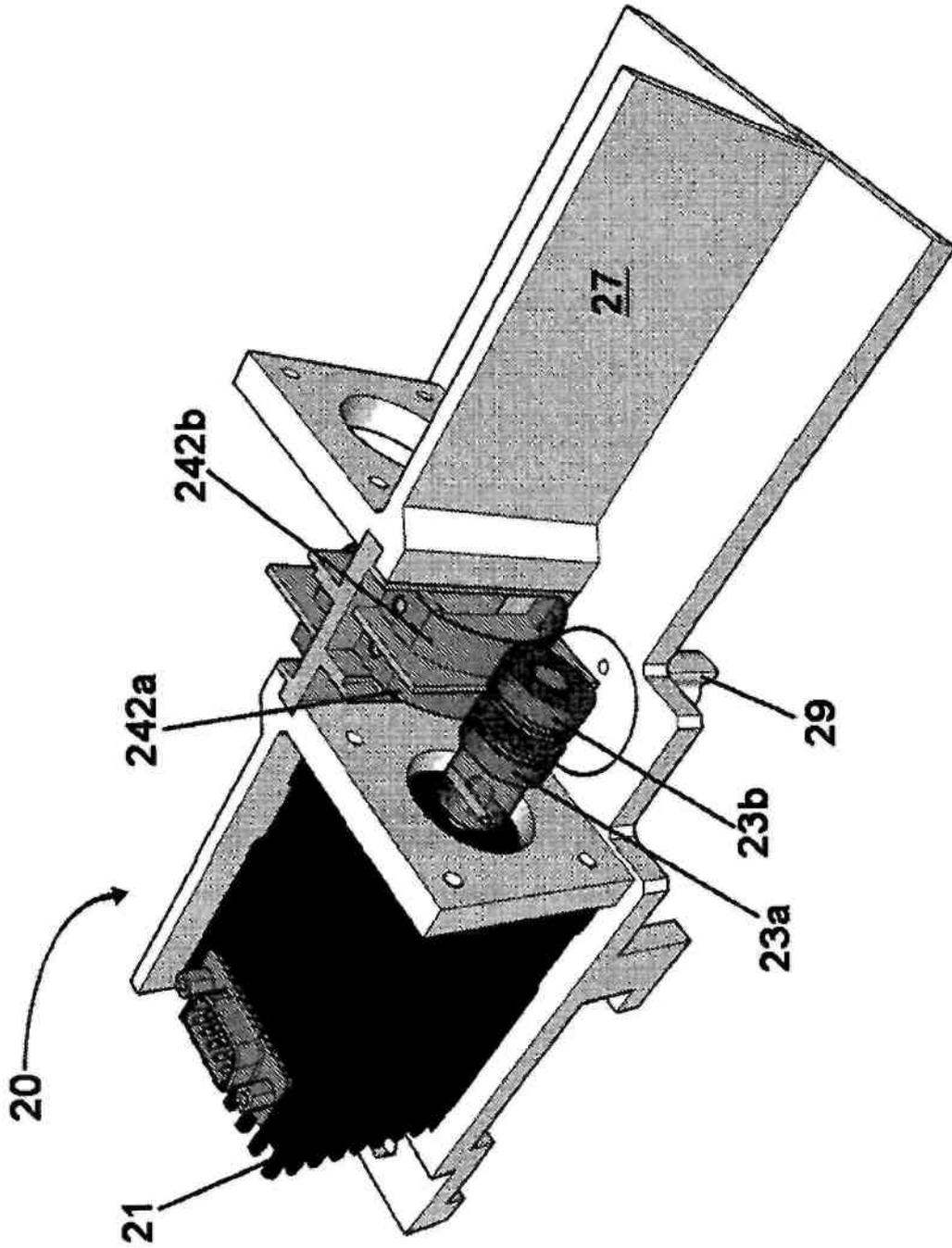


FIG. 17N

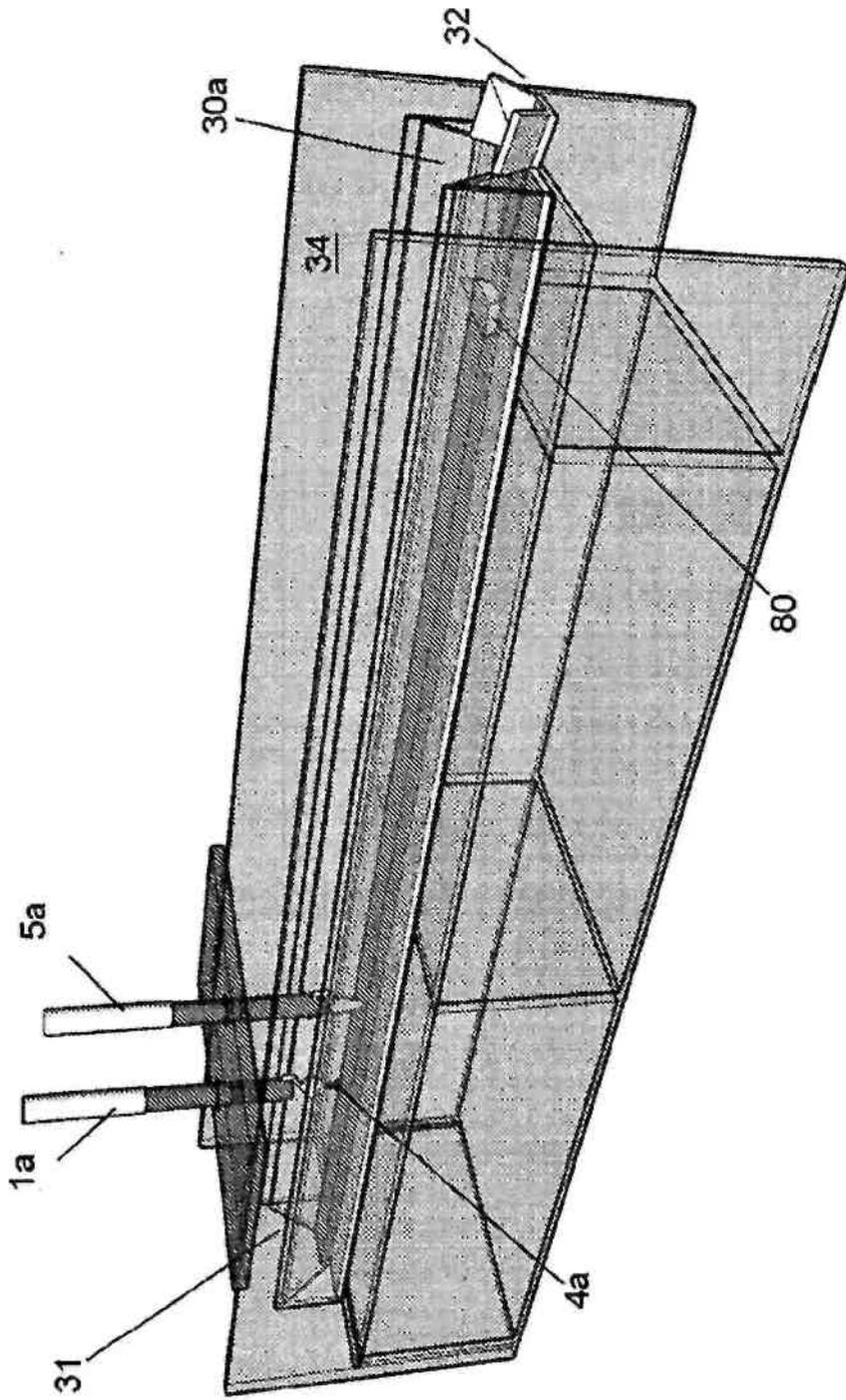


FIG. 18A

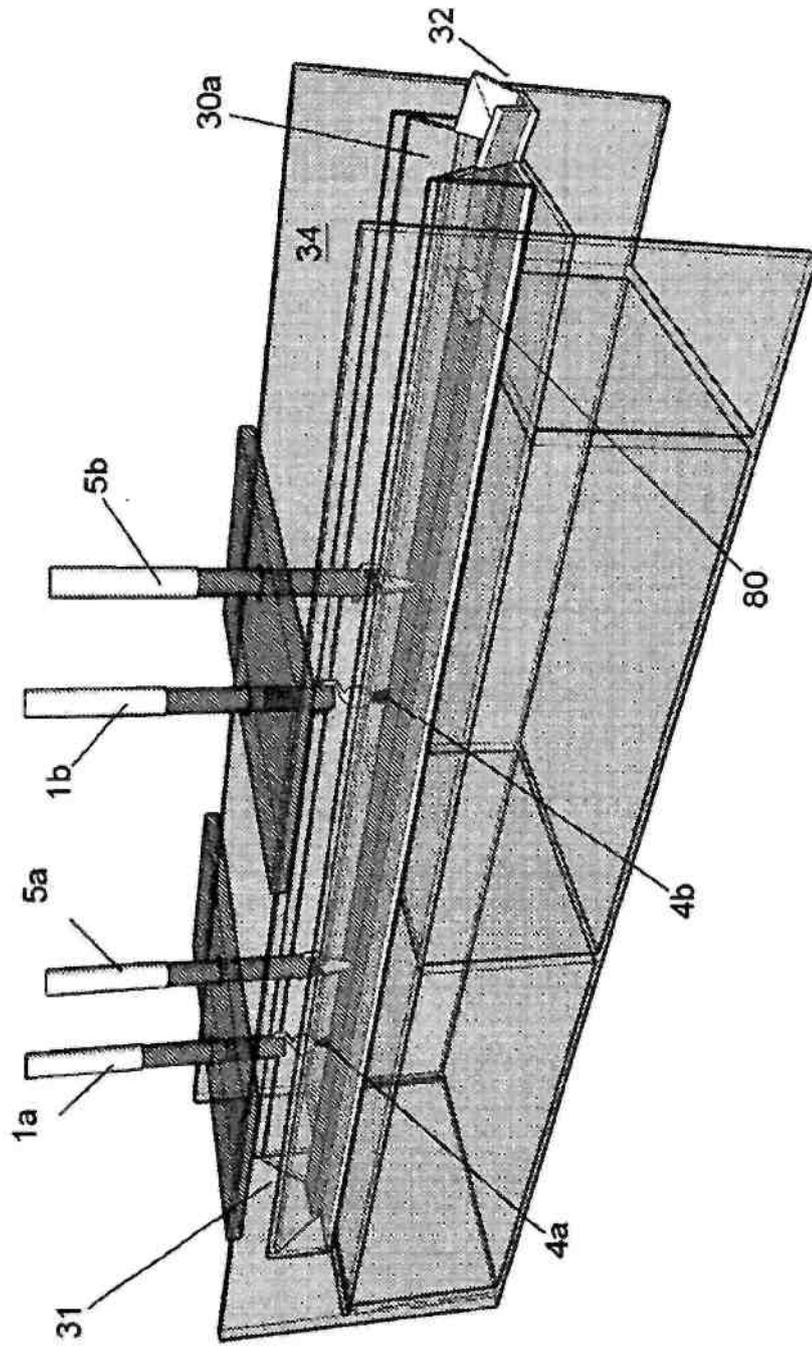


FIG. 18B

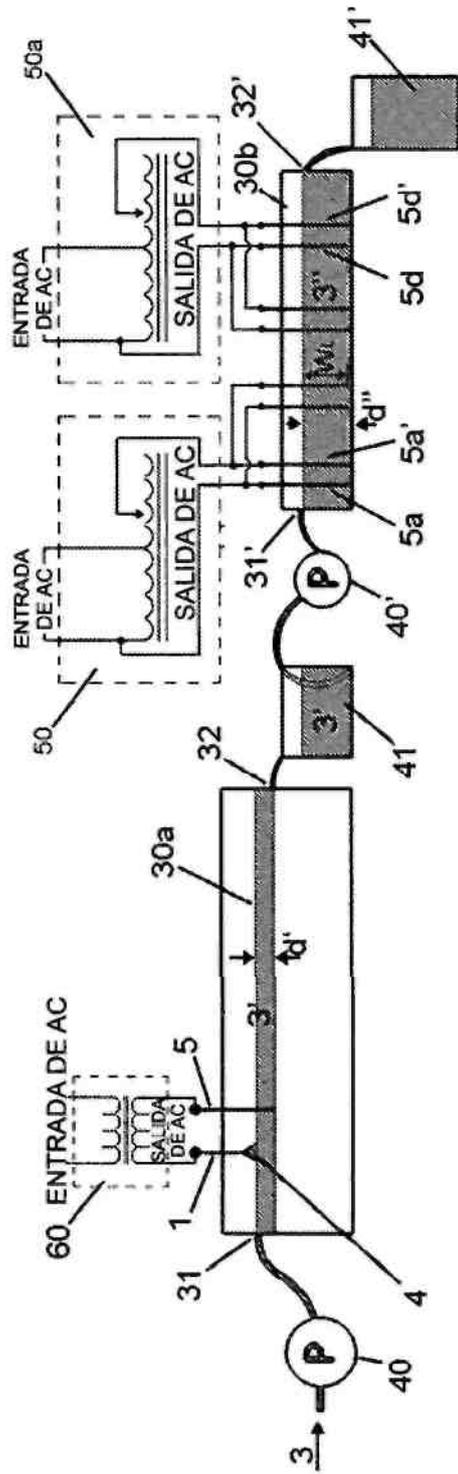


FIG. 19A

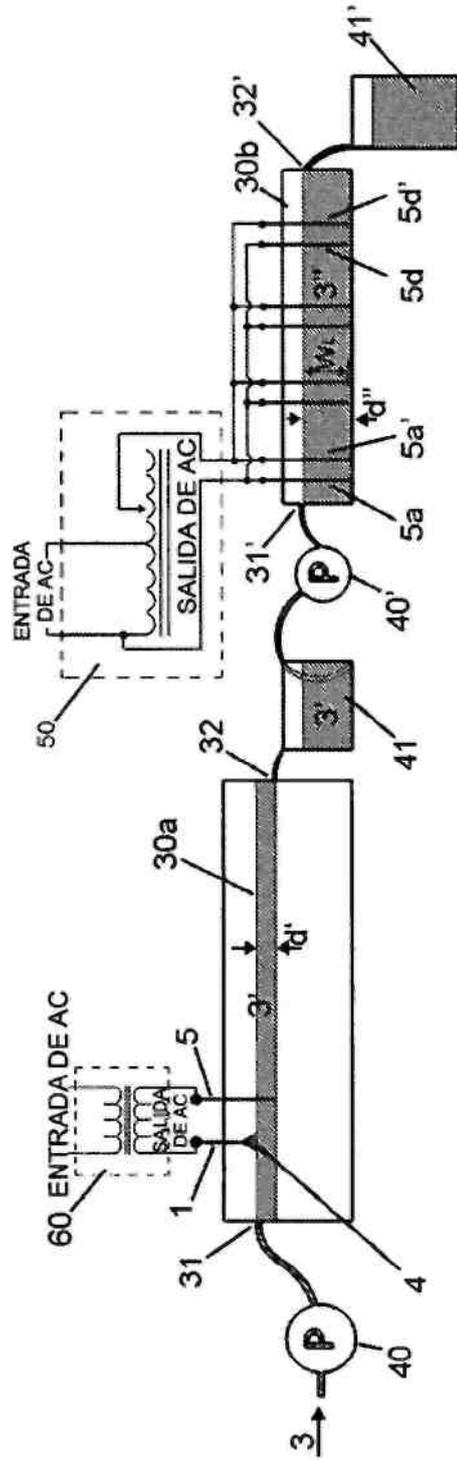


FIG. 19B

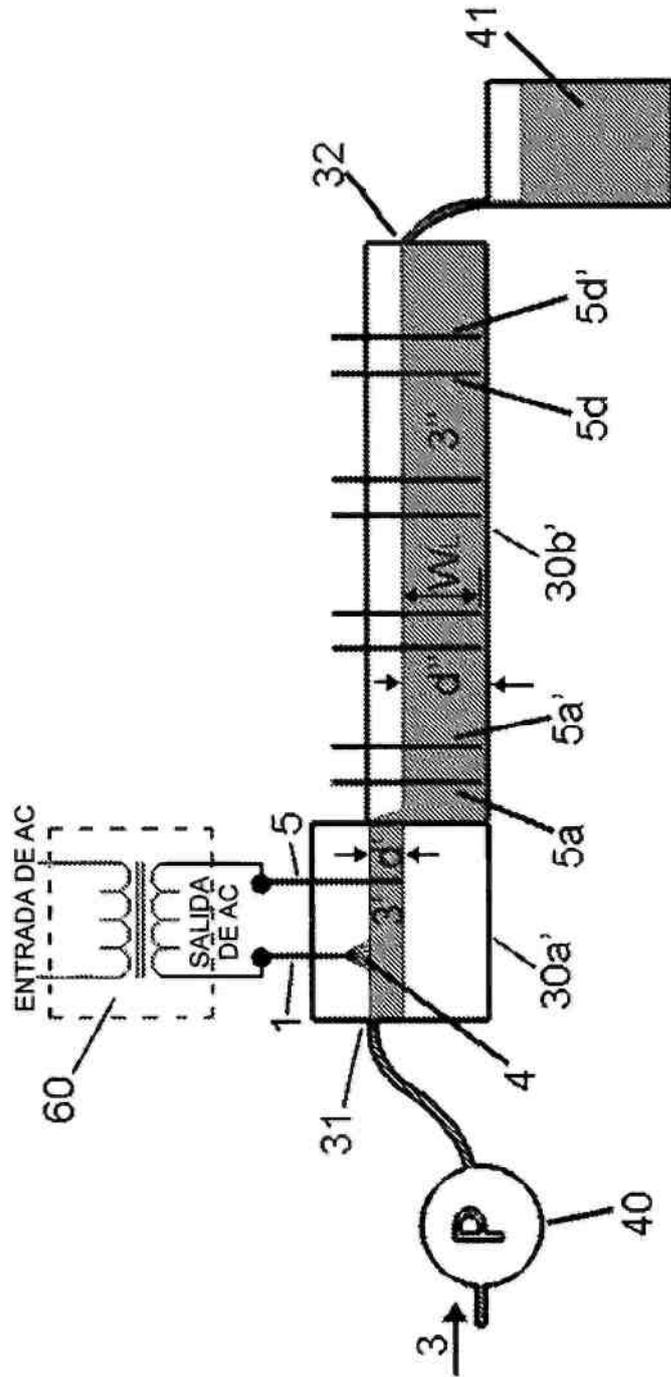


FIG. 20A

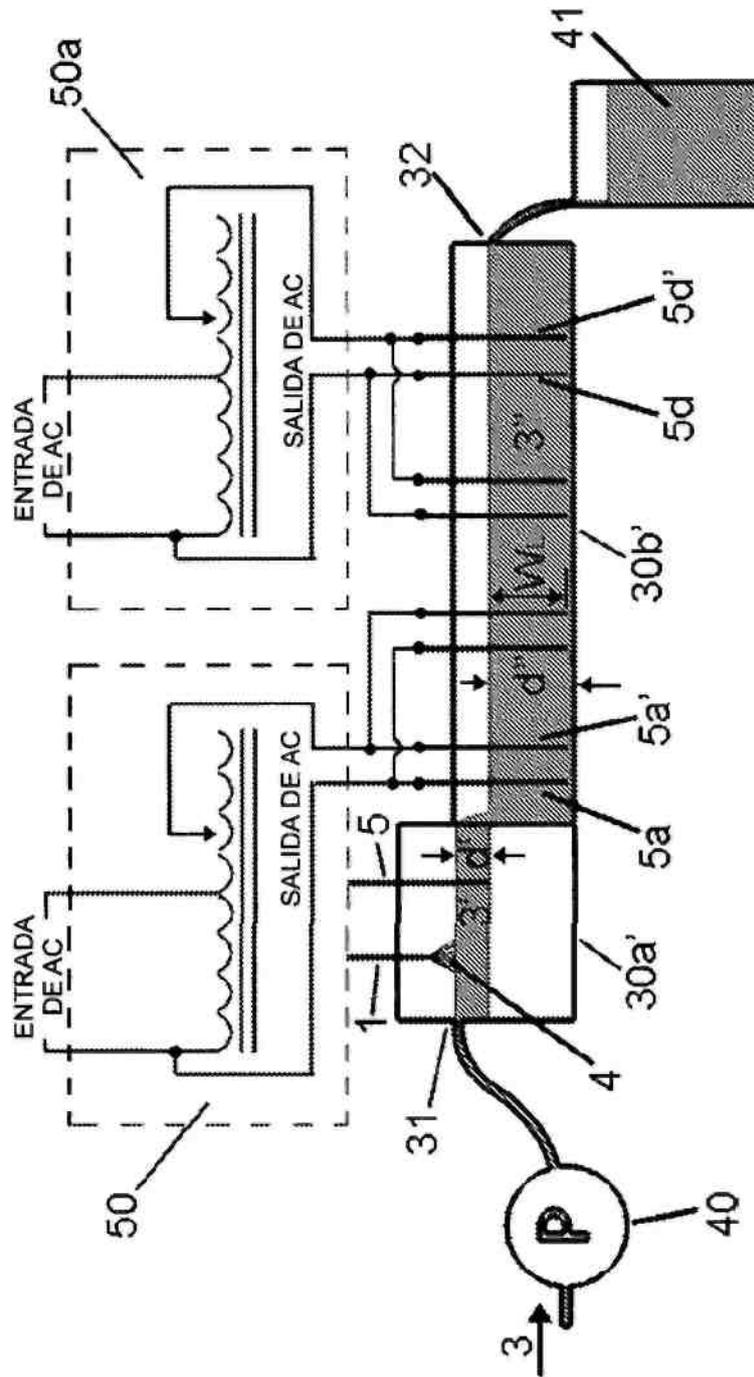


FIG. 20B

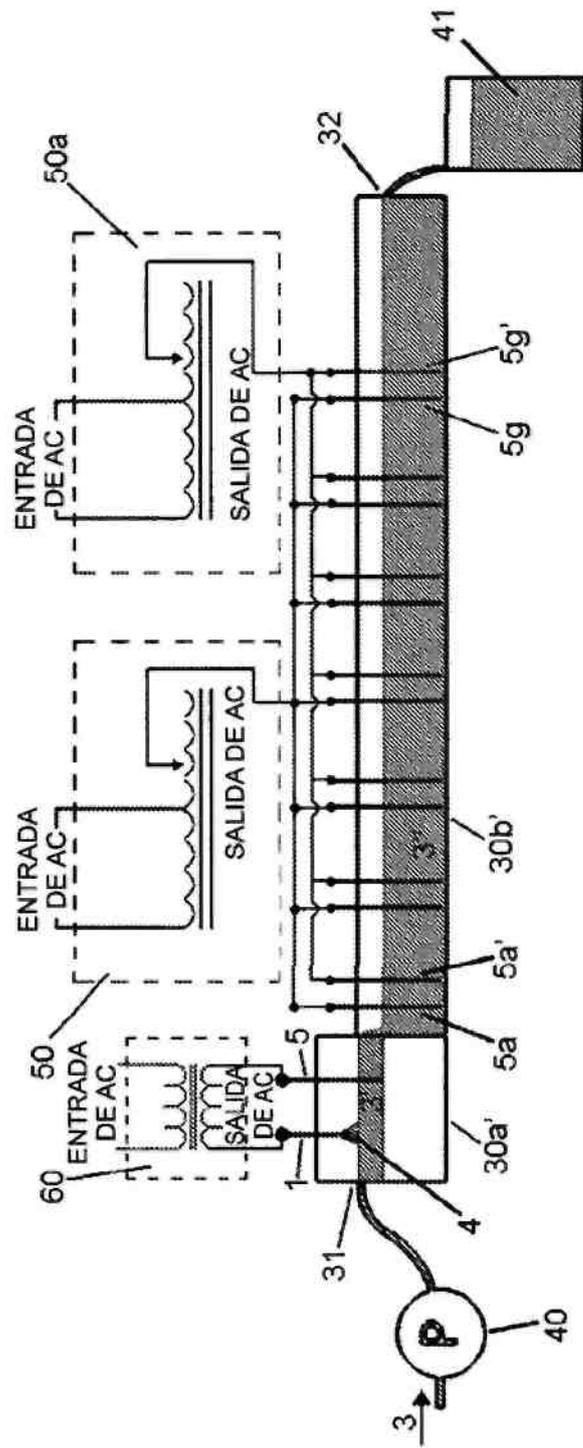


FIG. 20C

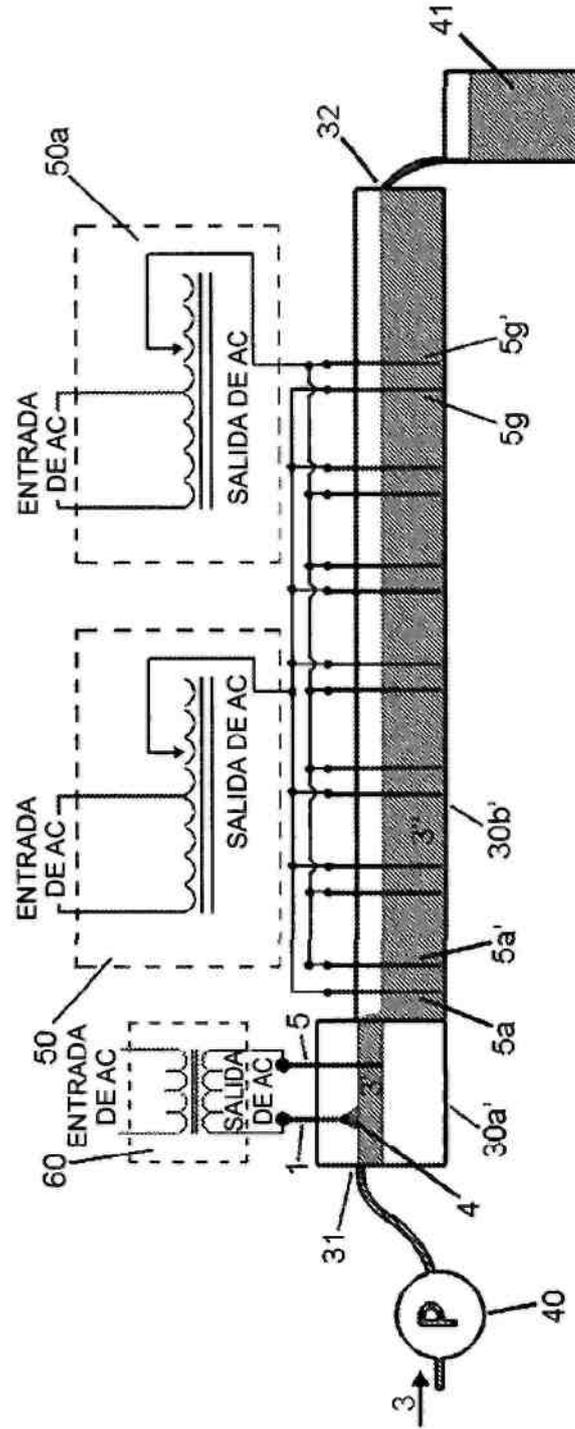


FIG. 20D

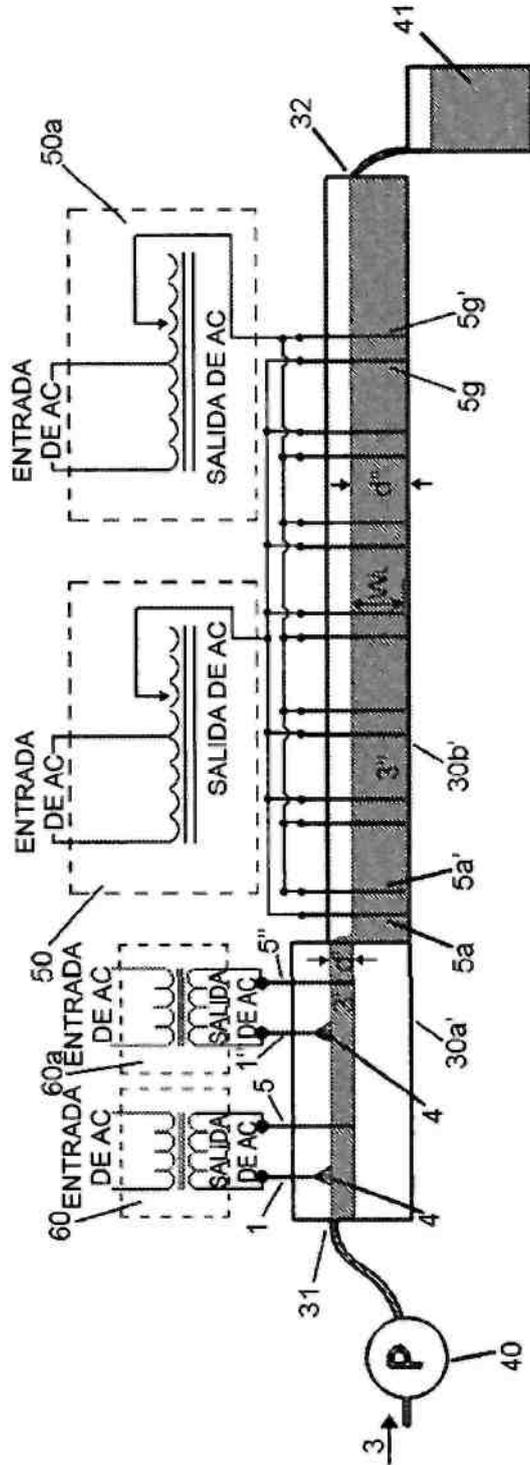


FIG. 20E

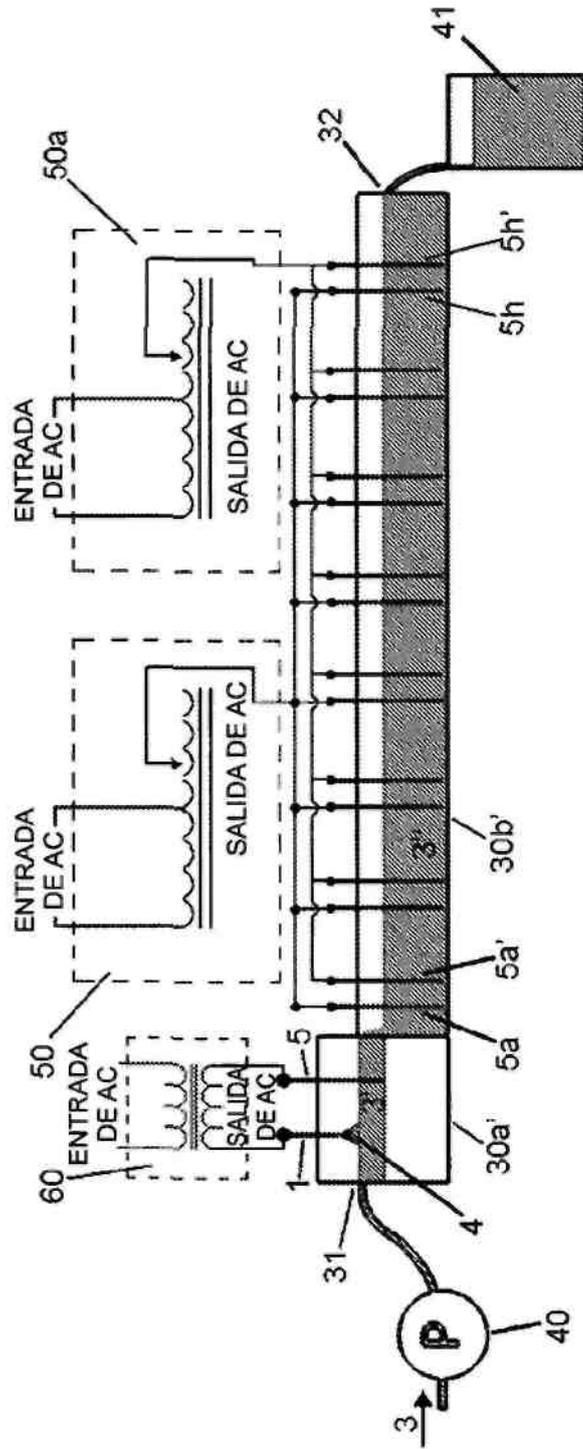


FIG. 20F

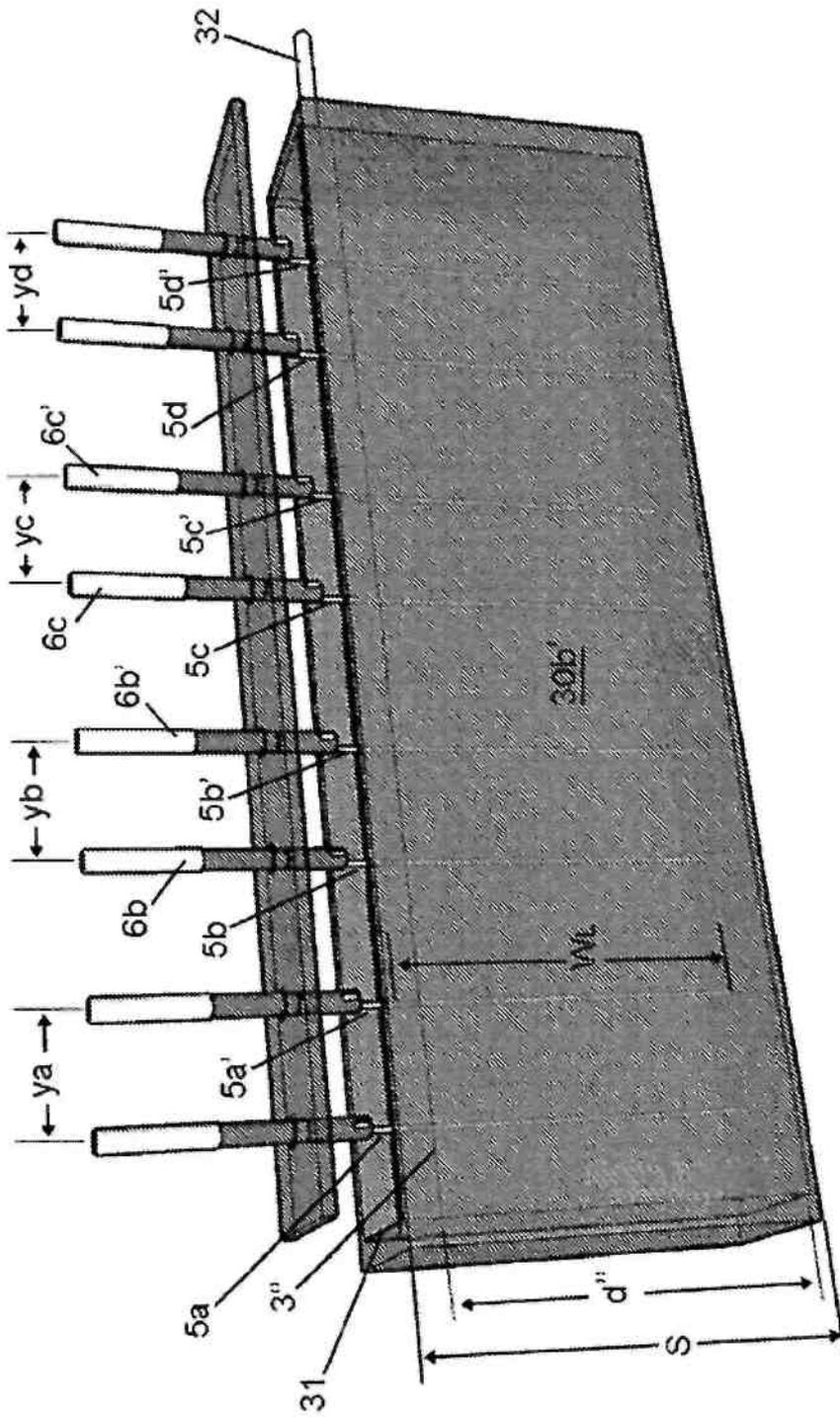


FIG. 21A

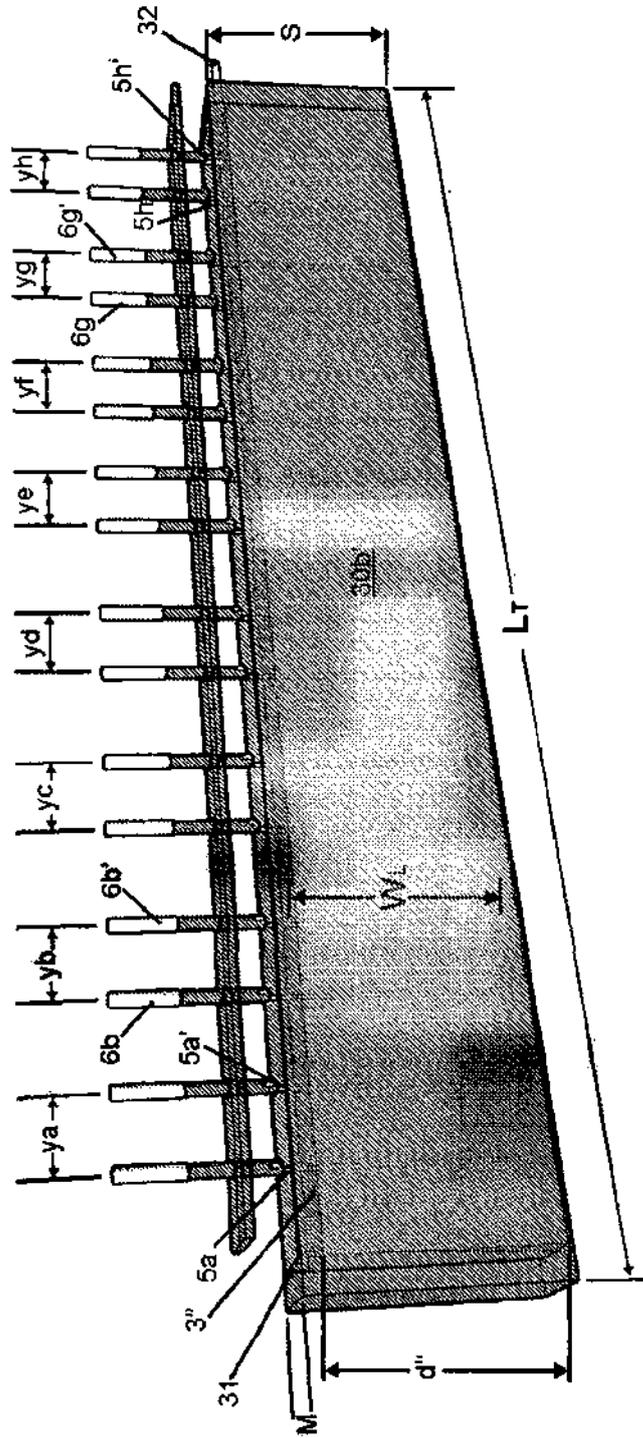


FIG. 21B

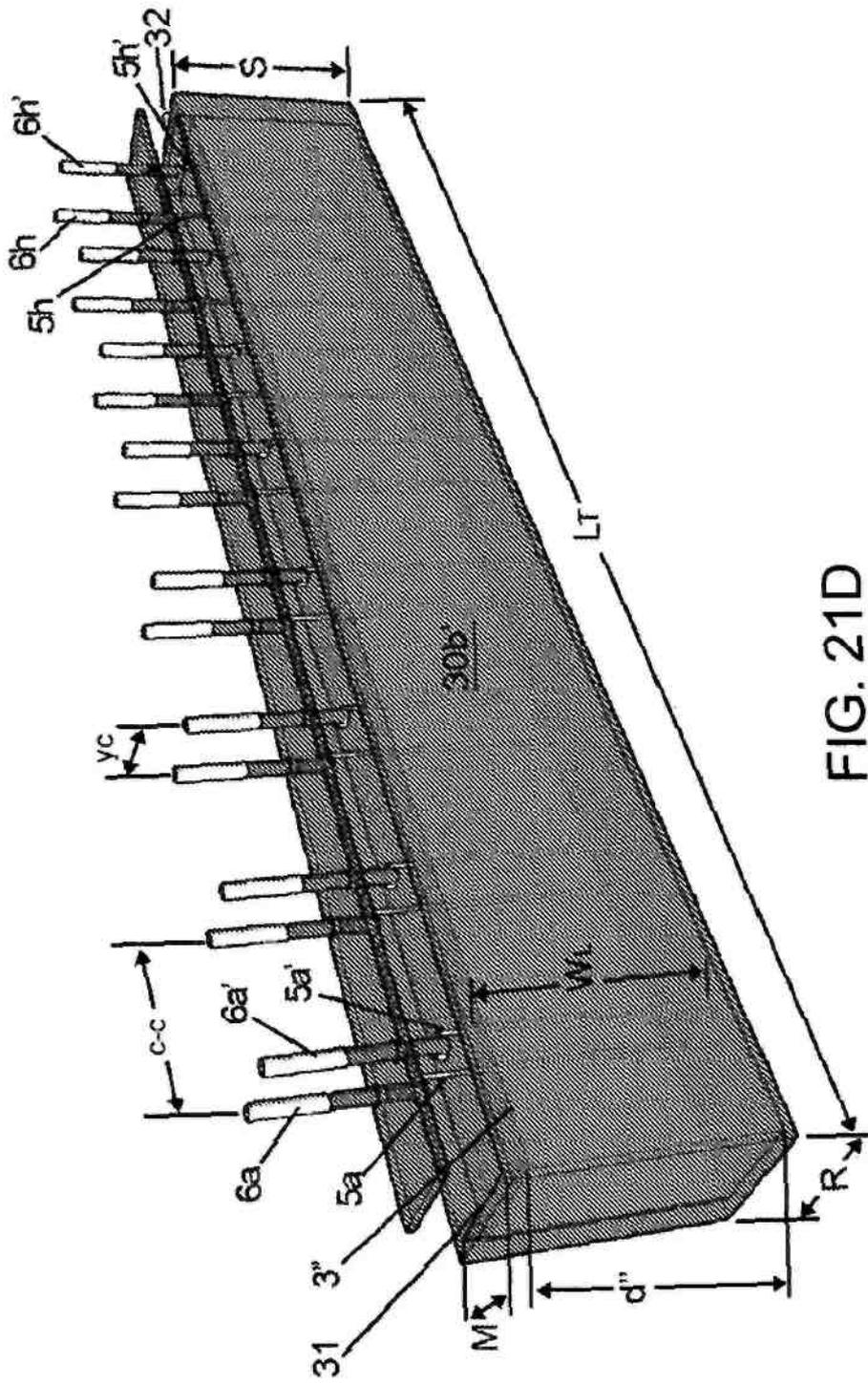


FIG. 21D

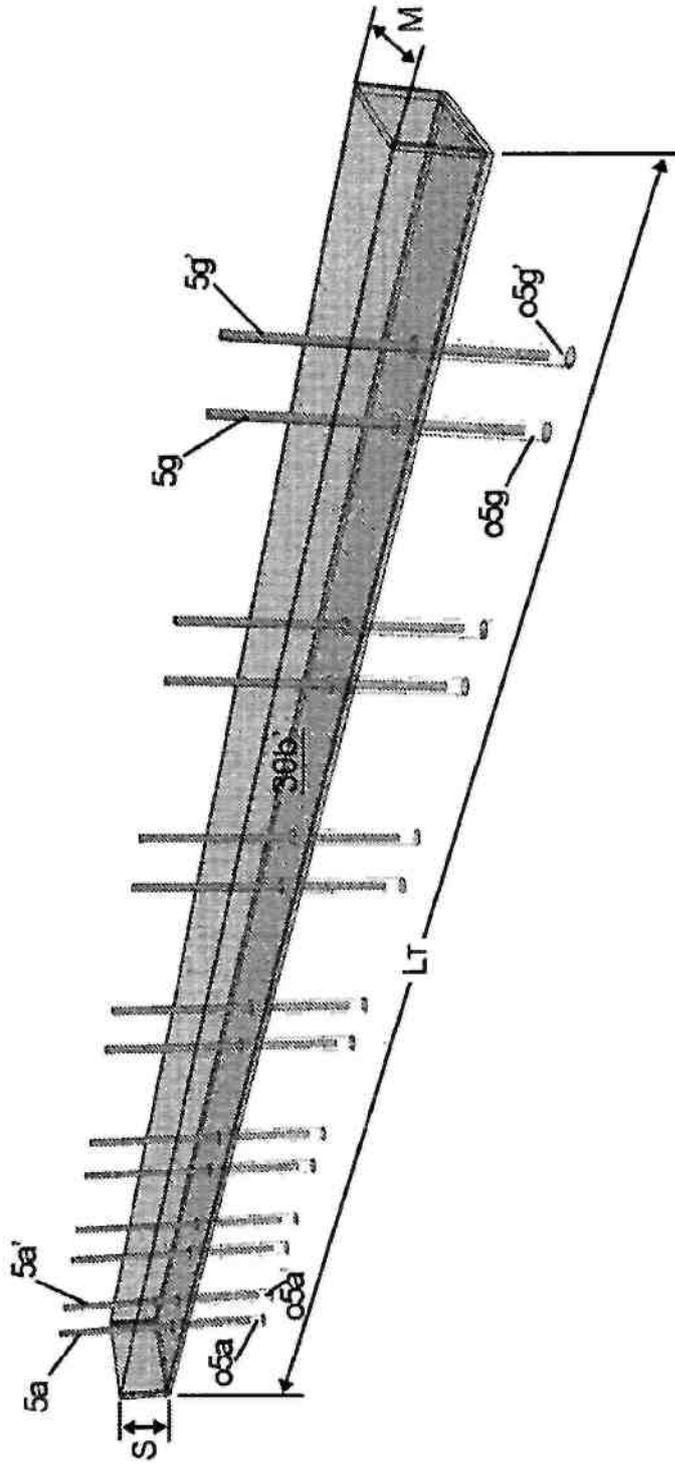


FIG. 21E

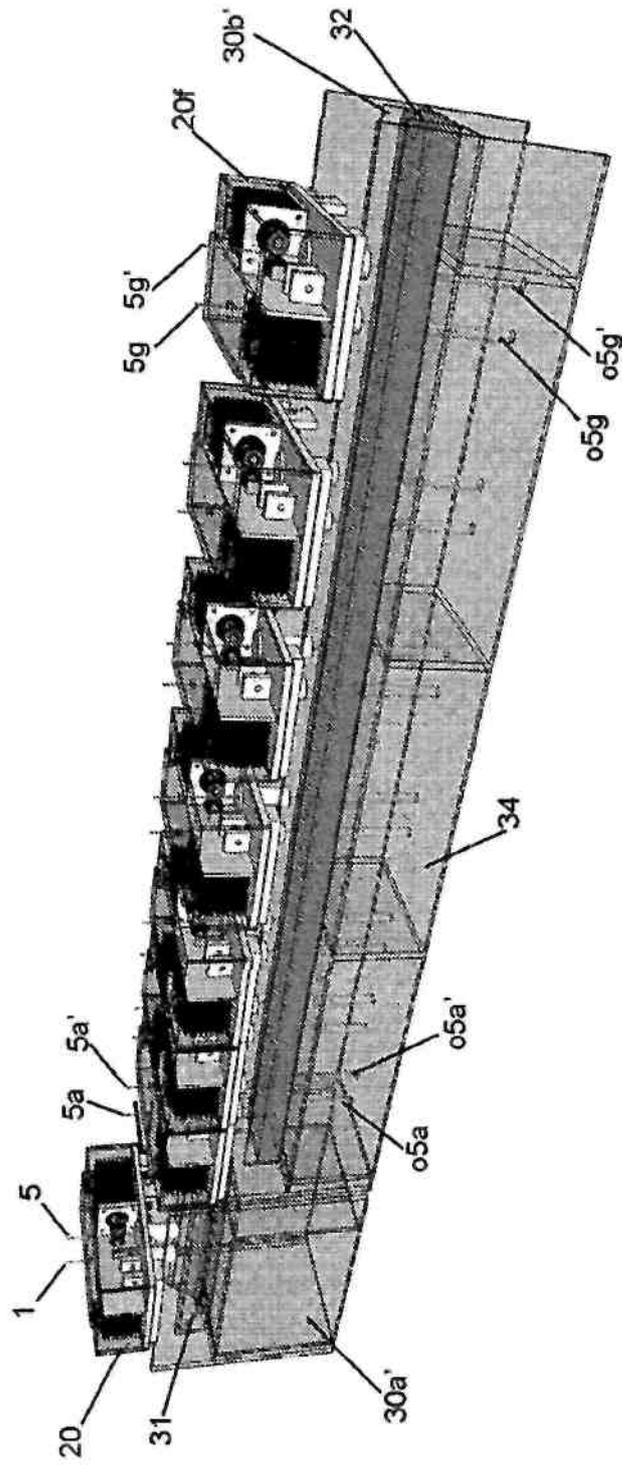


FIG. 21F

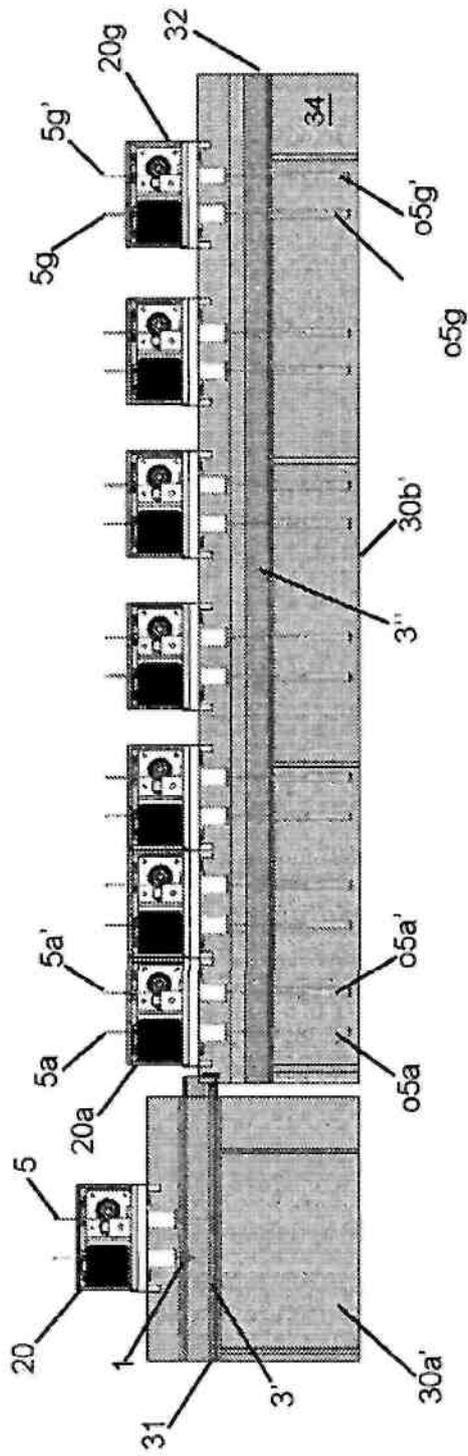


FIG. 21G

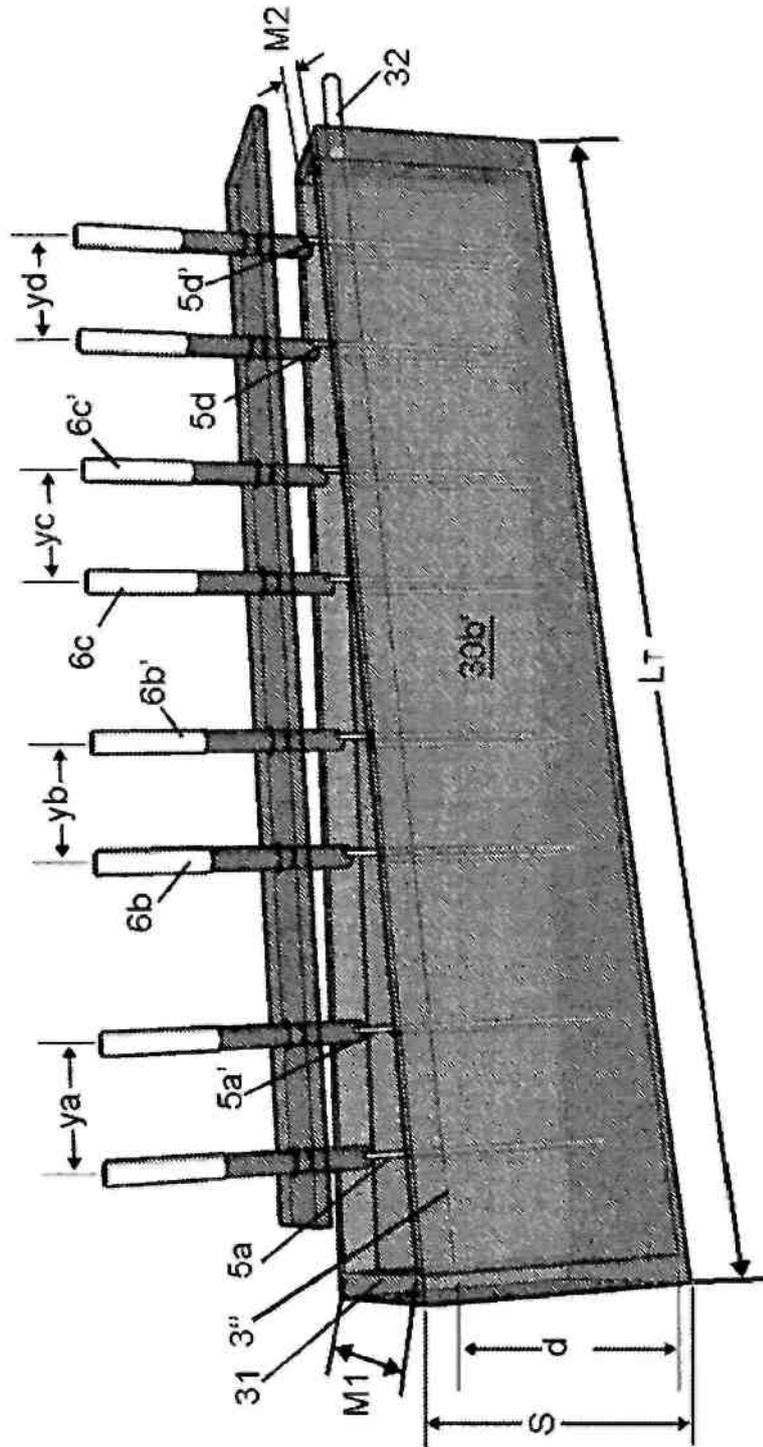


FIG. 22A

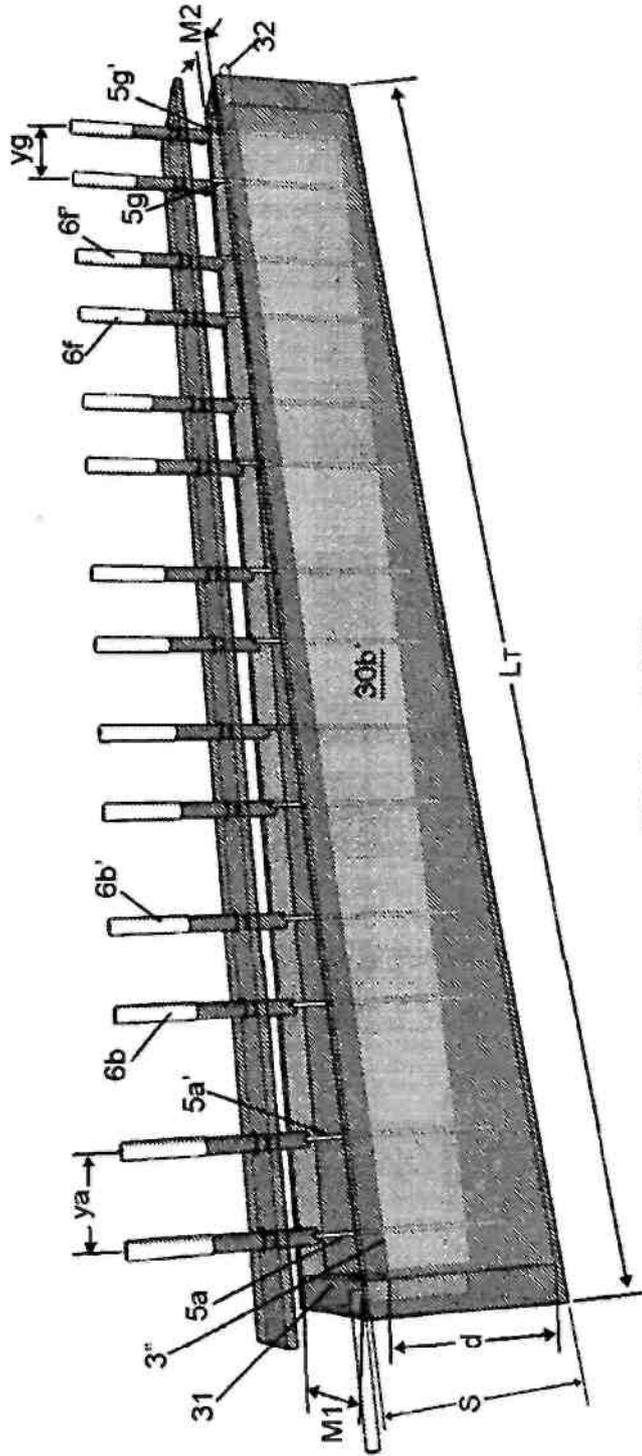


FIG. 22B

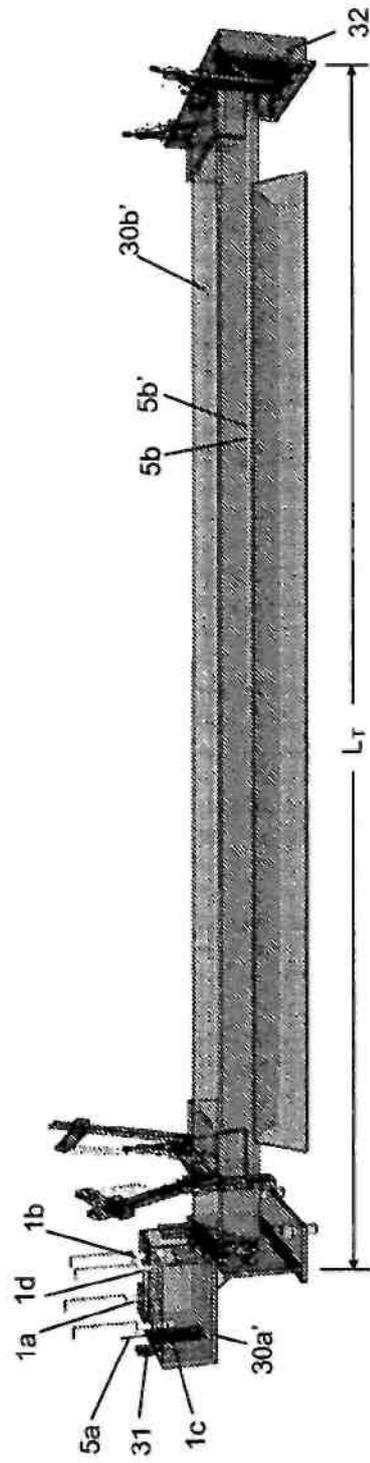


FIG. 23B

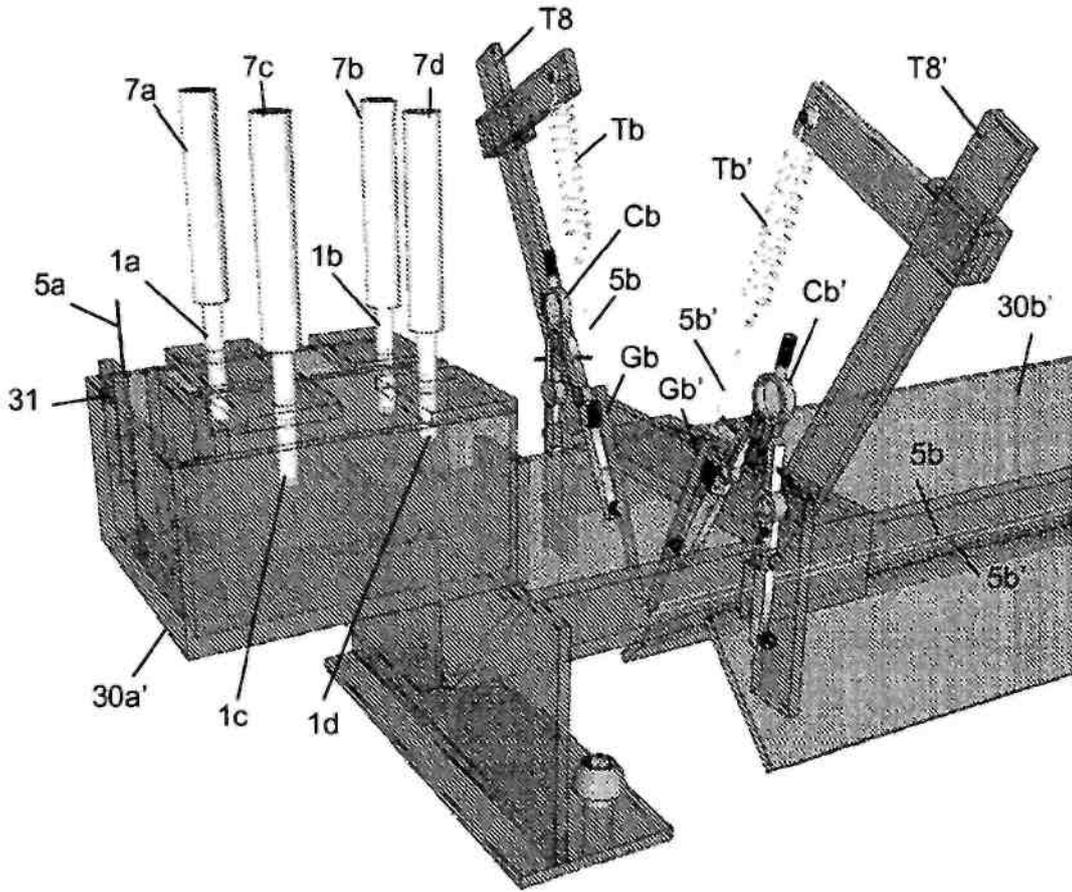


FIG. 23C

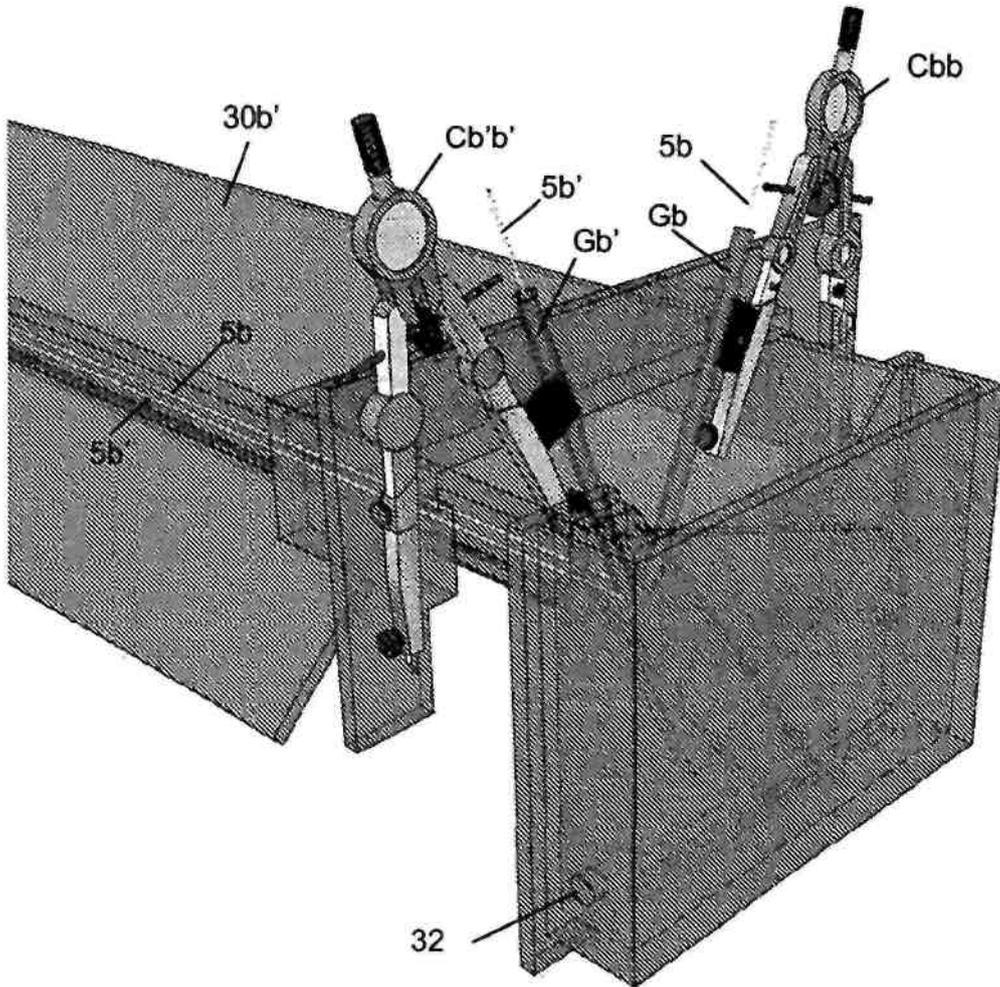


FIG. 23D

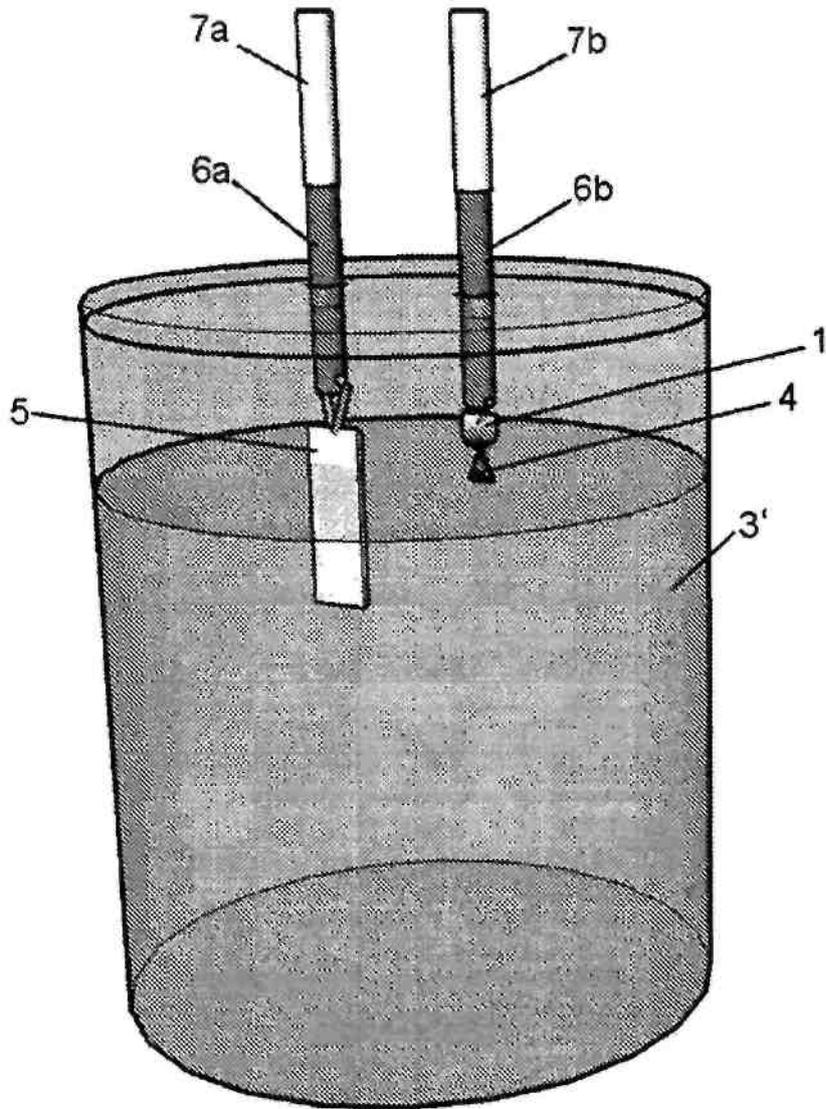


FIG. 24A

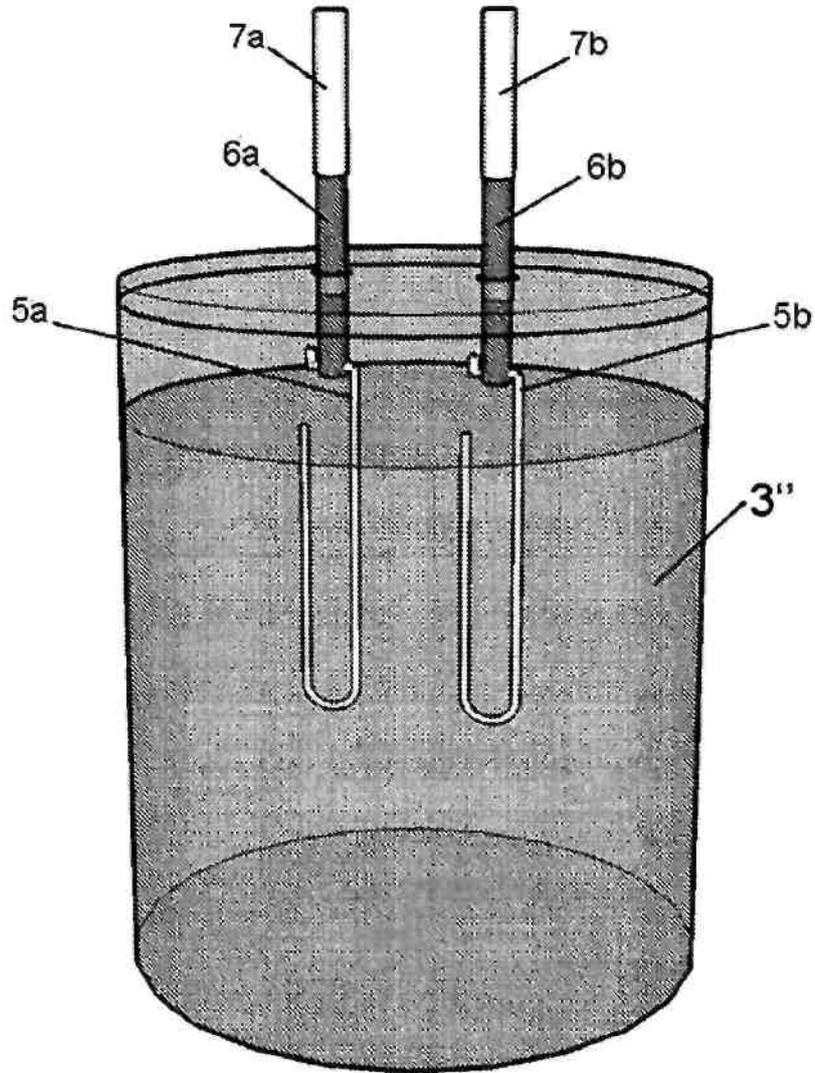


FIG. 24B

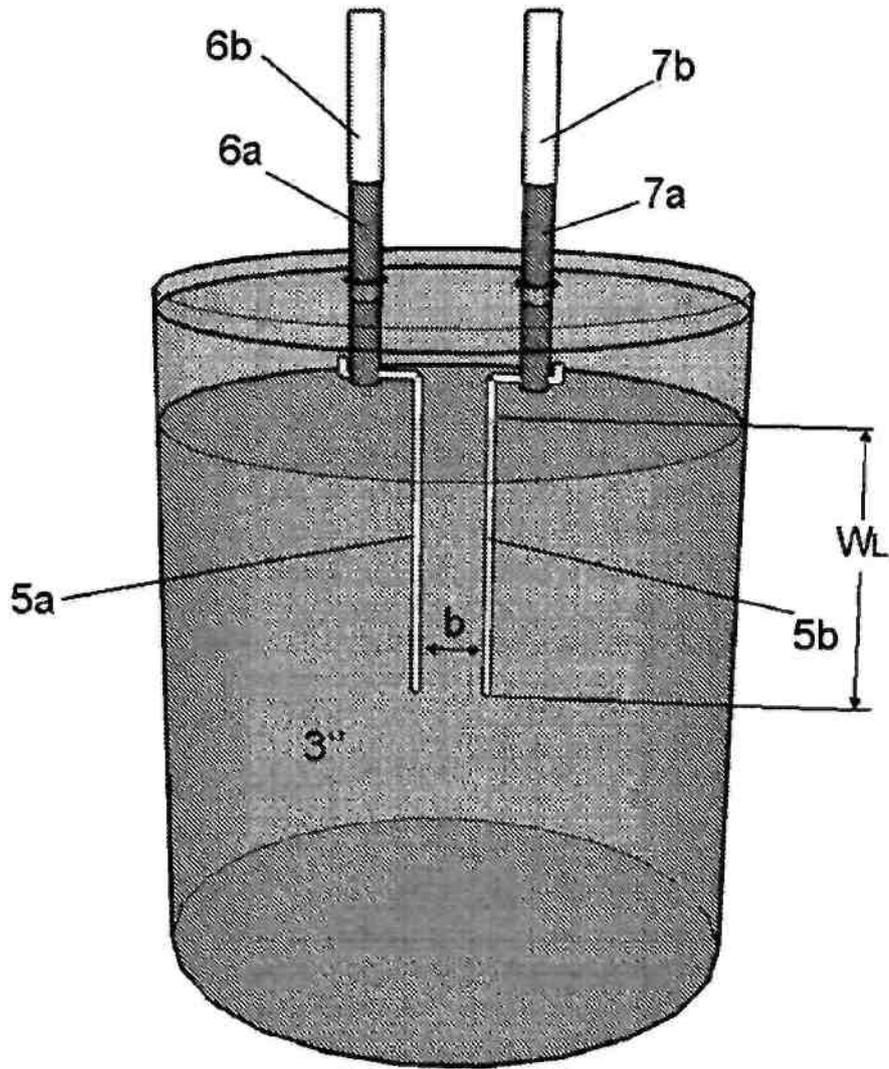


FIG. 24C

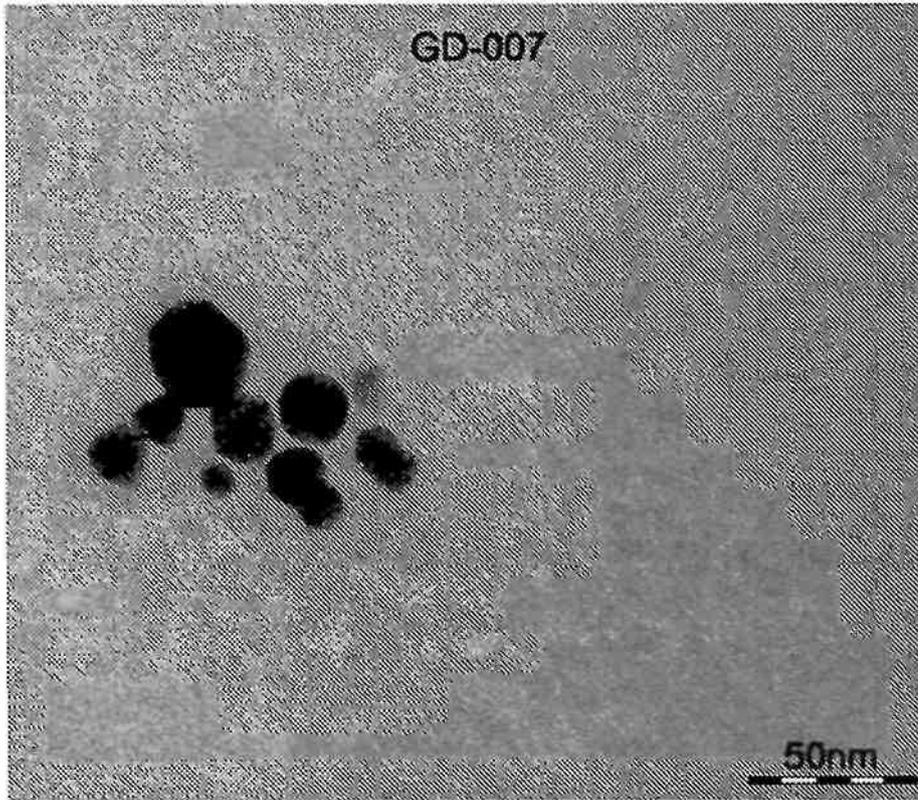


FIG. 25A

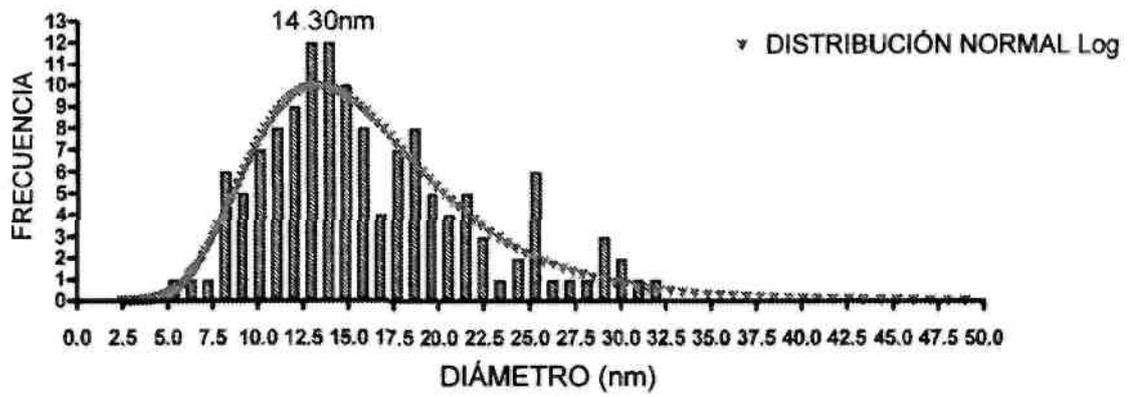


FIG. 25B

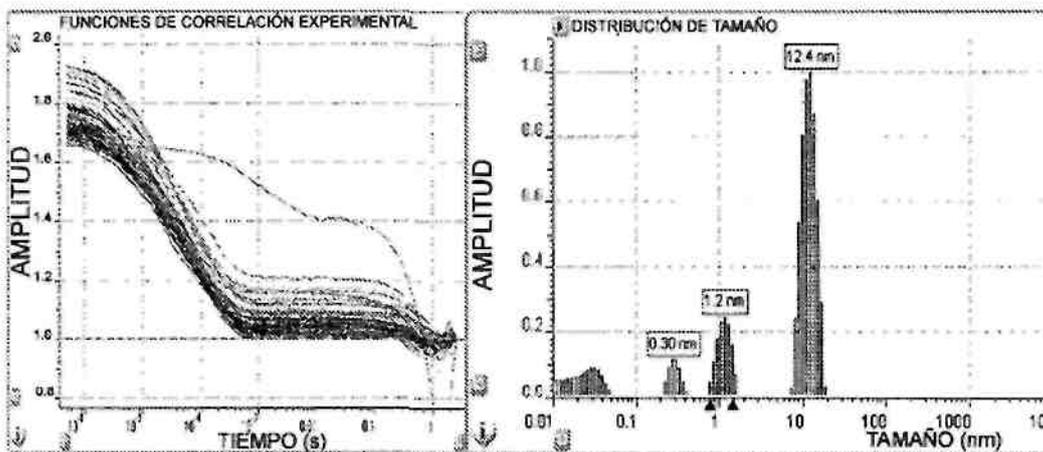


FIG. 25C

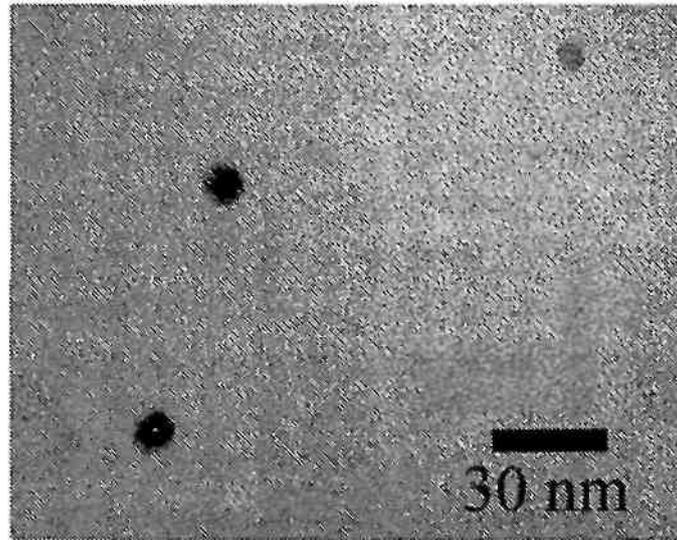


FIG. 25D

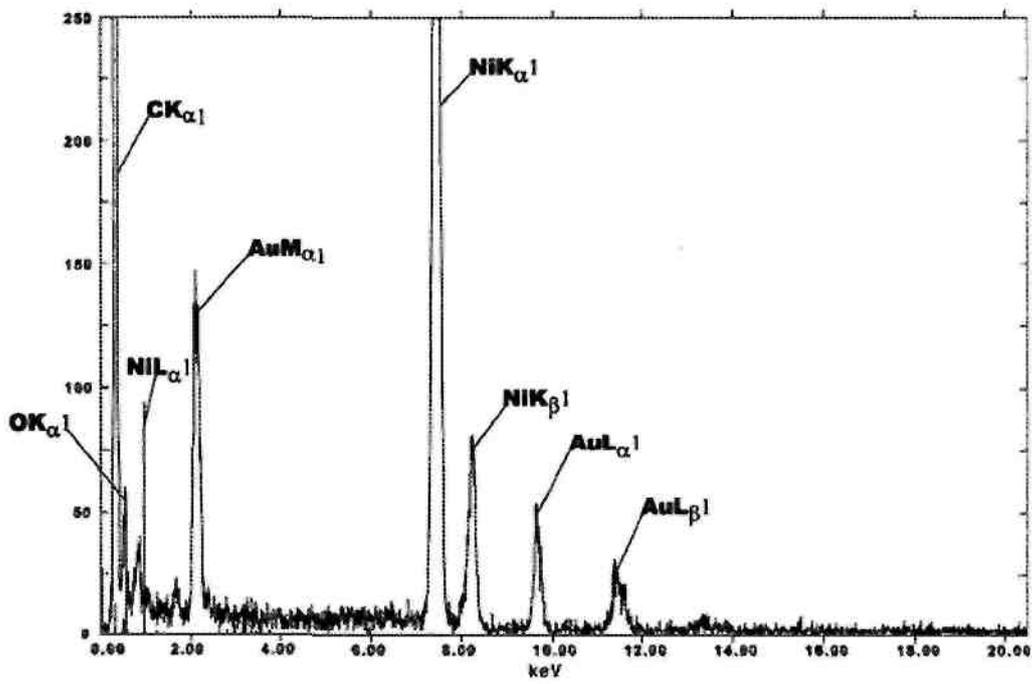


FIG. 25E

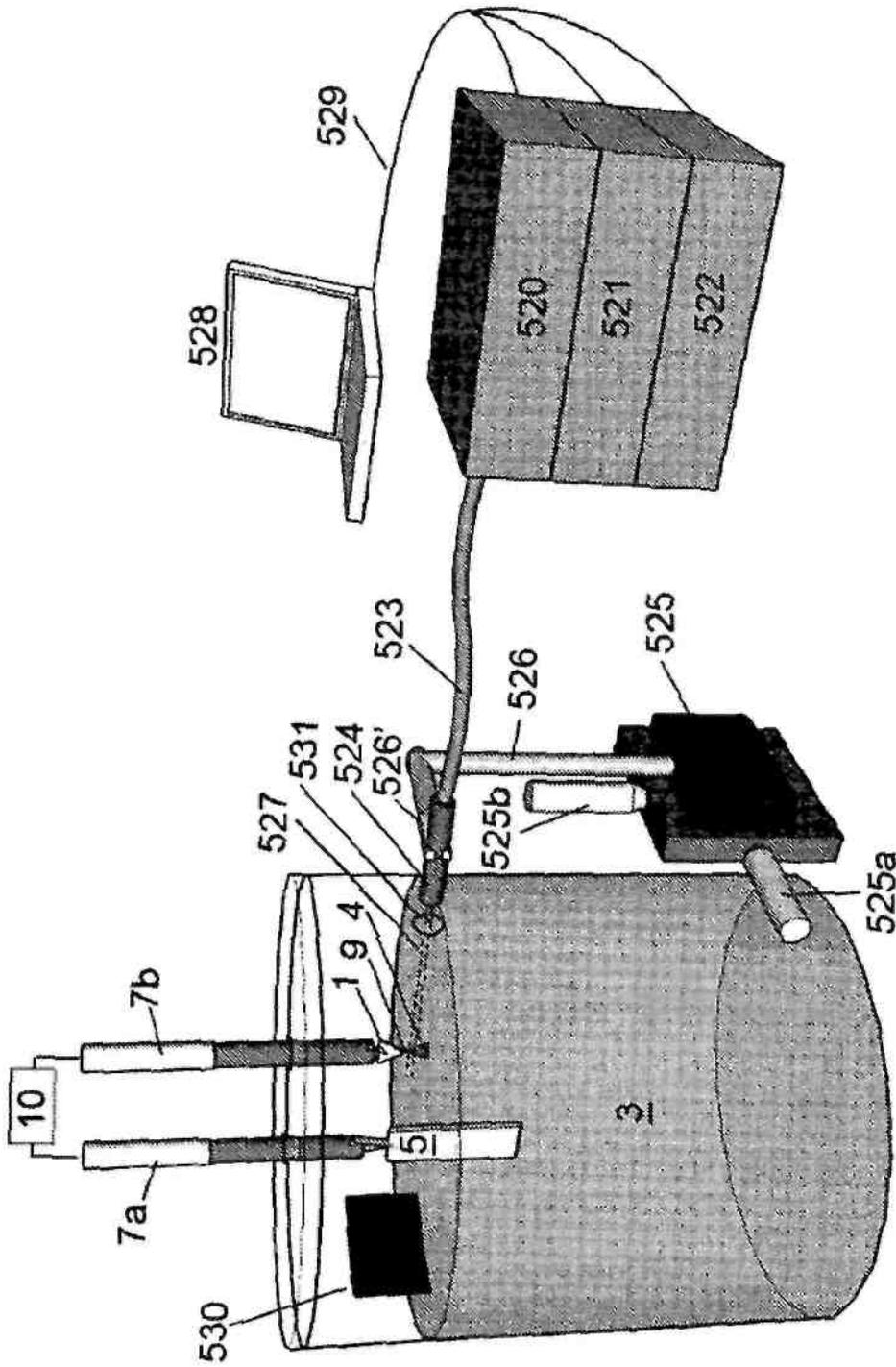


FIG. 25F

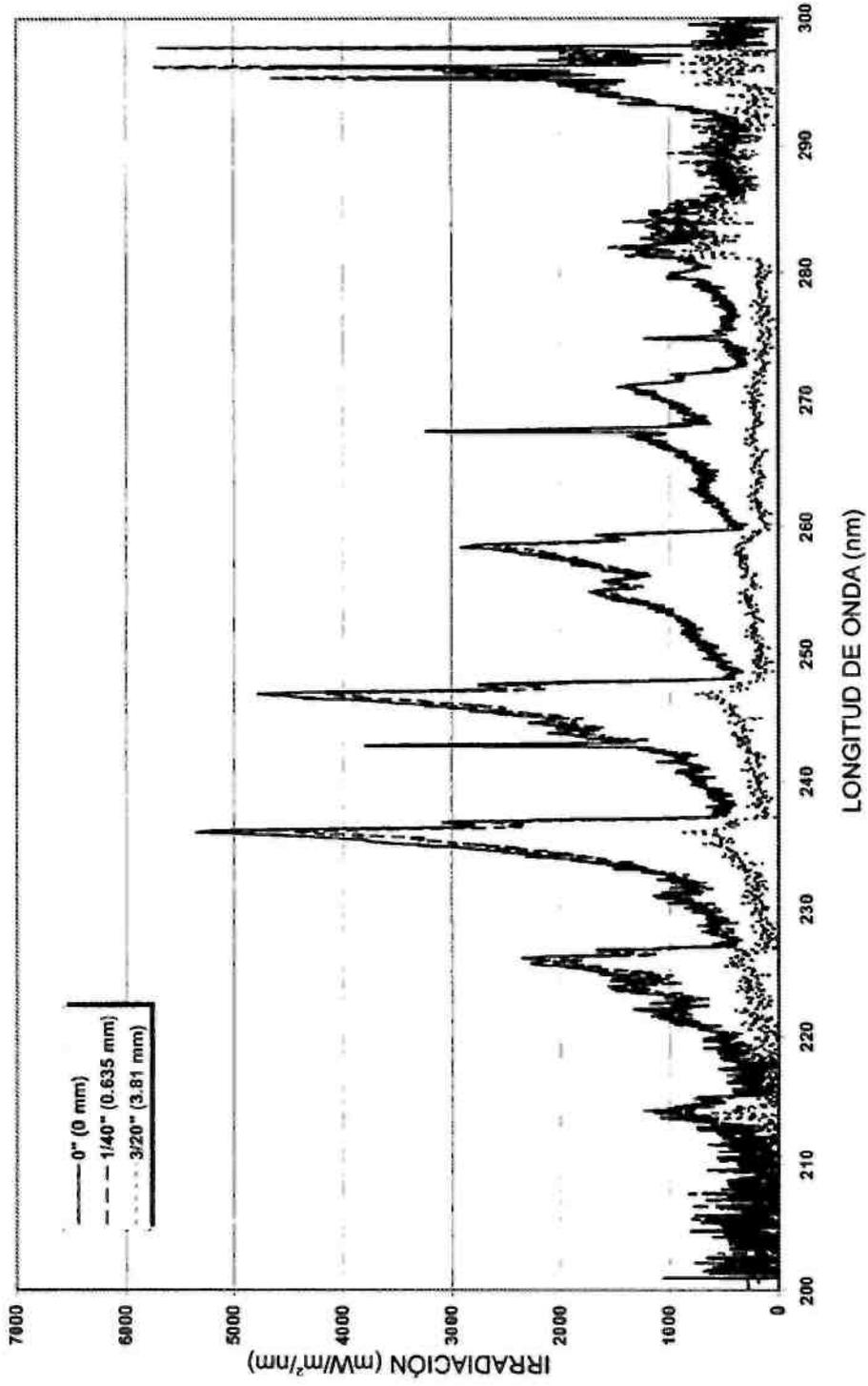


FIG. 25G

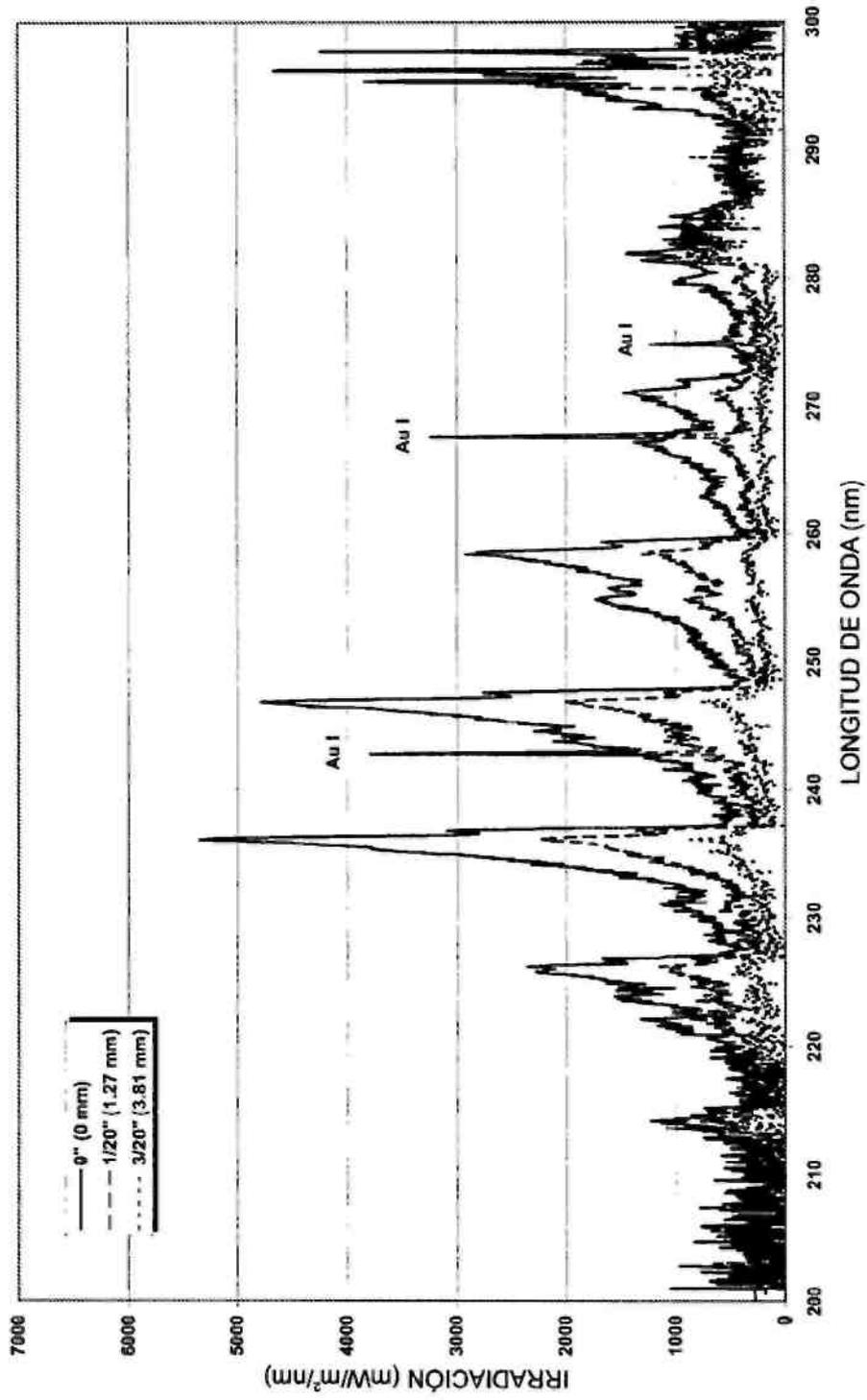


FIG. 25H

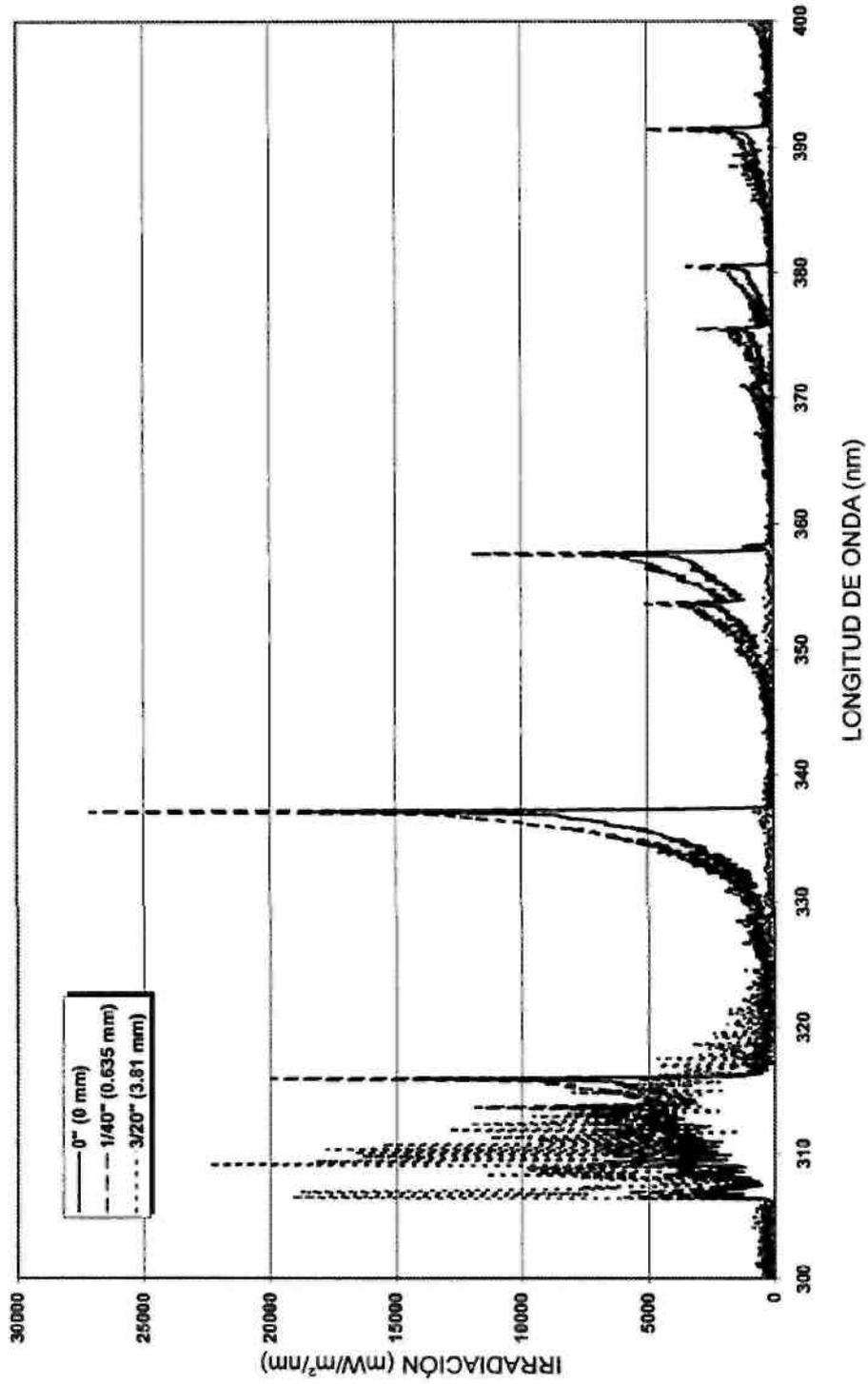


FIG. 25I

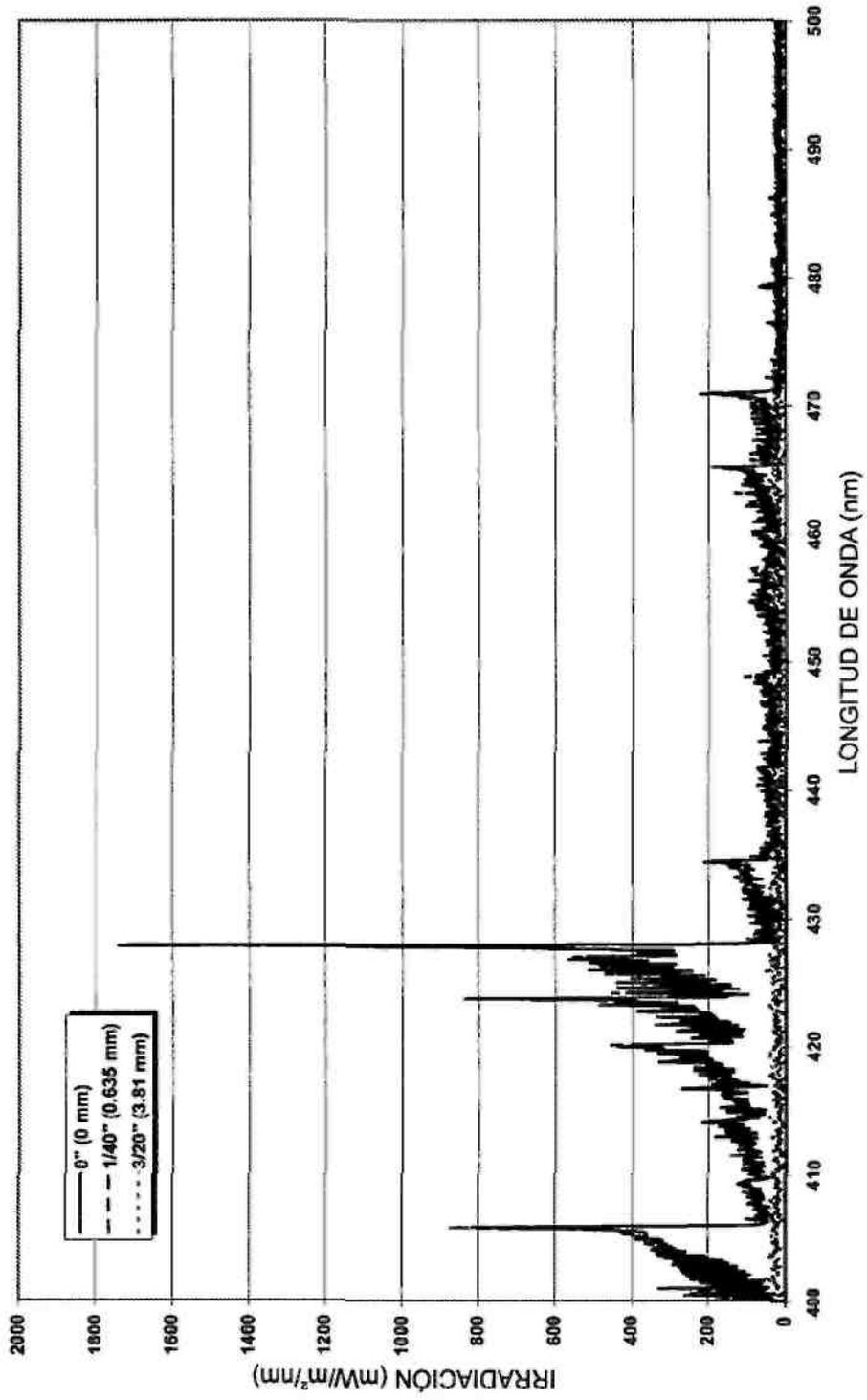


FIG. 25J

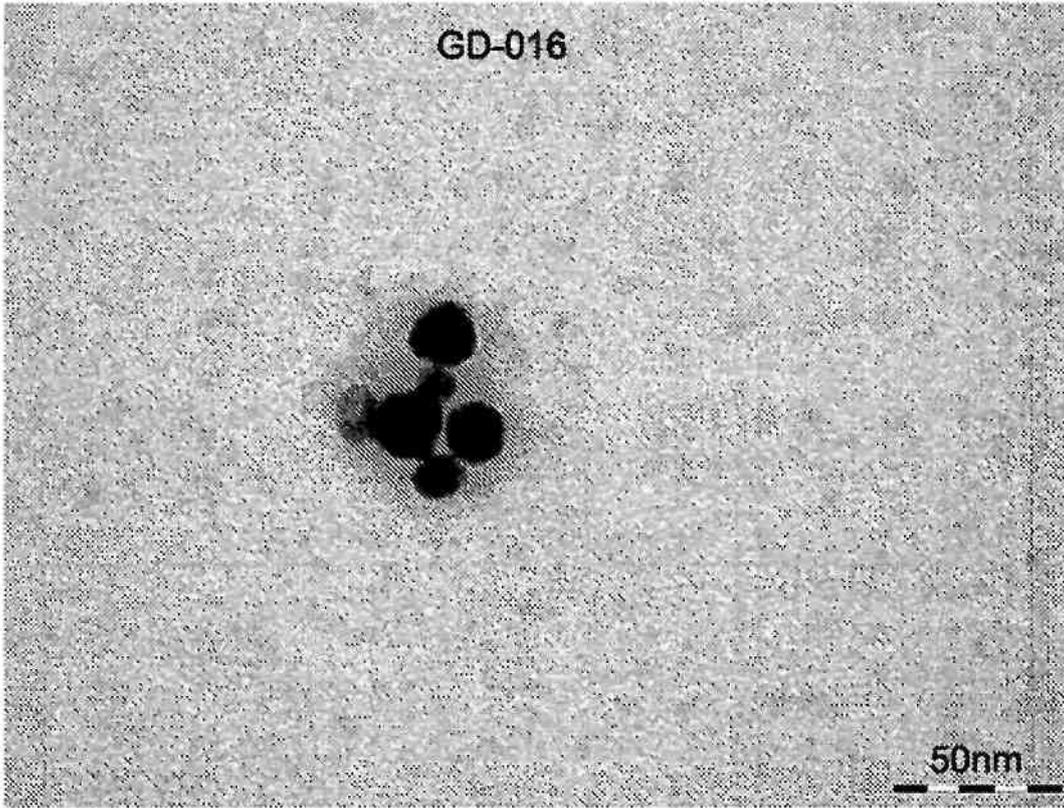


FIG. 26A

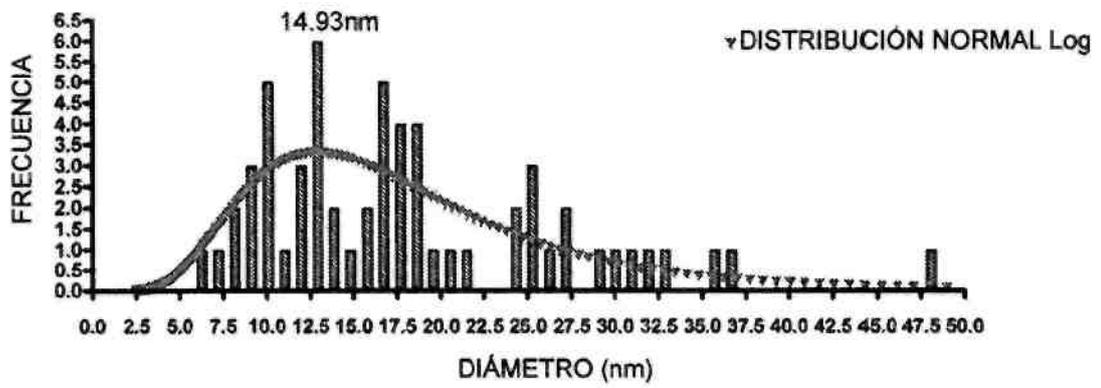


FIG. 26B

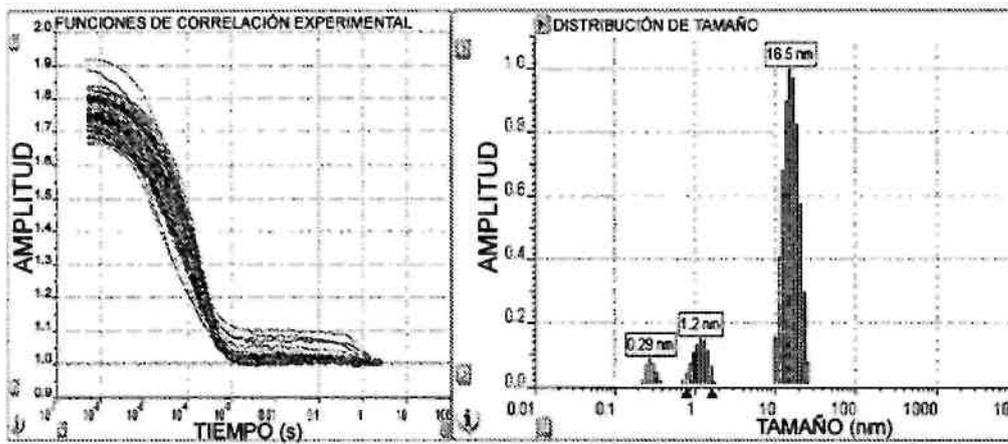


FIG. 26C

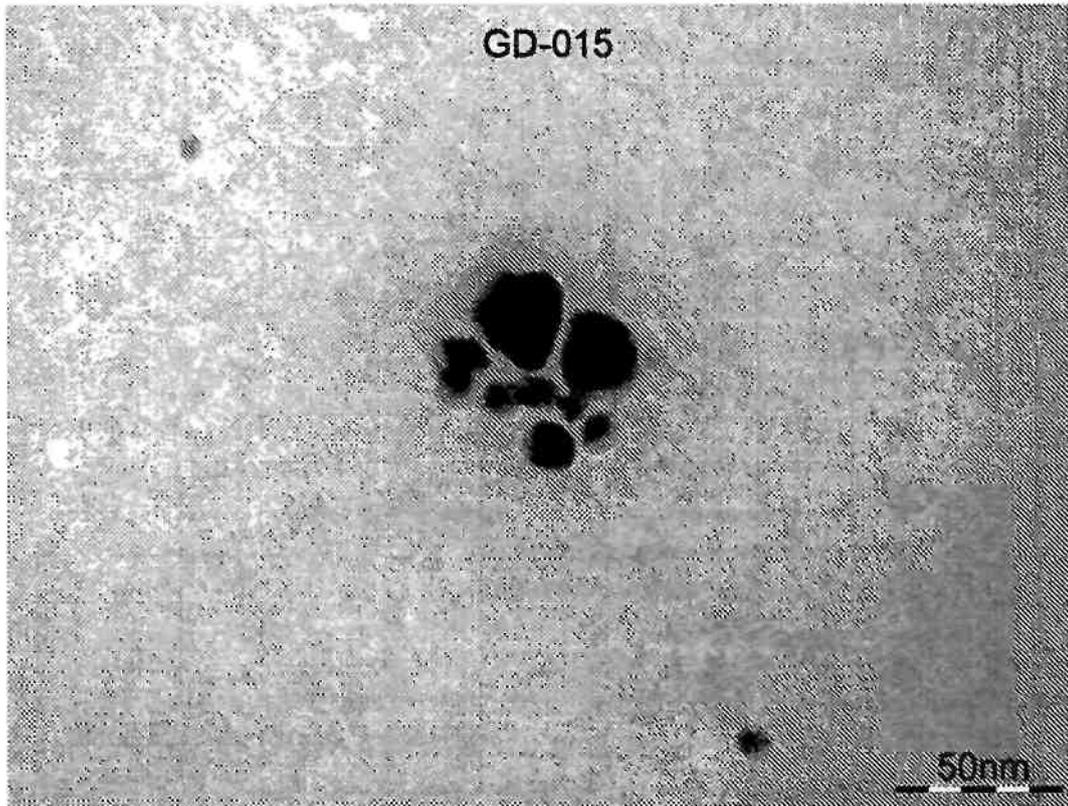


FIG. 27A

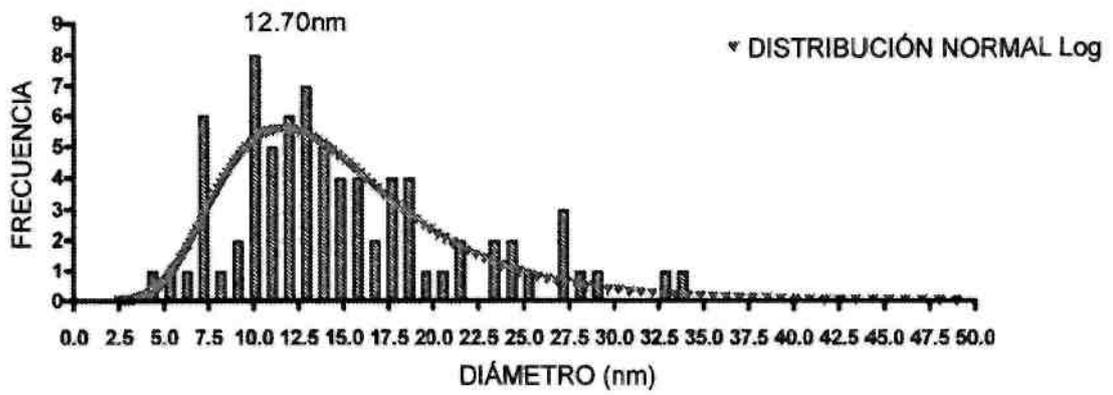


FIG. 27B

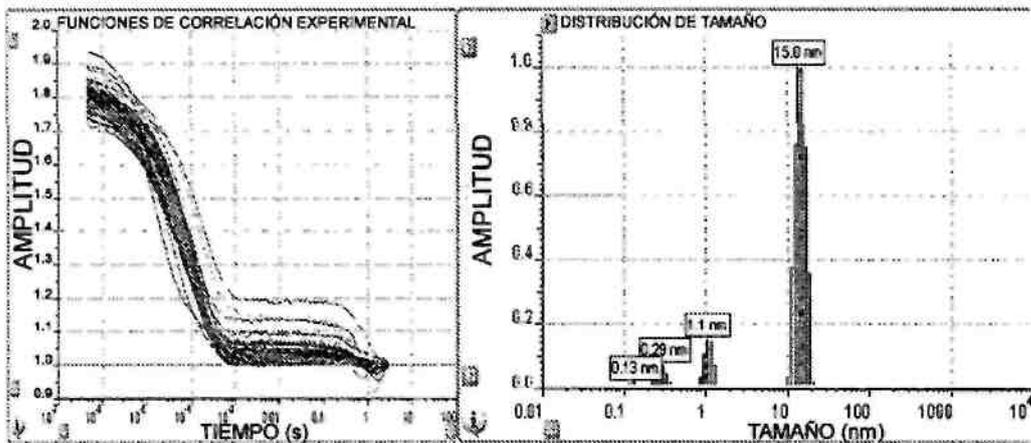


FIG. 27C

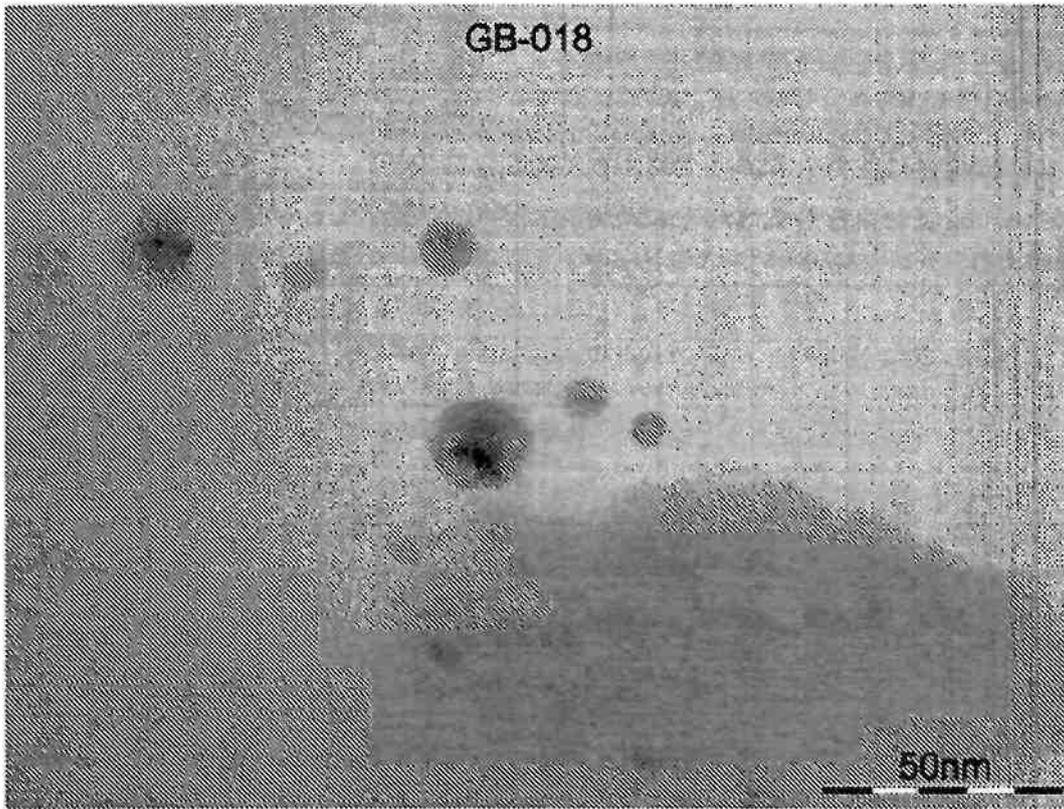


FIG. 28A

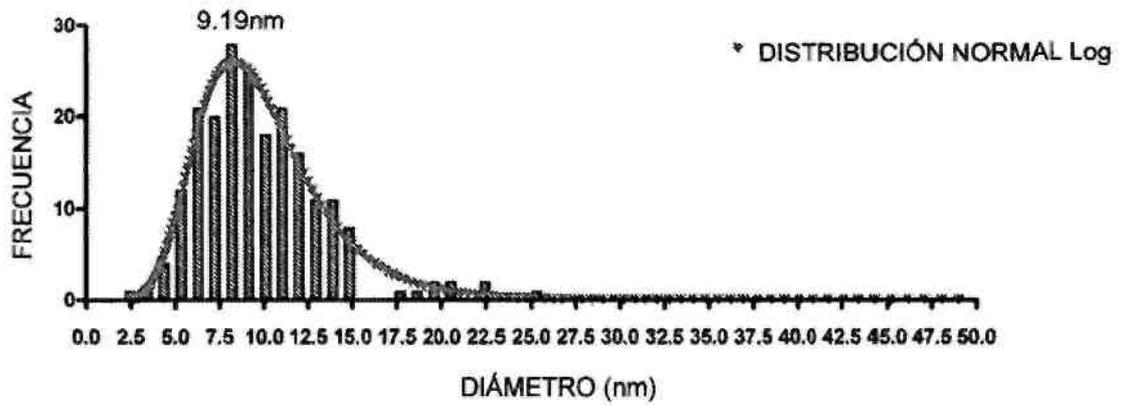


FIG. 28B

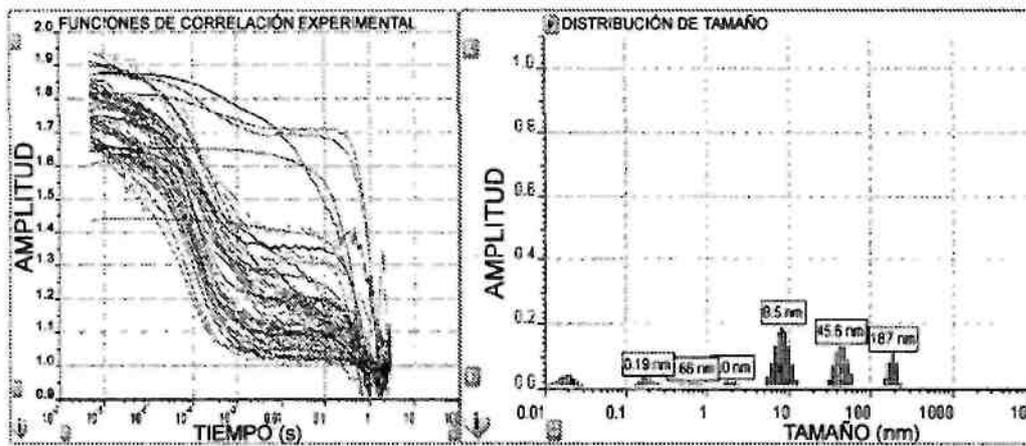


FIG. 28C

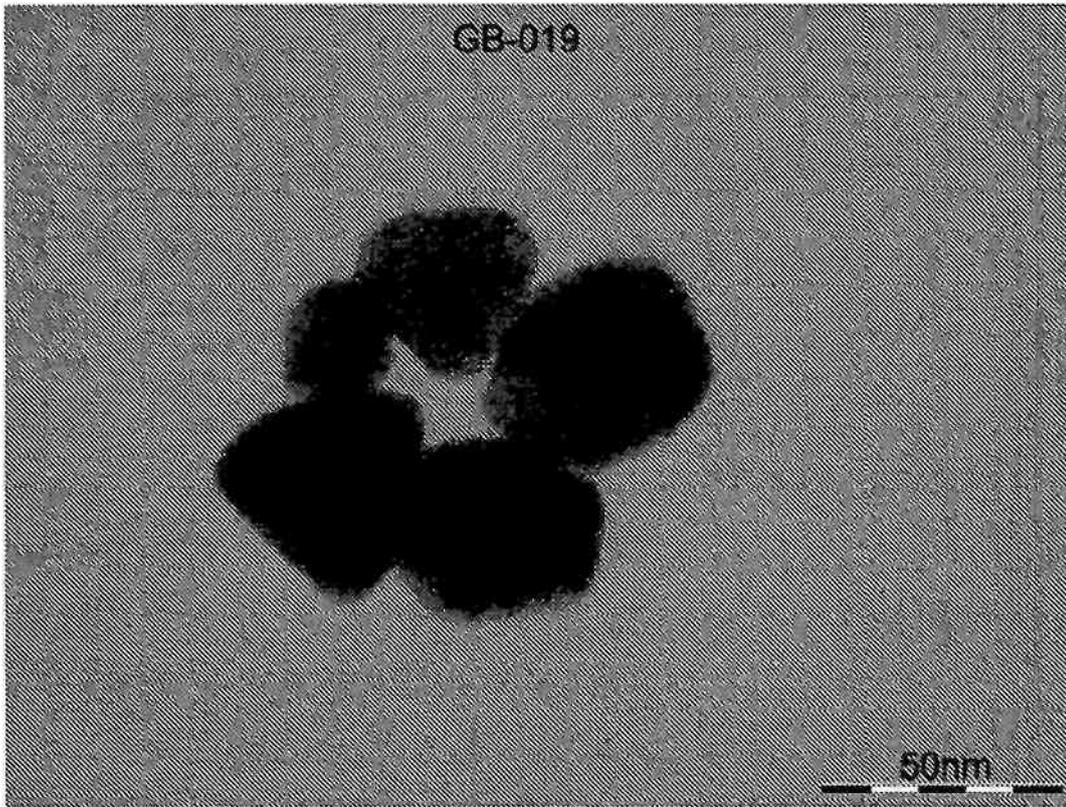


FIG. 29A

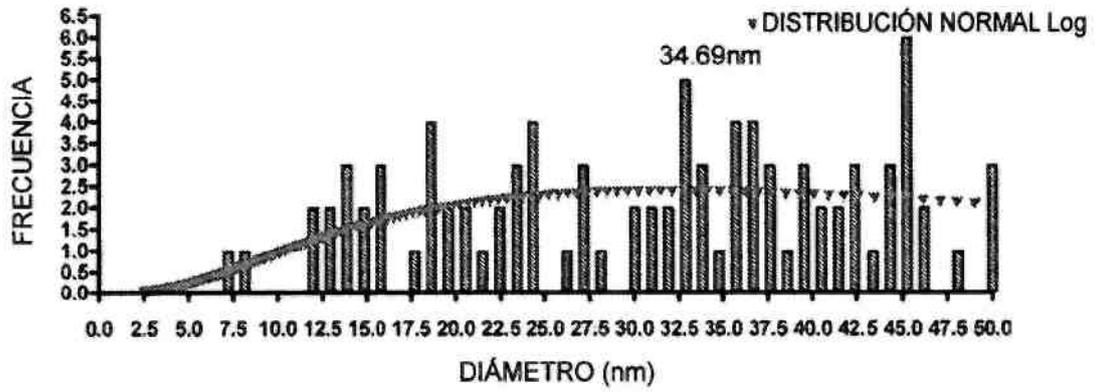


FIG. 29B

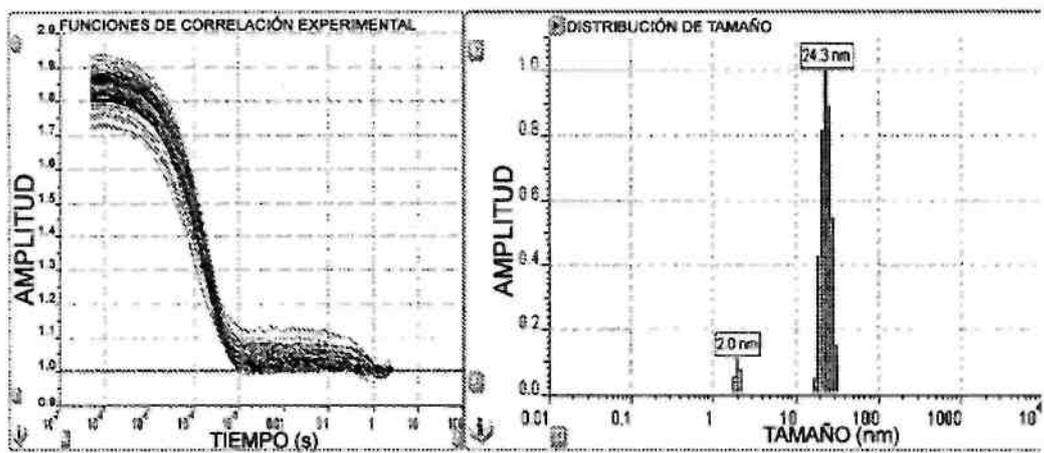


FIG. 29C

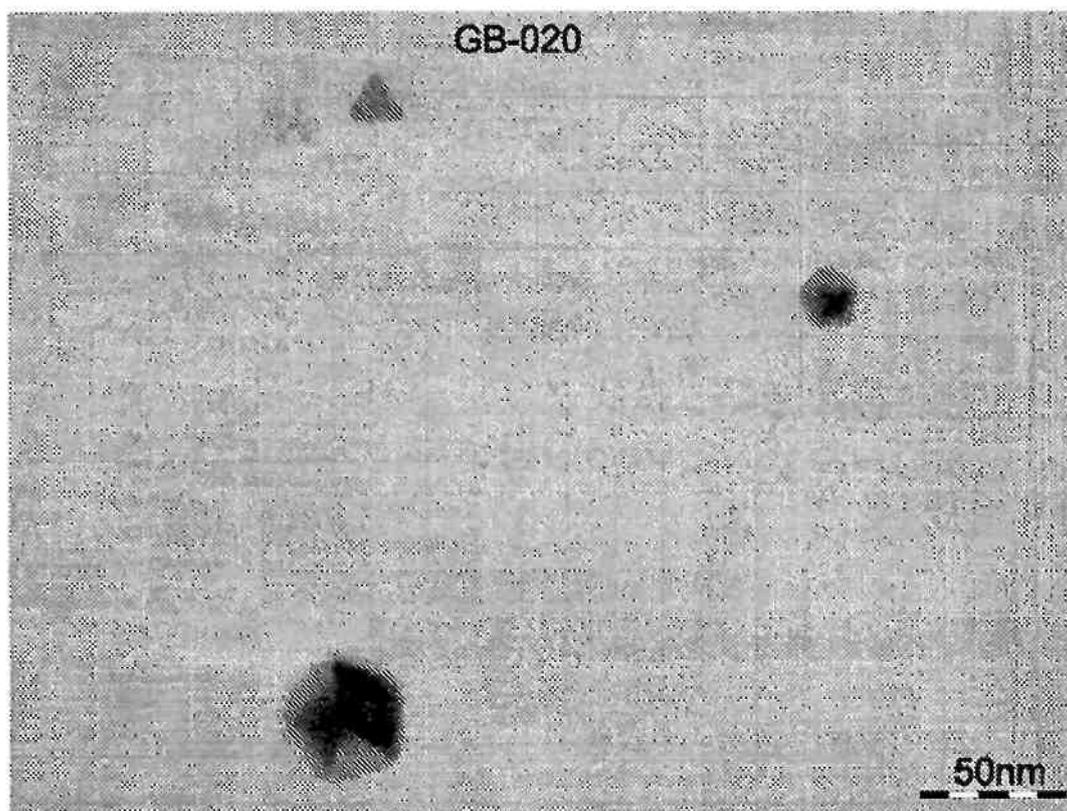


FIG. 30A

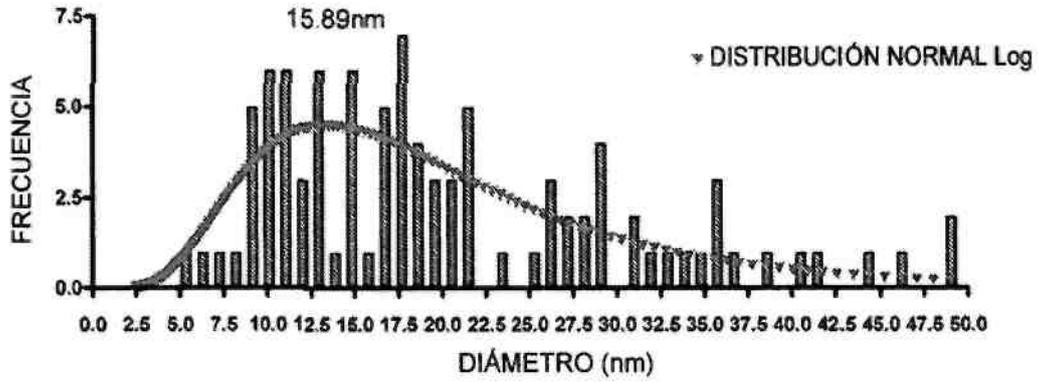


FIG. 30B

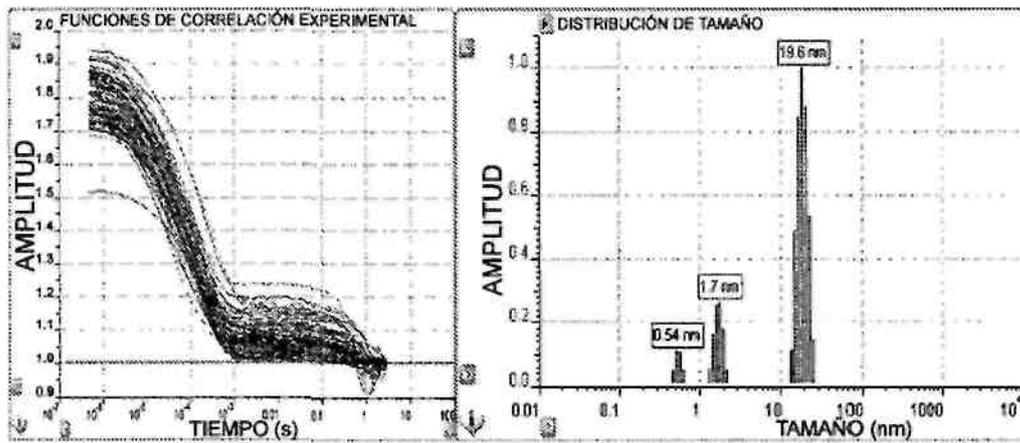


FIG. 30C

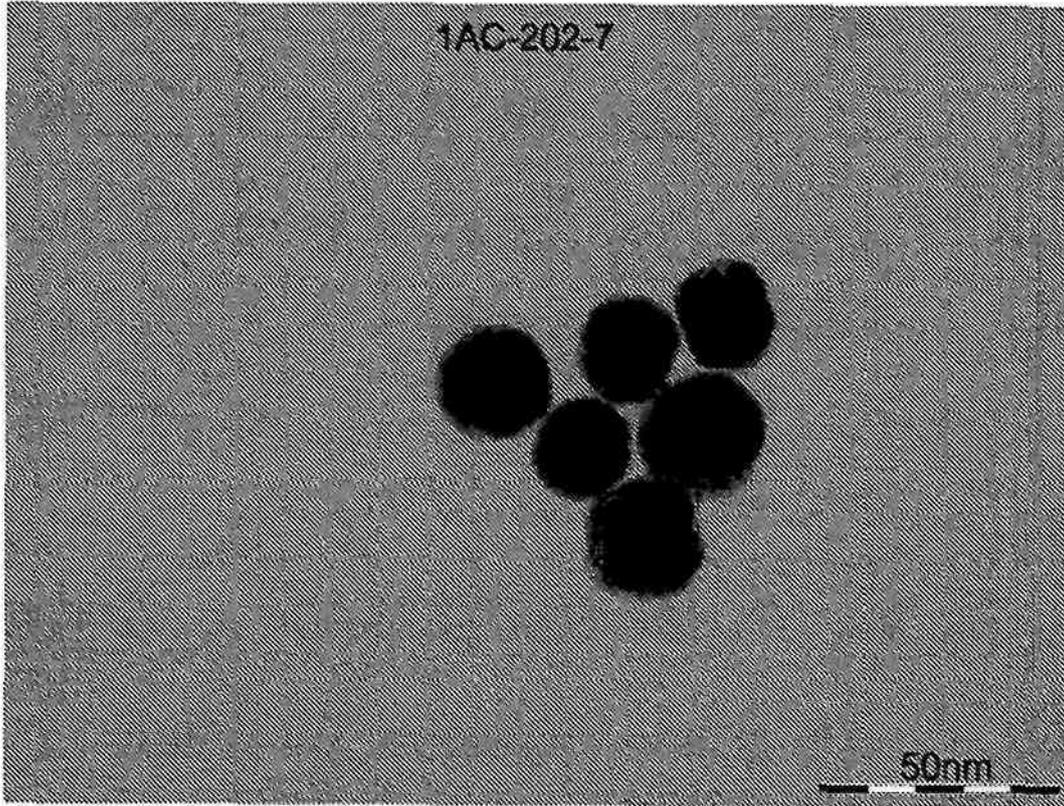


FIG. 31A

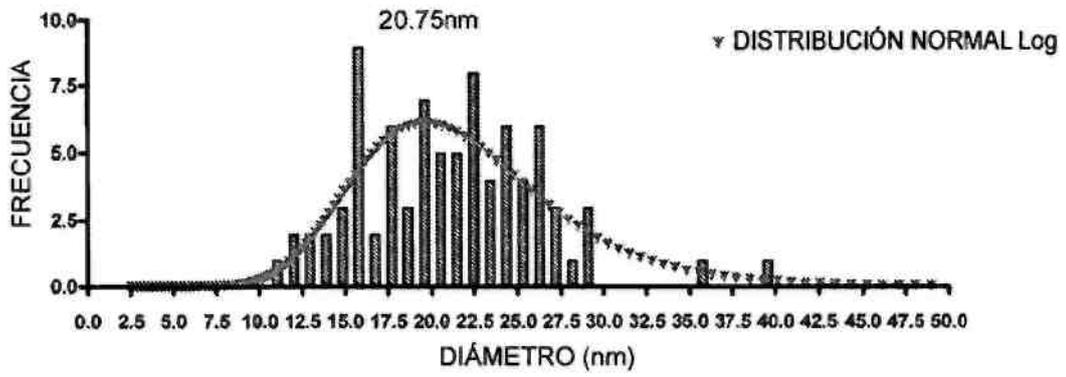


FIG. 31B

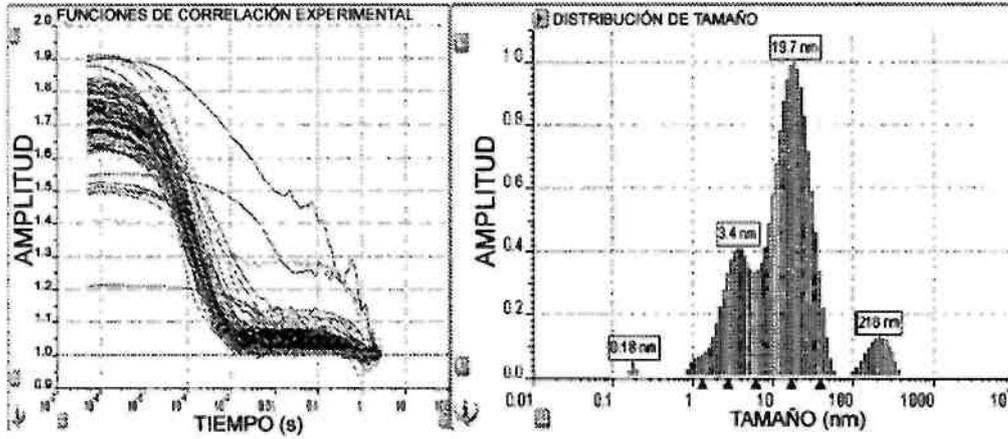


FIG. 31C

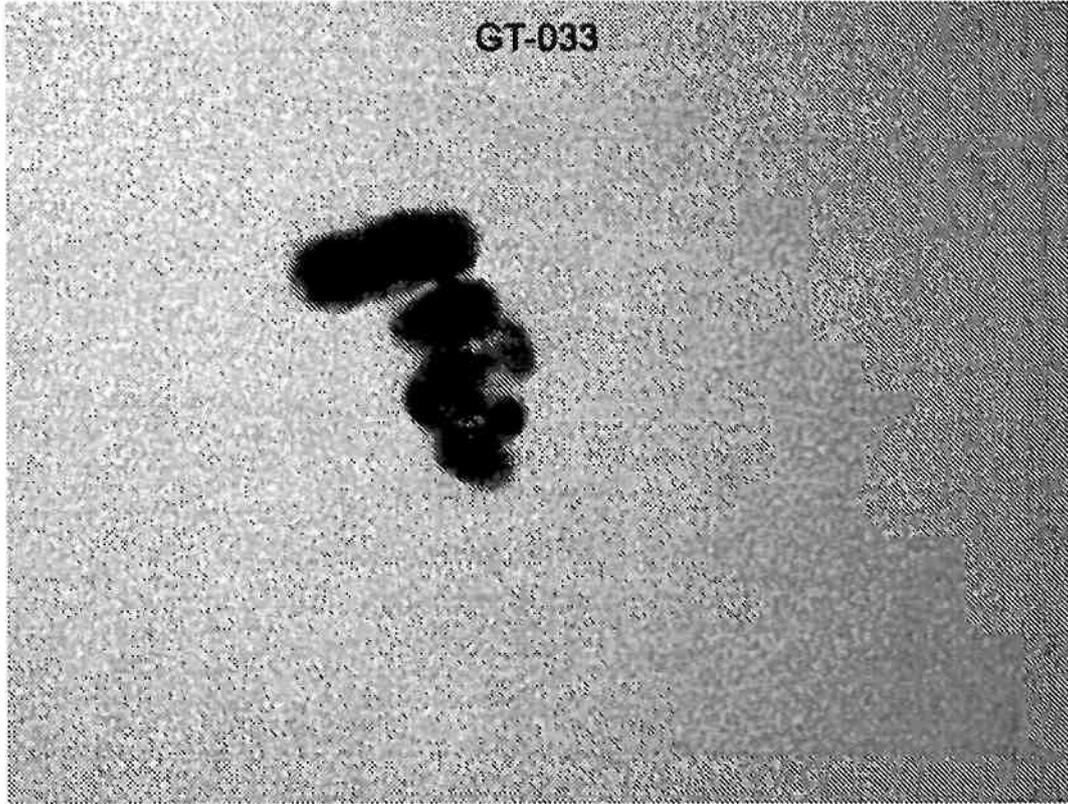


FIG. 32A

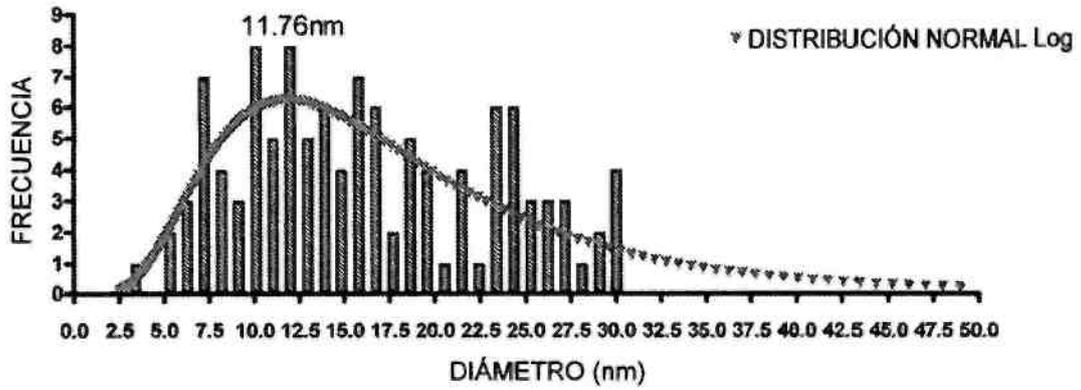


FIG. 32B

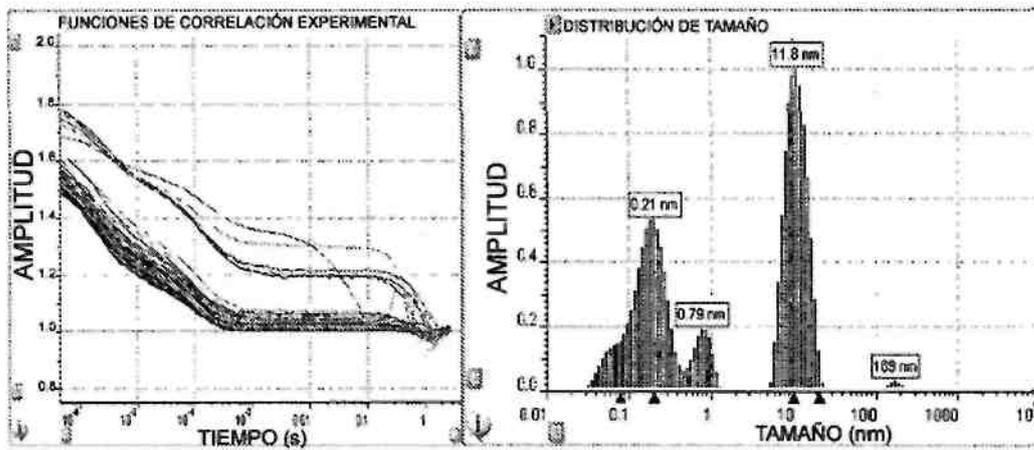


FIG. 32C

AC-261-1

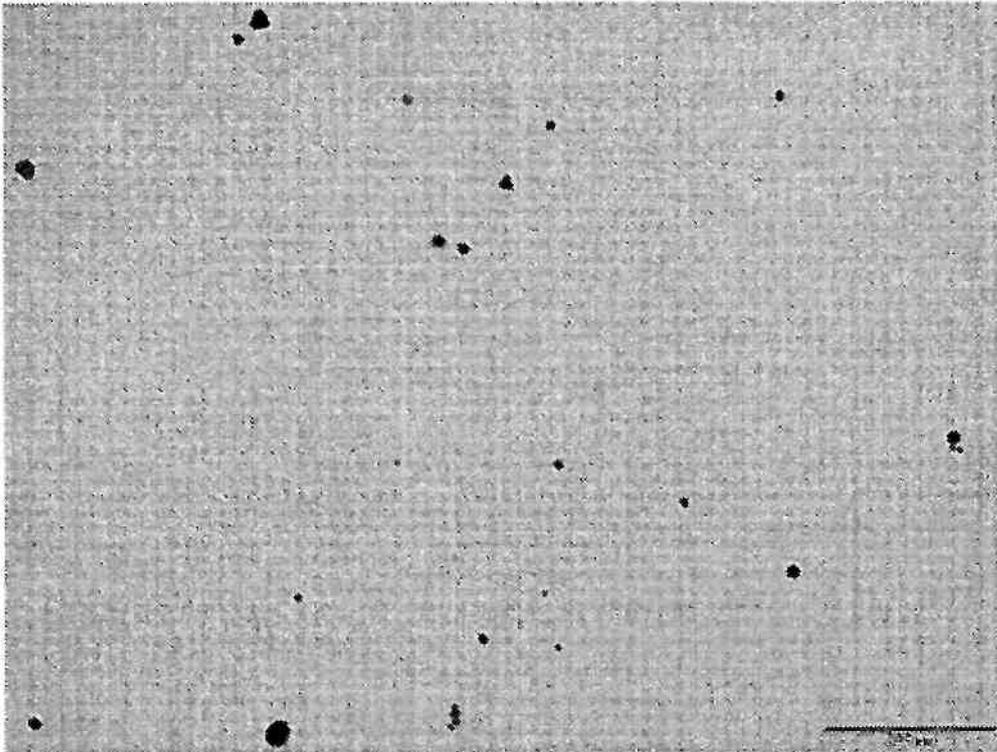


FIG. 33A

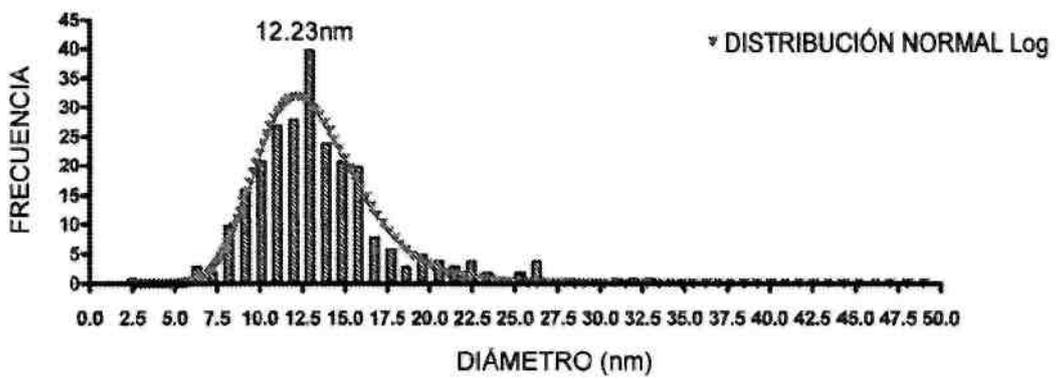


FIG. 33B

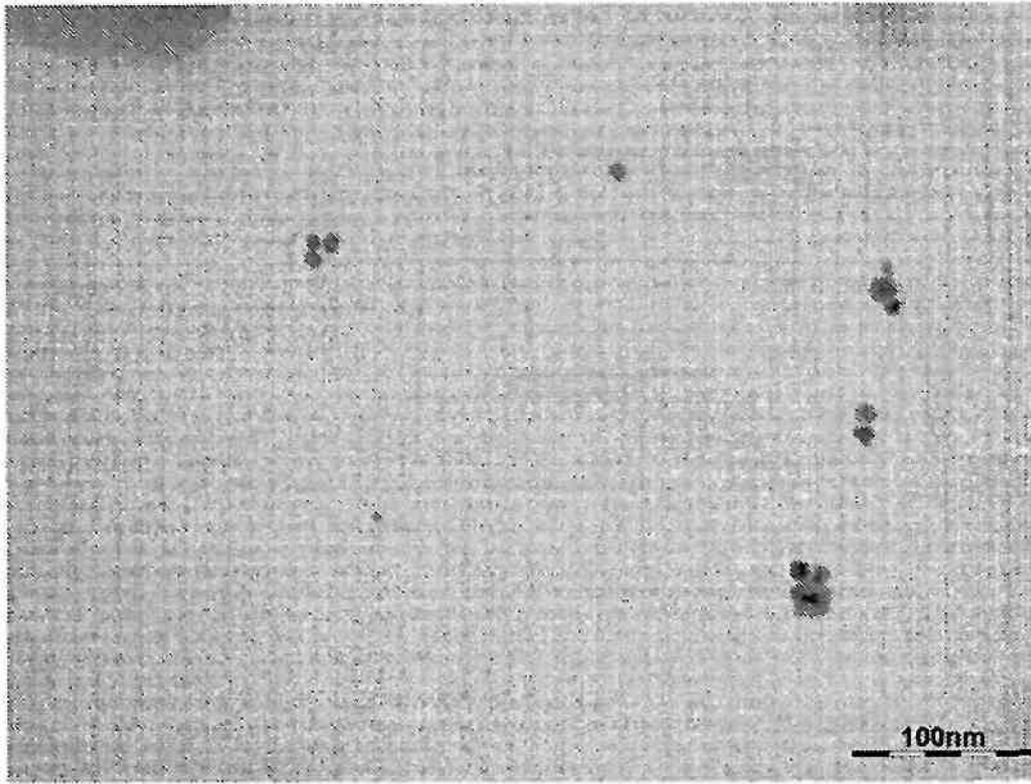


FIG. 34A

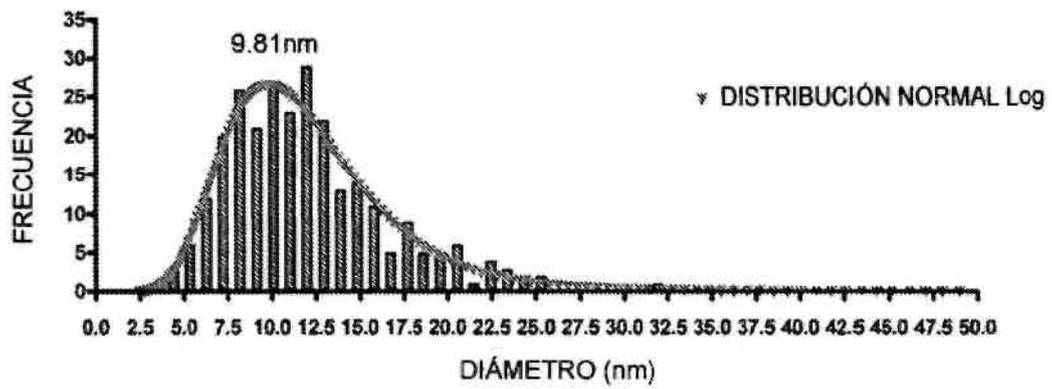


FIG. 34B

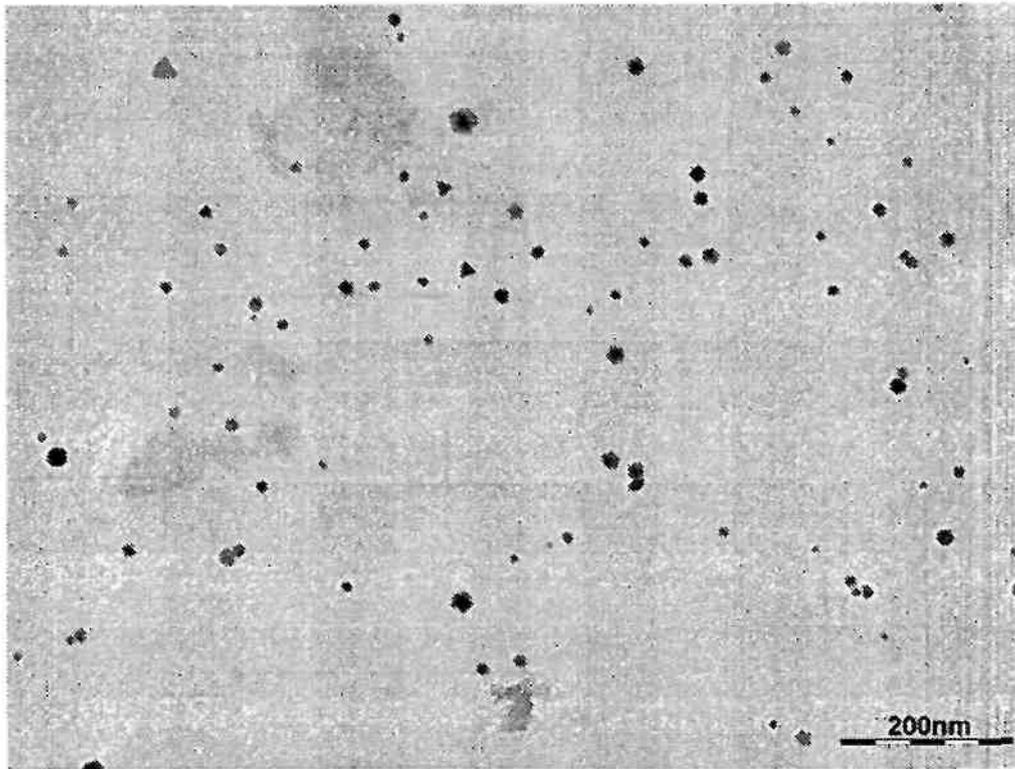


FIG. 35A

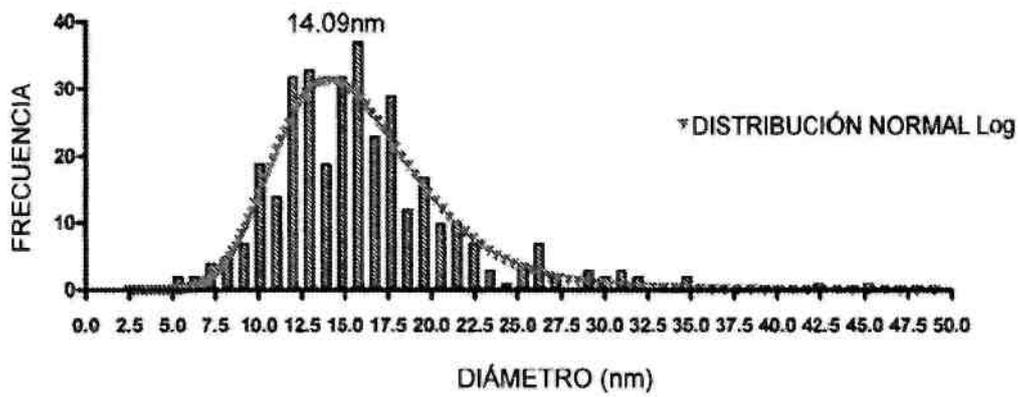


FIG. 35B

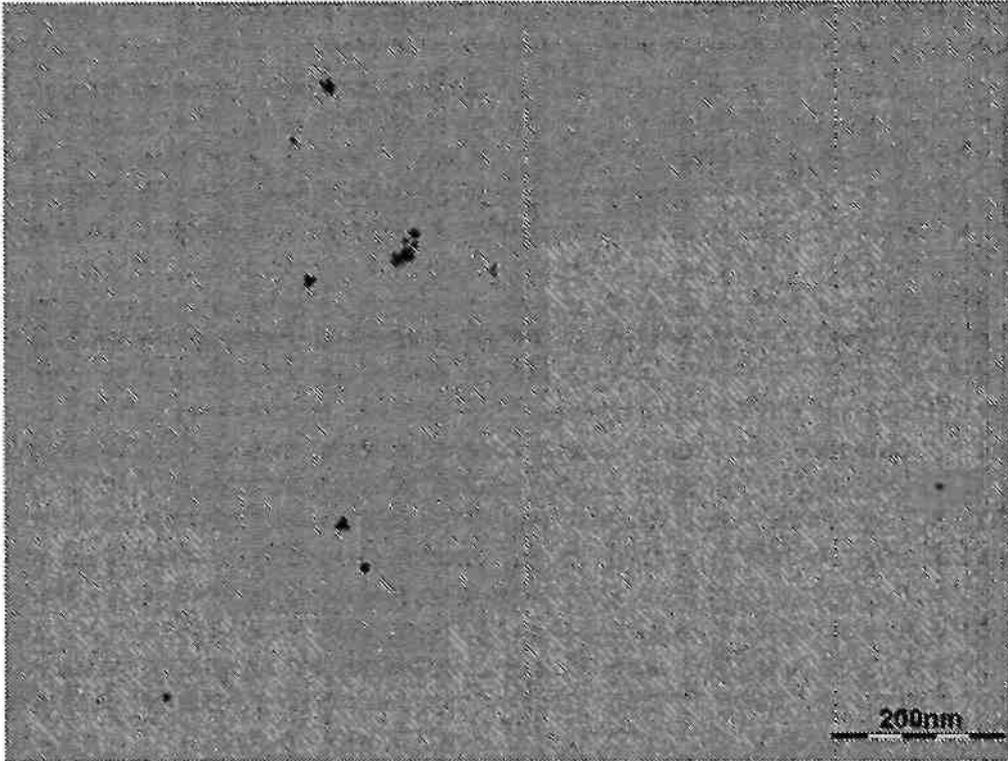


FIG. 36A

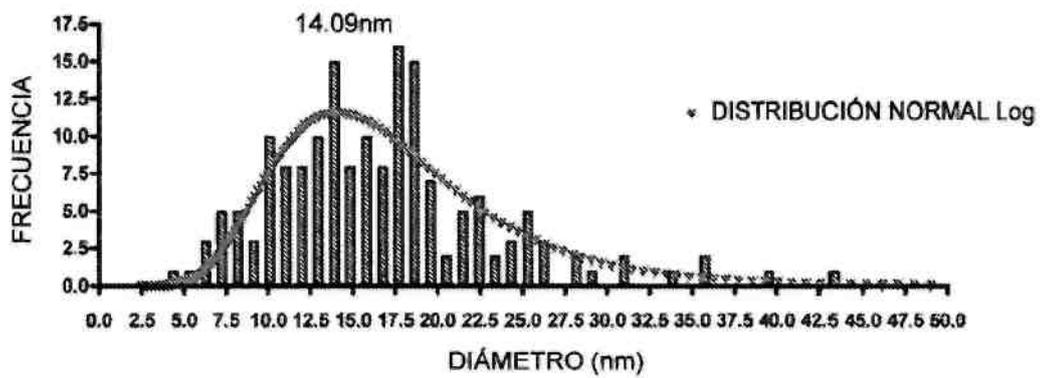


FIG. 36B

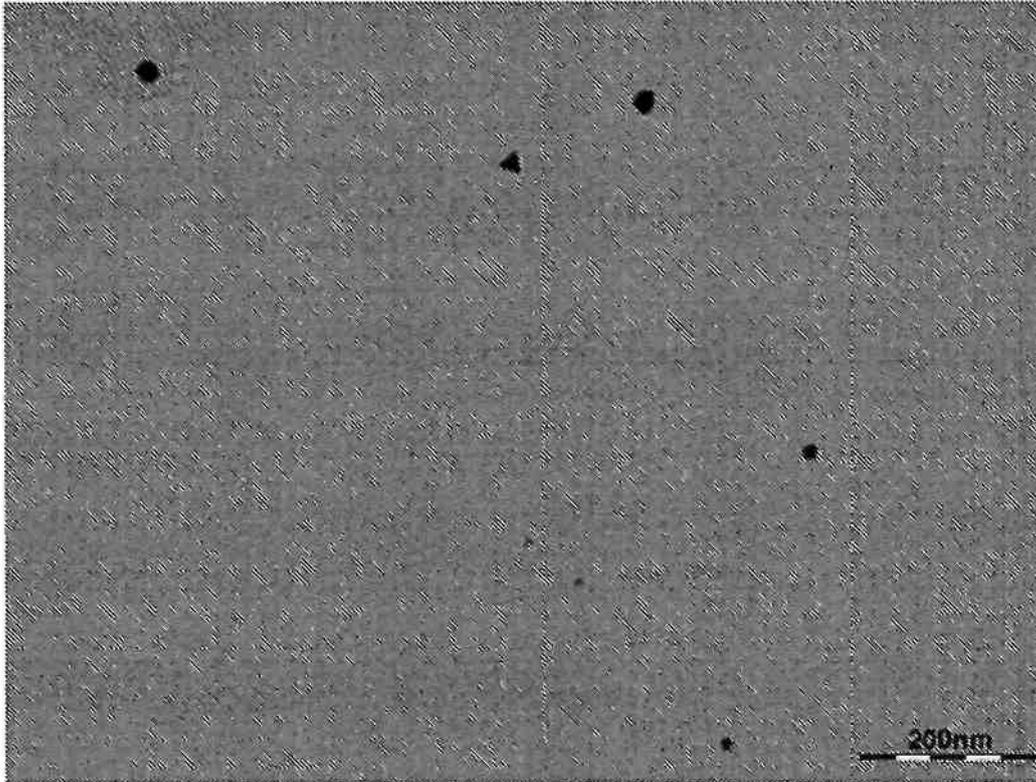


FIG. 37A

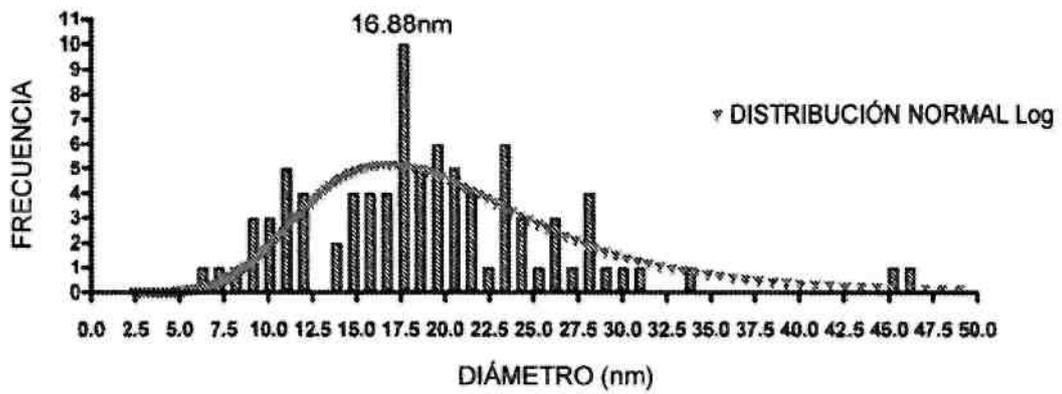


FIG. 37B

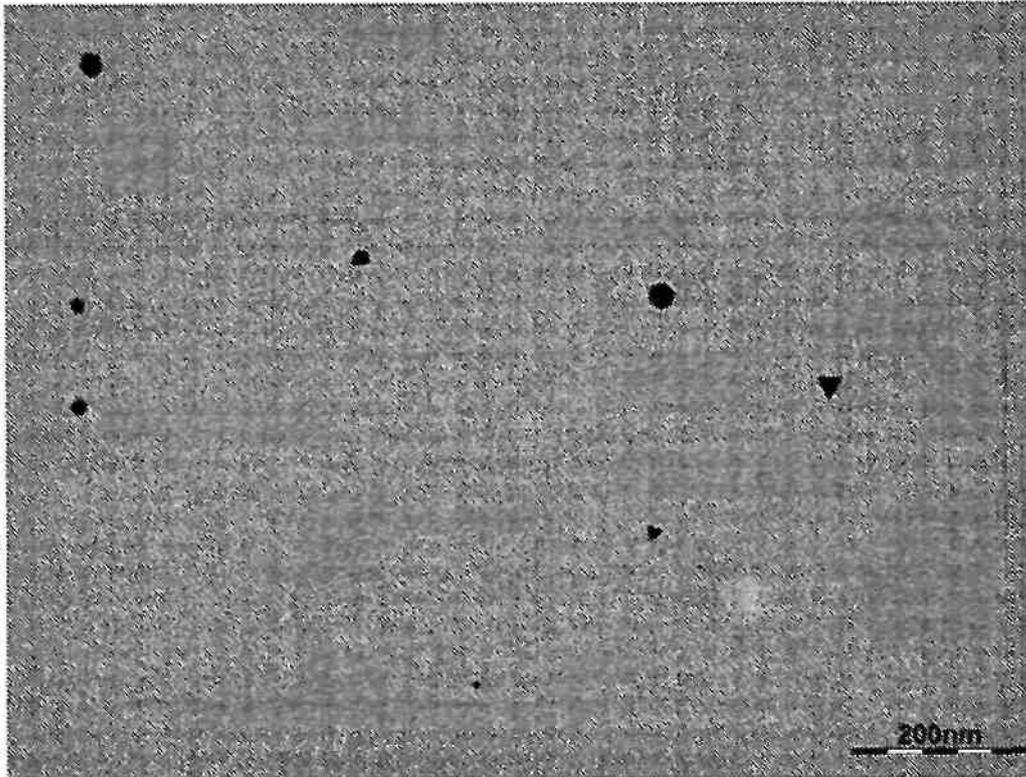


FIG. 38A

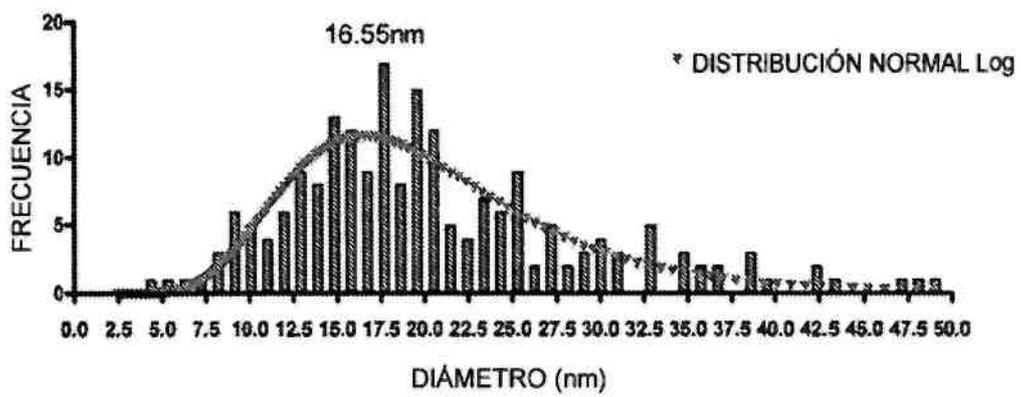


FIG. 38B

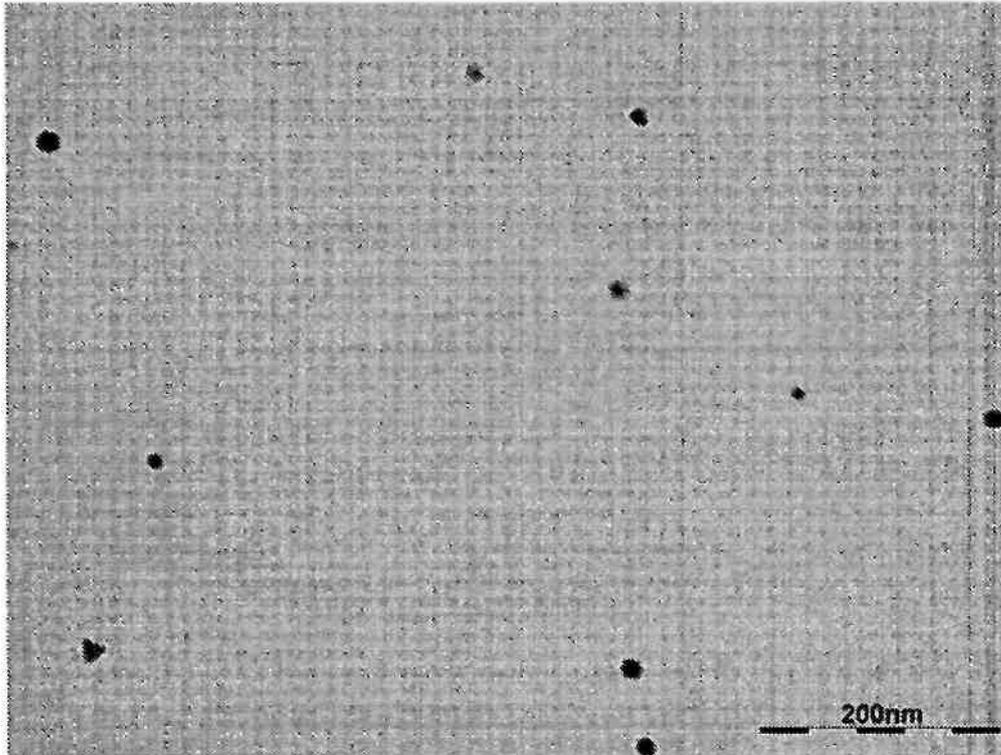


FIG. 39A

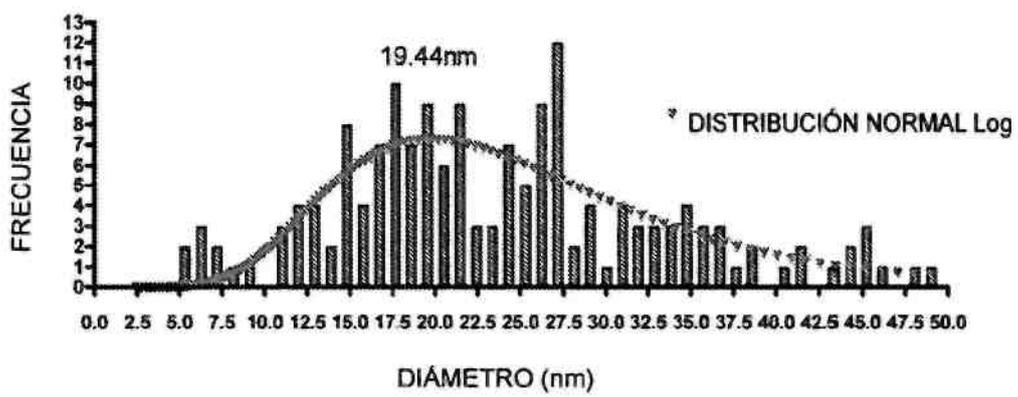


FIG. 39B

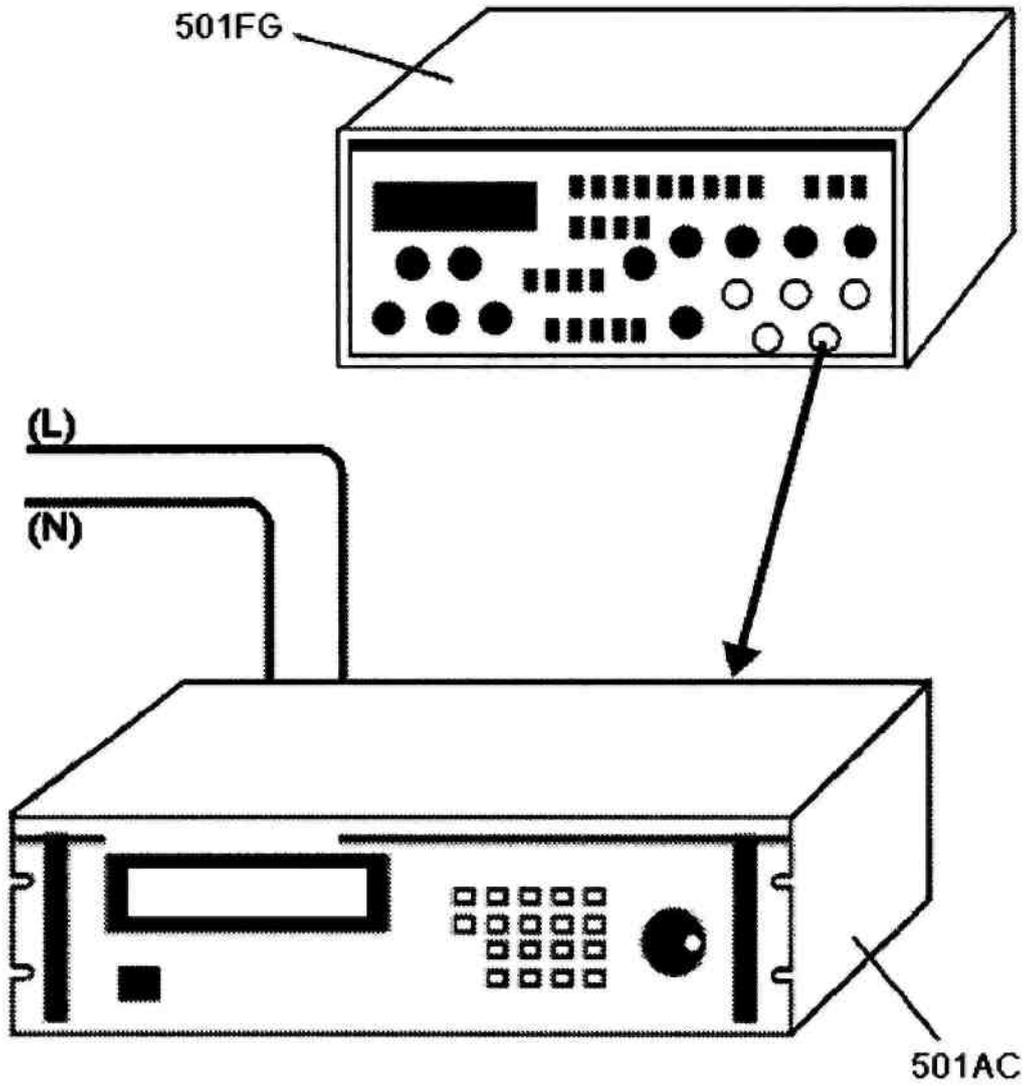


FIG. 40

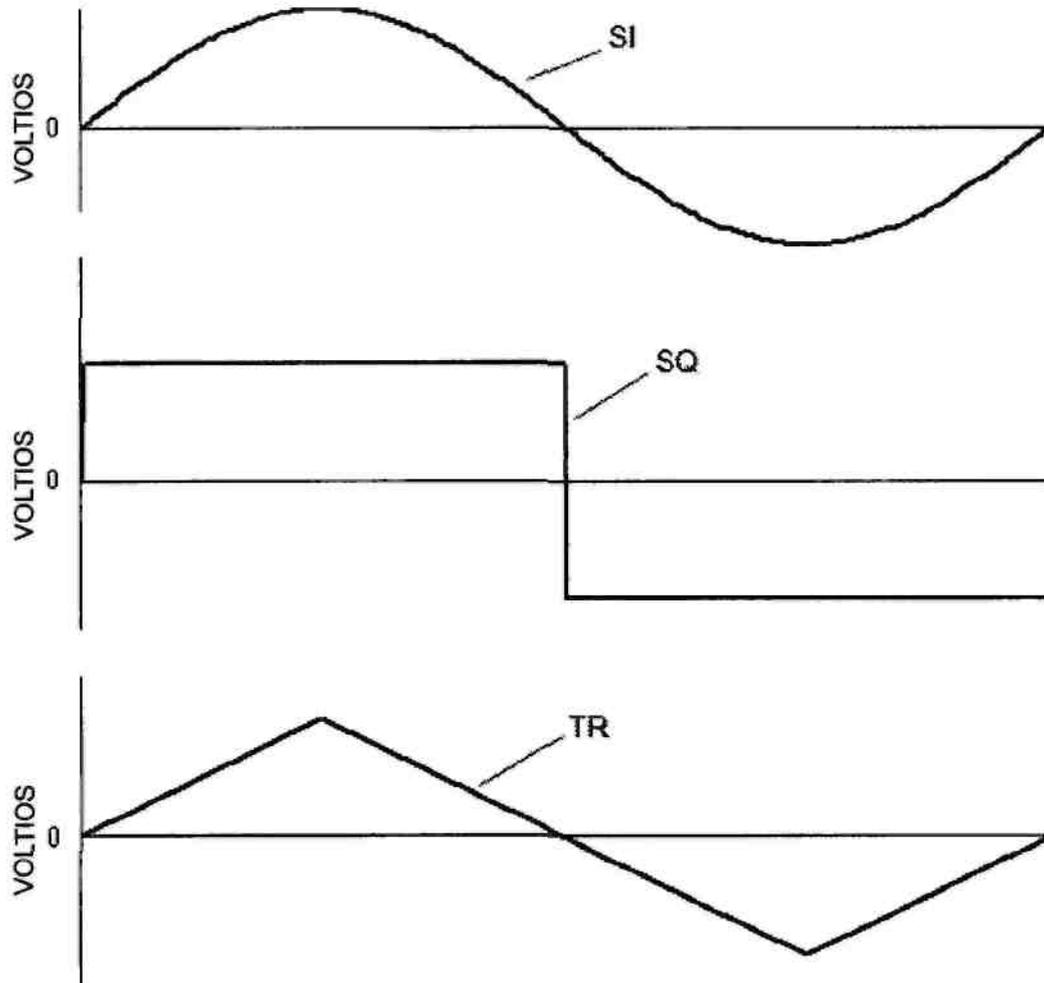


FIG. 41

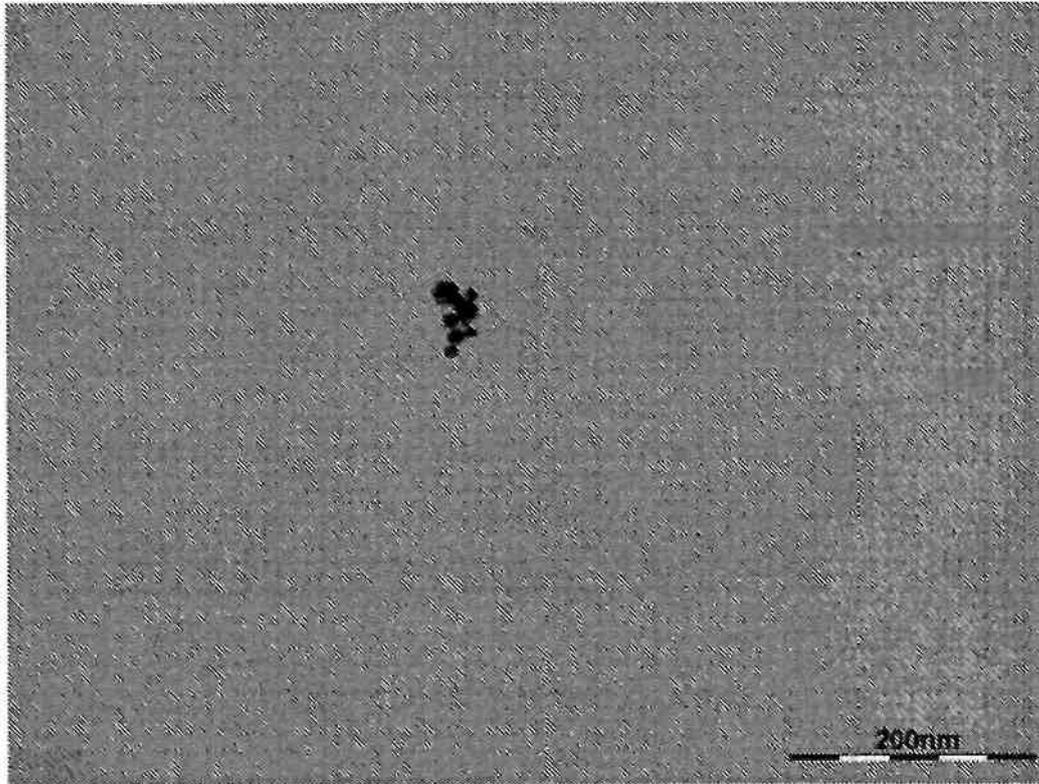


FIG. 42A

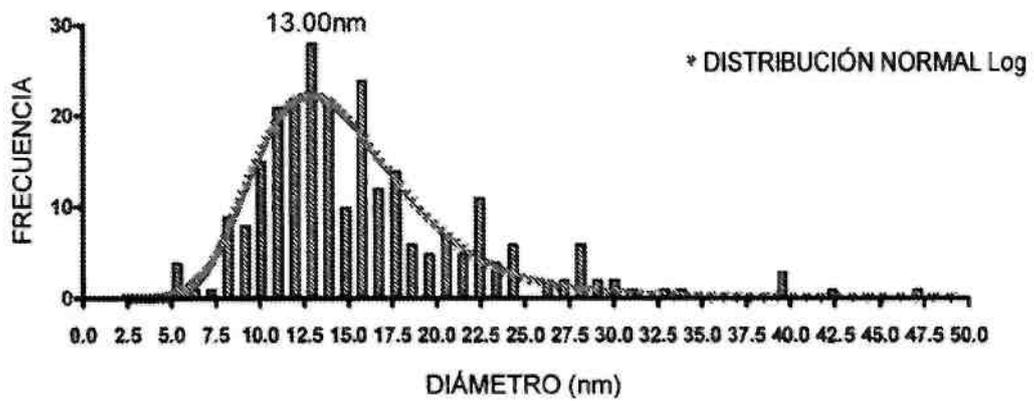


FIG. 42B

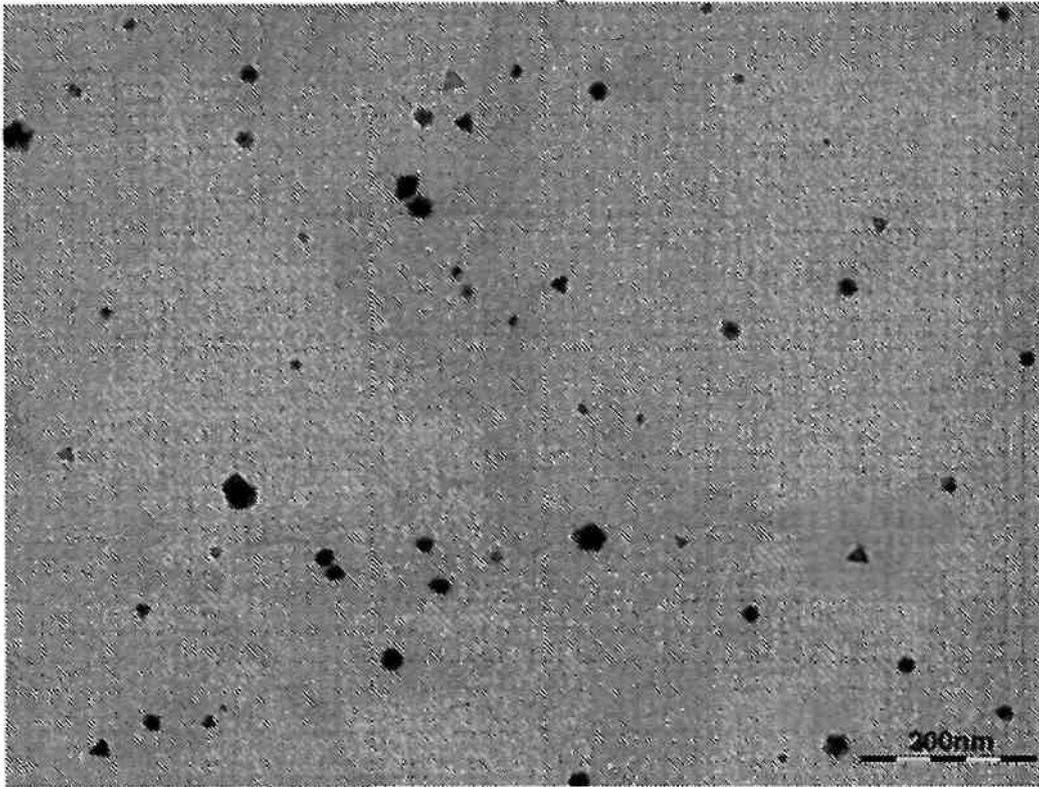


FIG. 43A

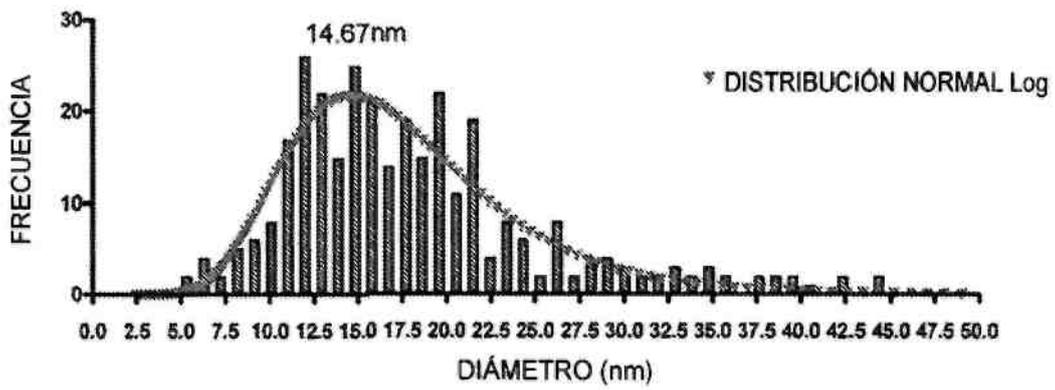


FIG. 43B

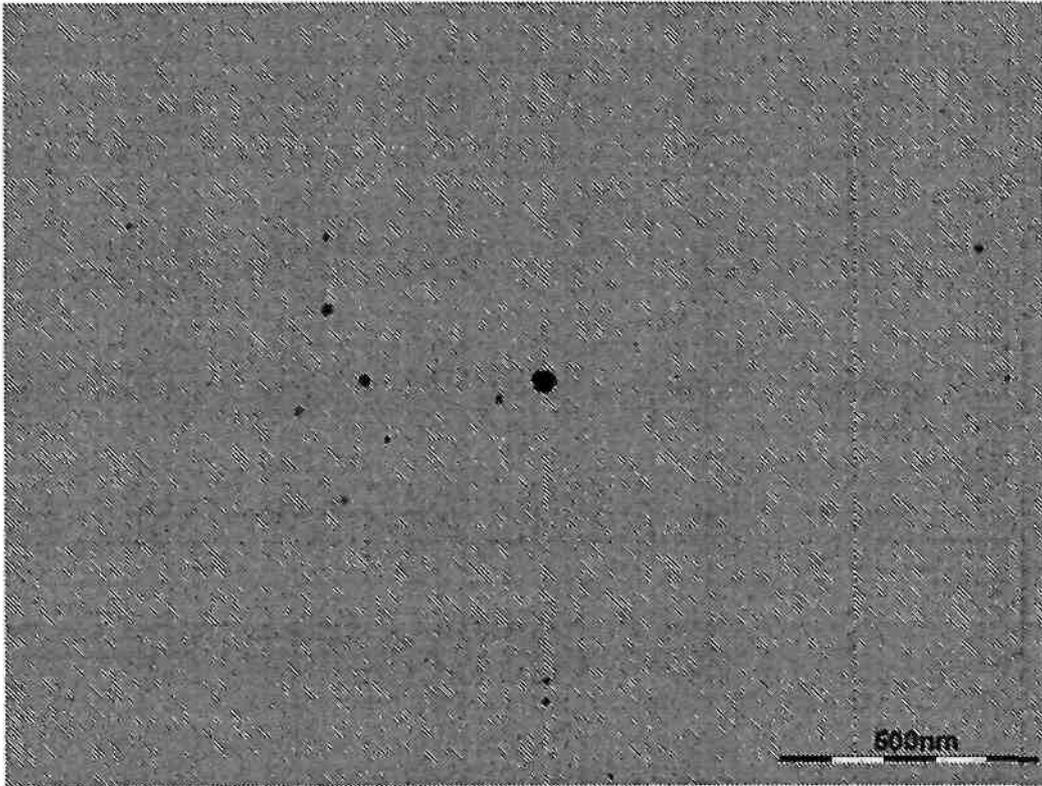


FIG. 44A

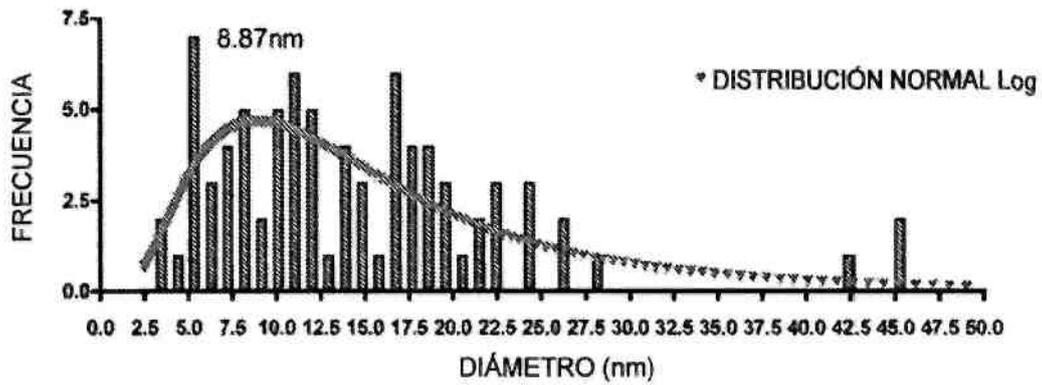


FIG. 44B

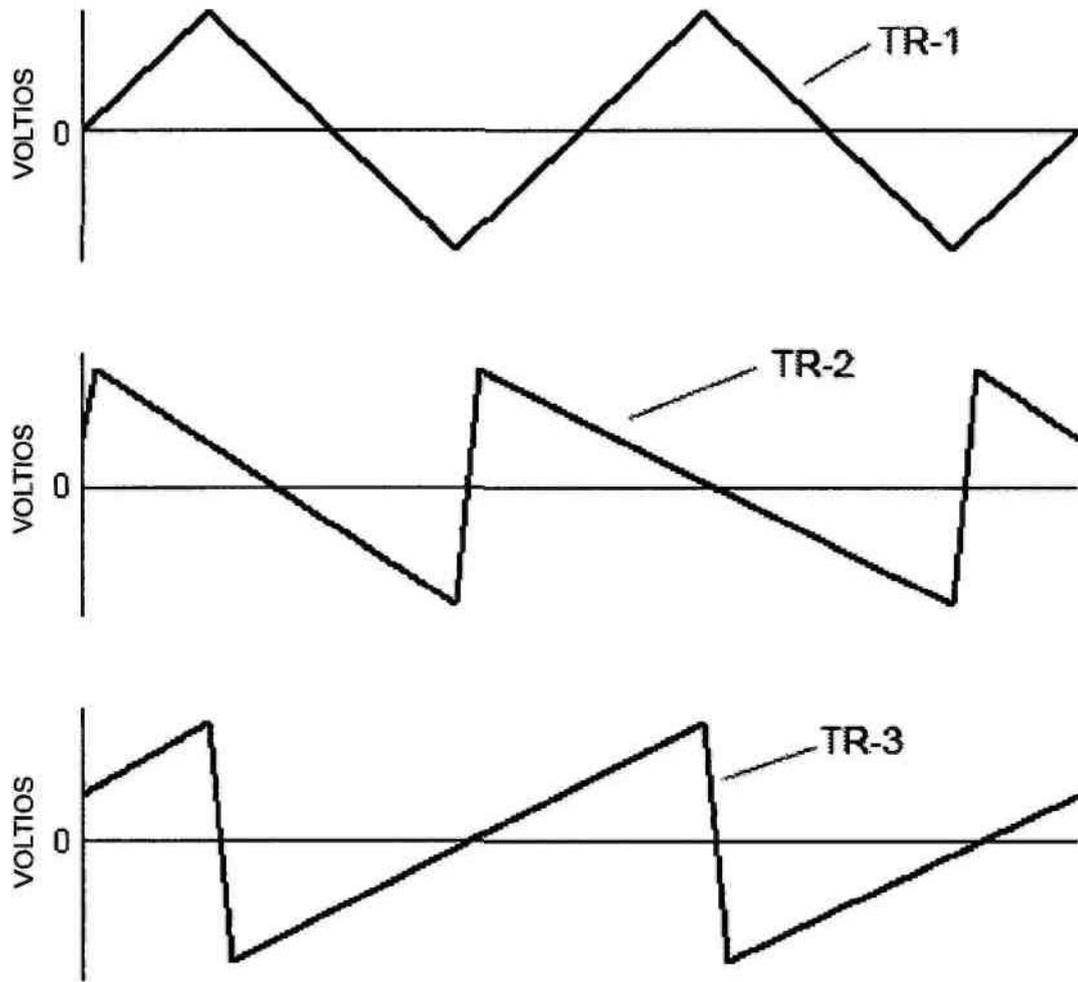


FIG. 45

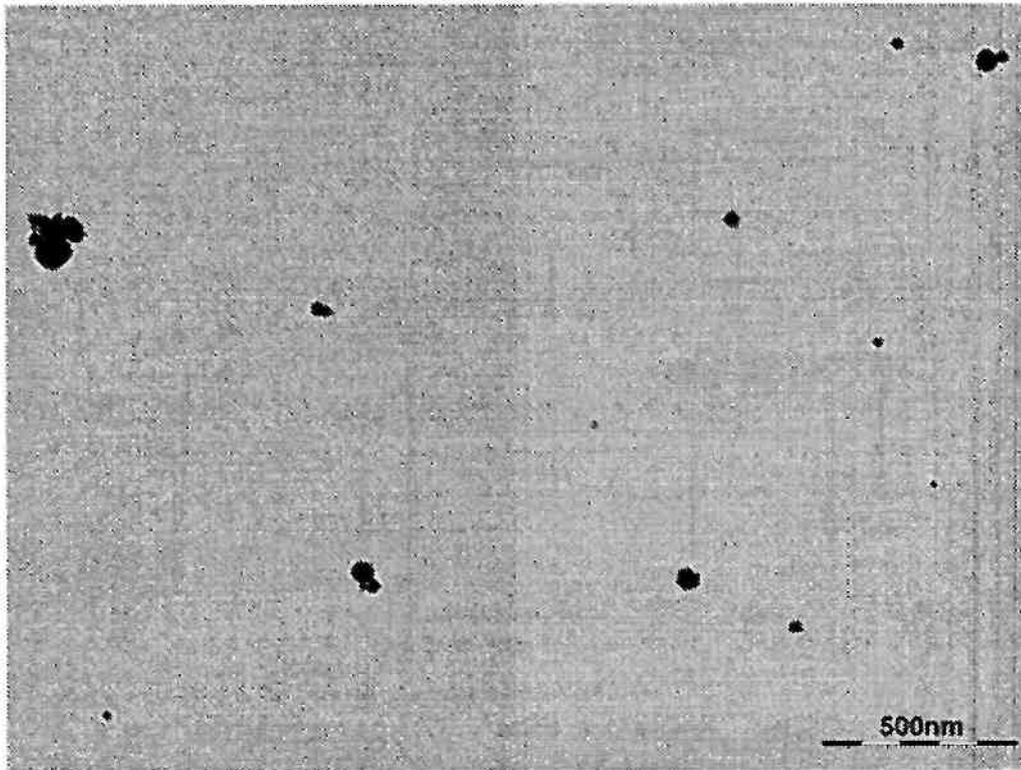


FIG. 46A

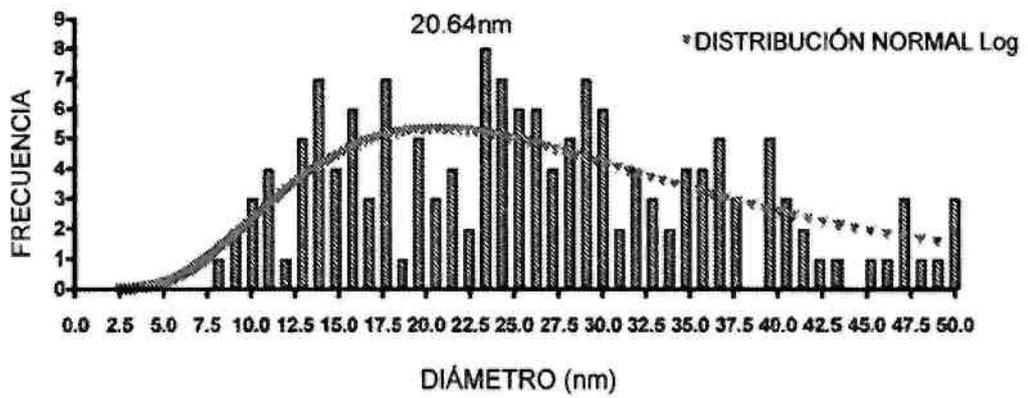


FIG. 46B

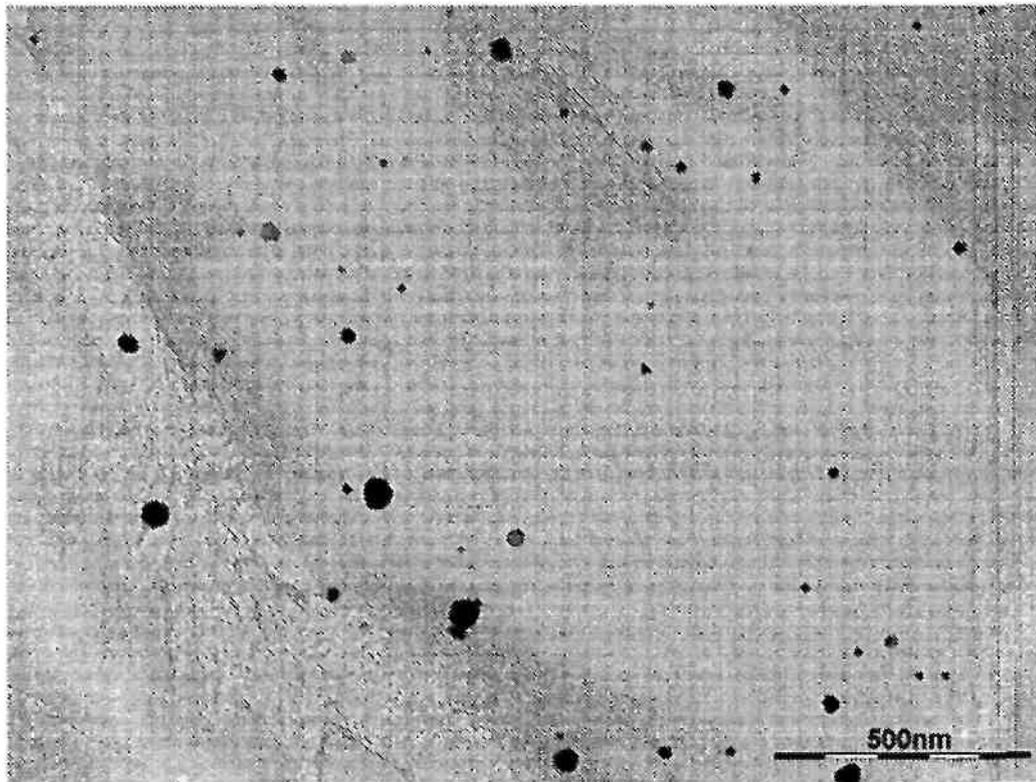


FIG. 47A

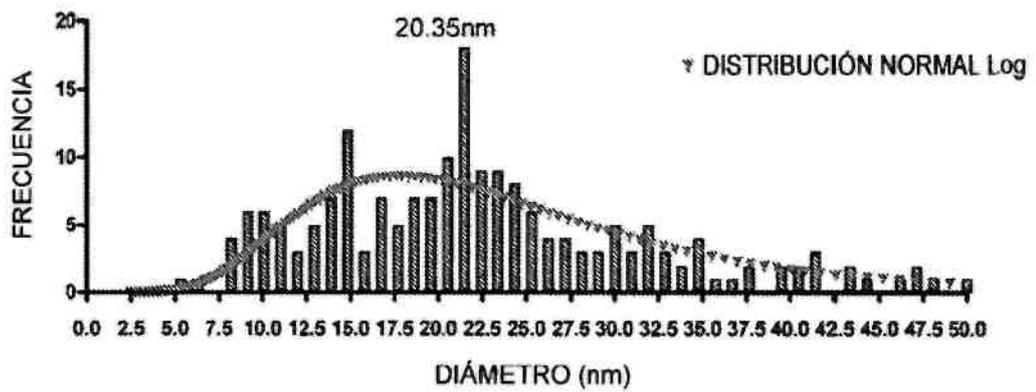


FIG. 47B

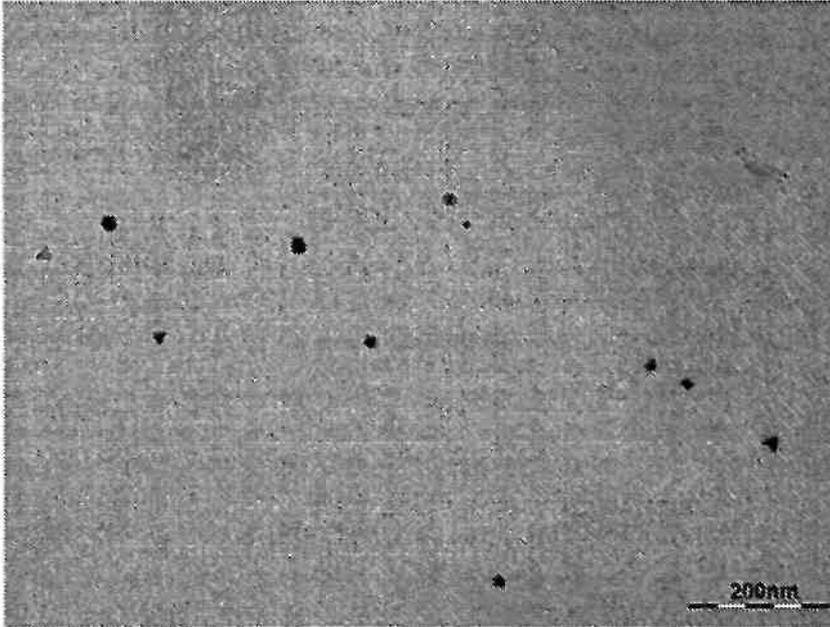


FIG. 48A1

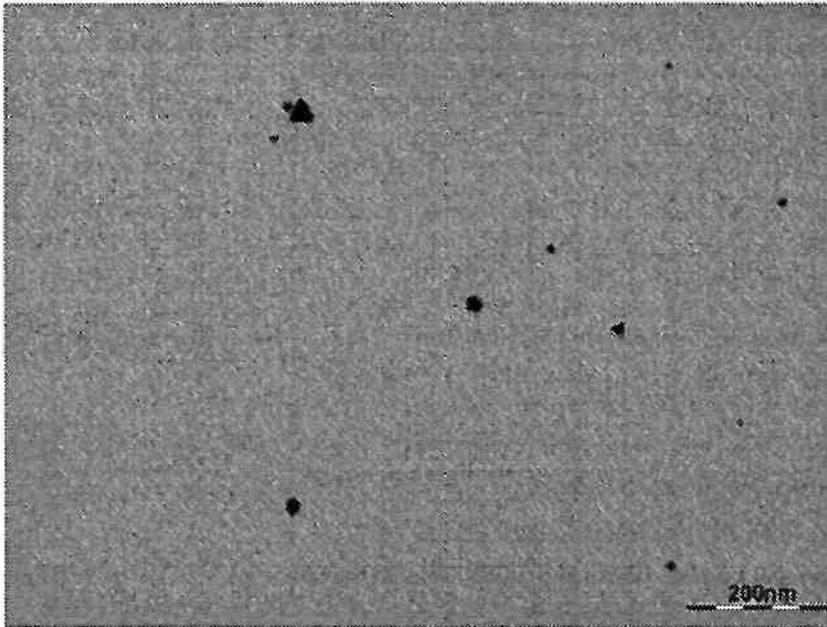


FIG. 48A2

GB-134

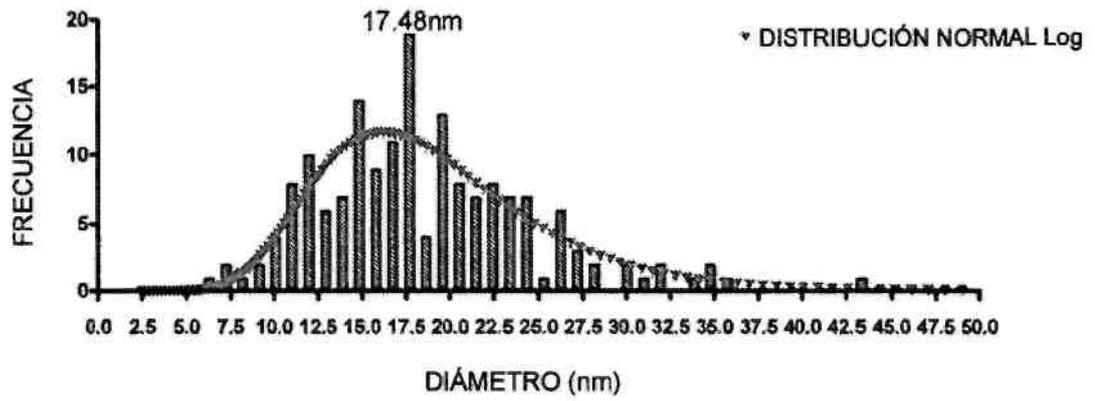


FIG. 48B

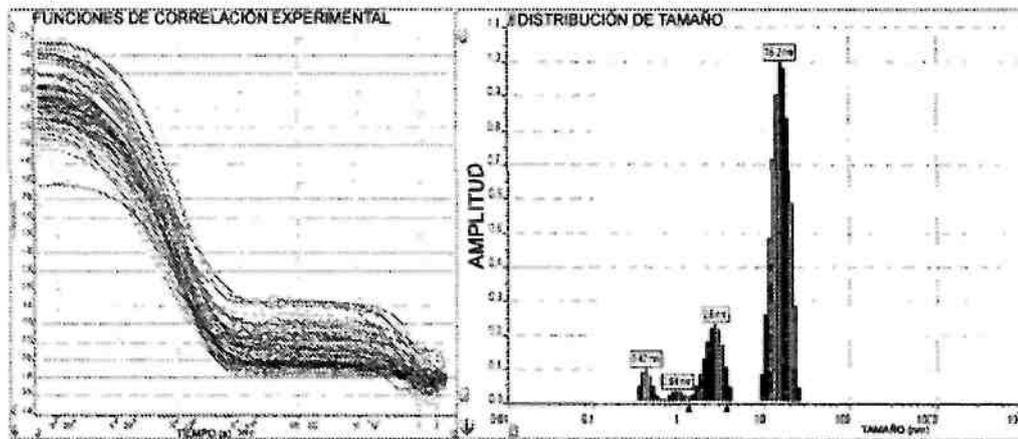


FIG. 48C

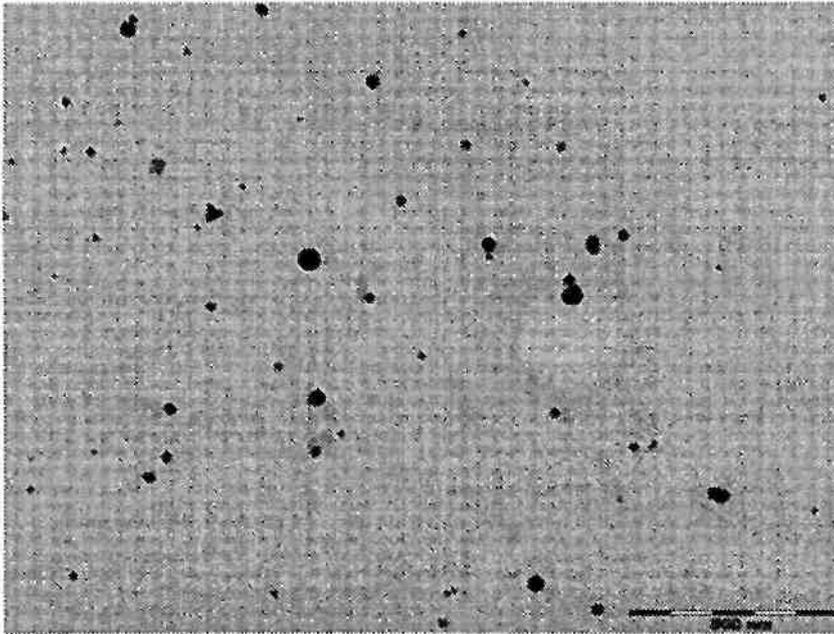


FIG. 49A1

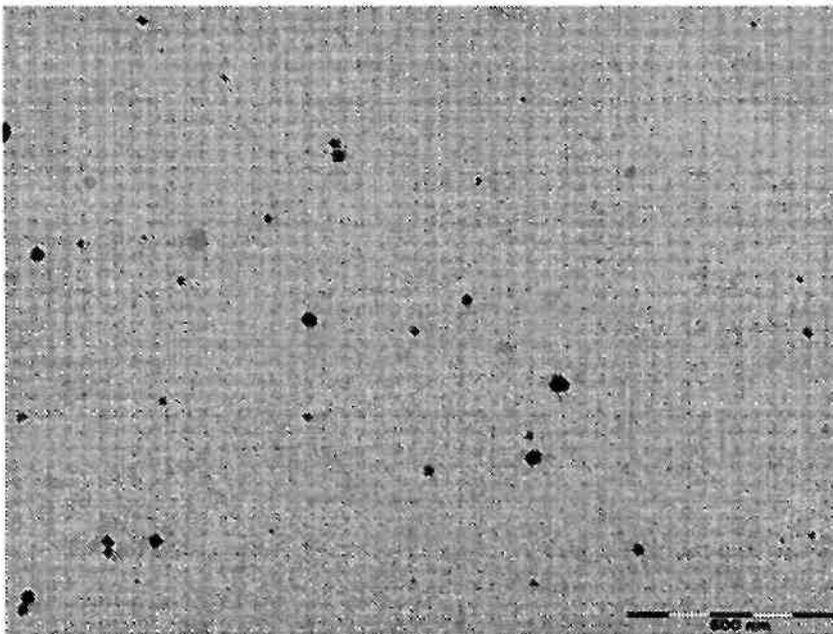


FIG. 49A2

GB-098

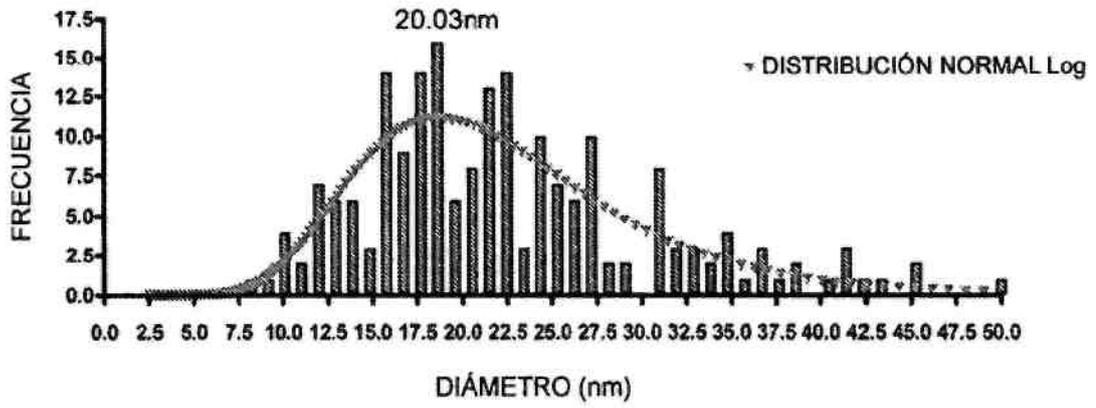


FIG. 49B

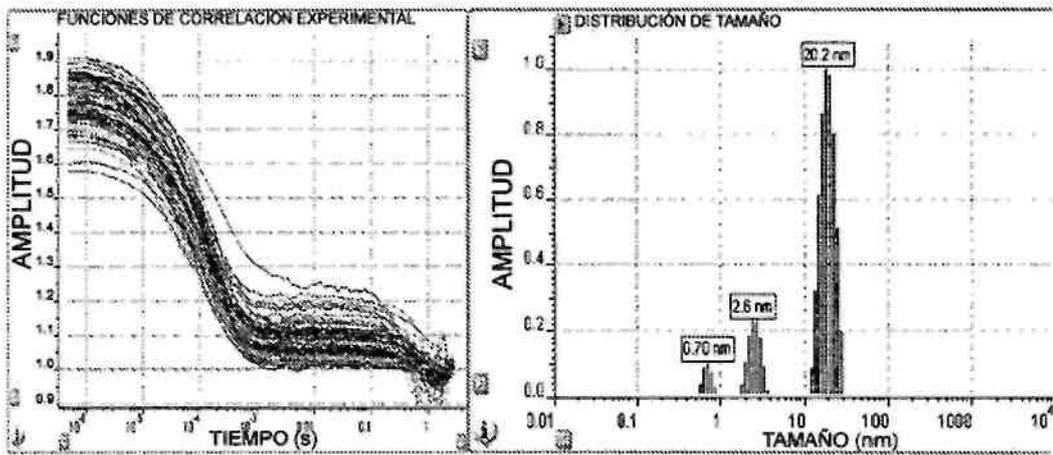


FIG. 49C

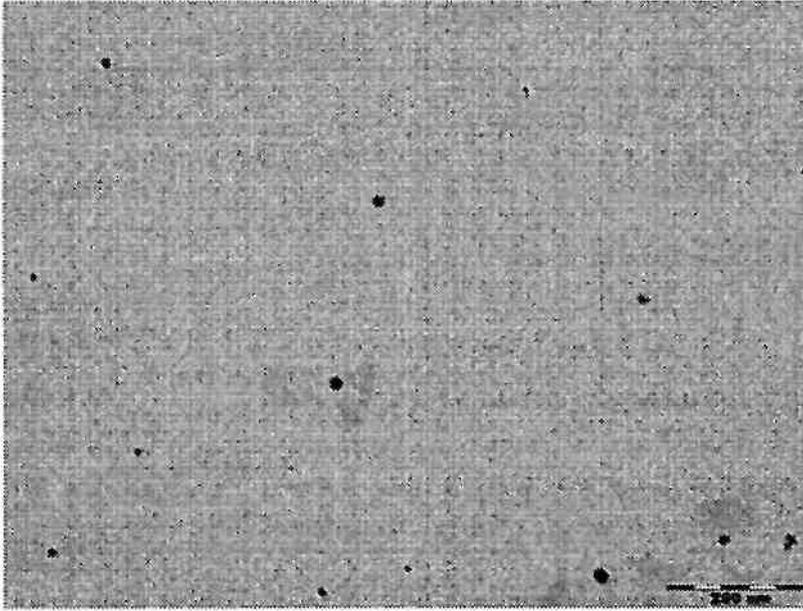


FIG. 50A1

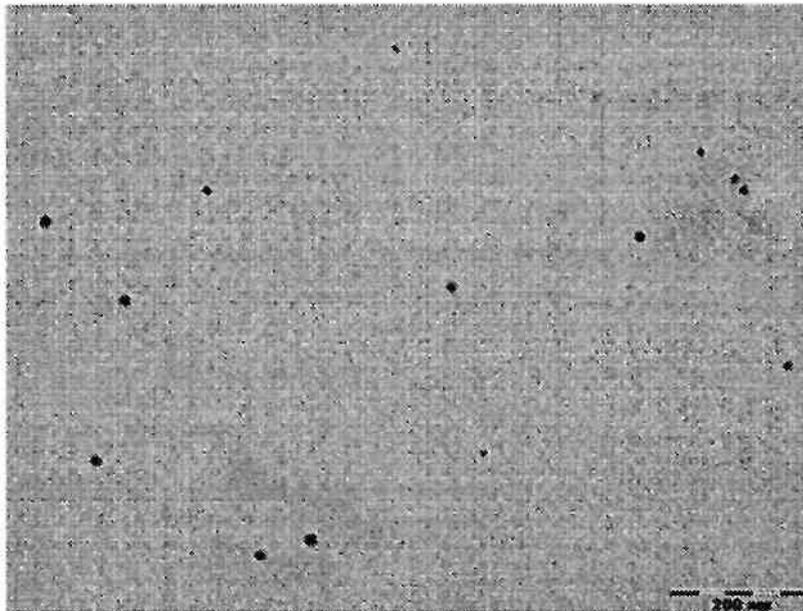


FIG. 50A2

GB-113

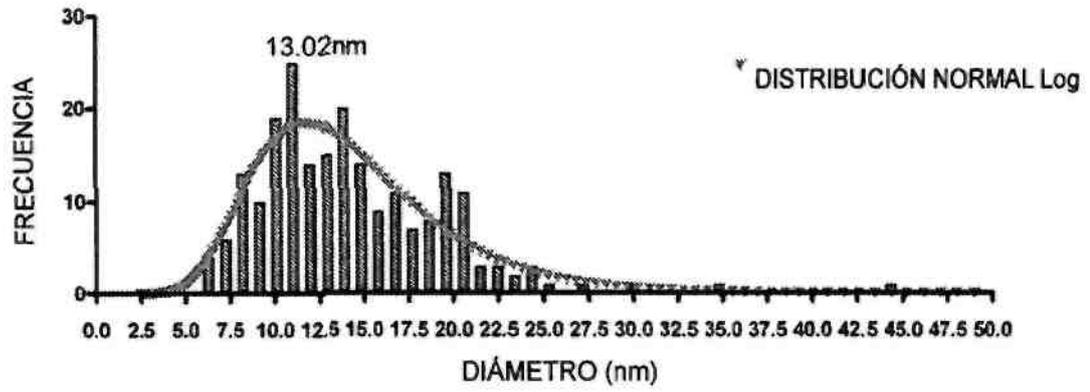


FIG. 50B

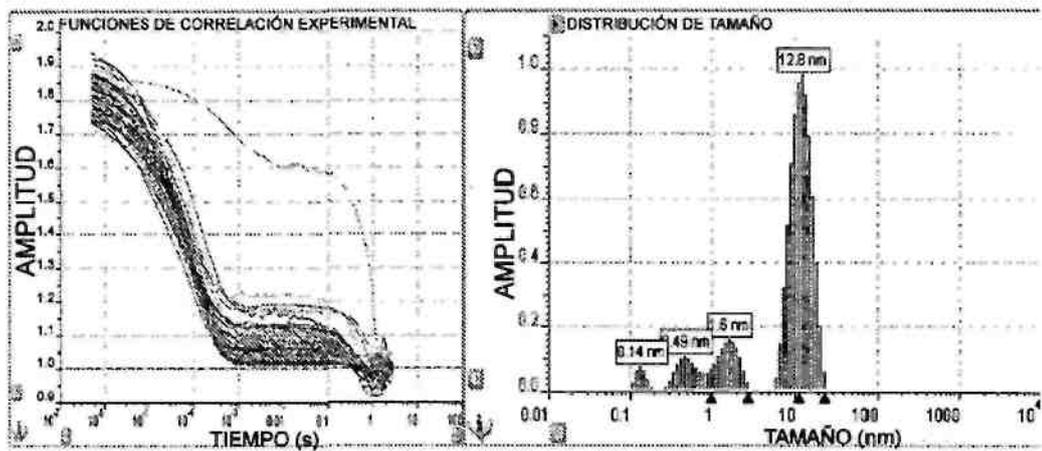


FIG. 50C

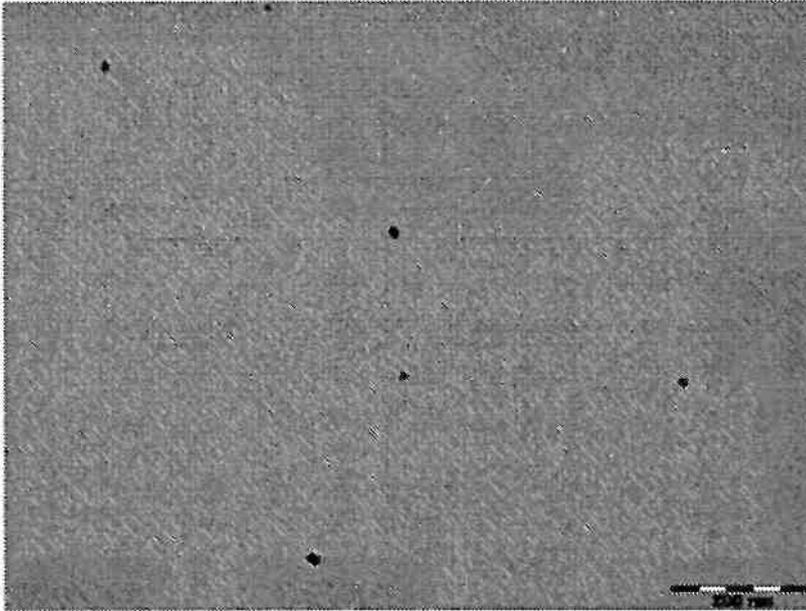


FIG. 51A1

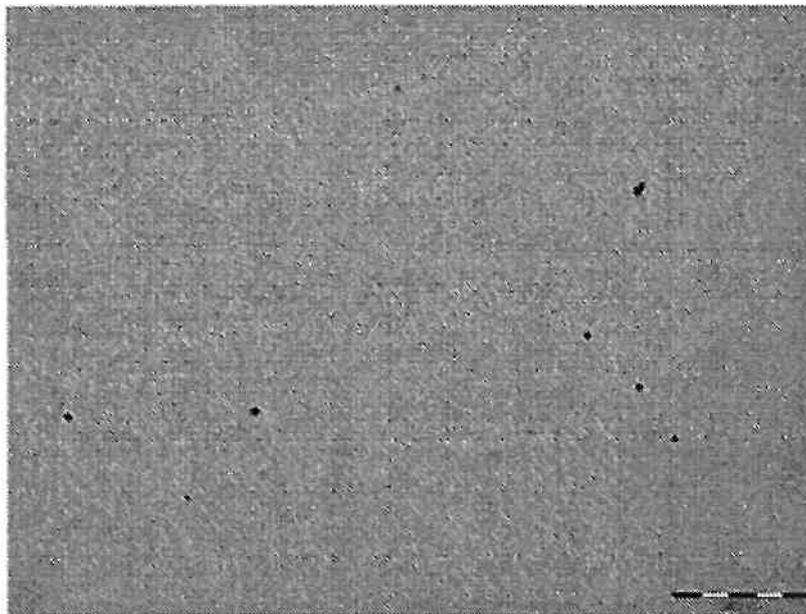


FIG. 51A2

GB-118

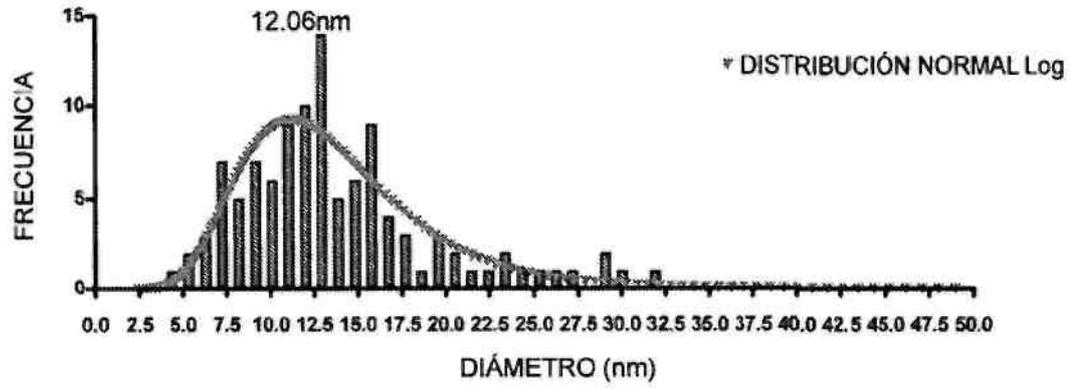


FIG. 51B

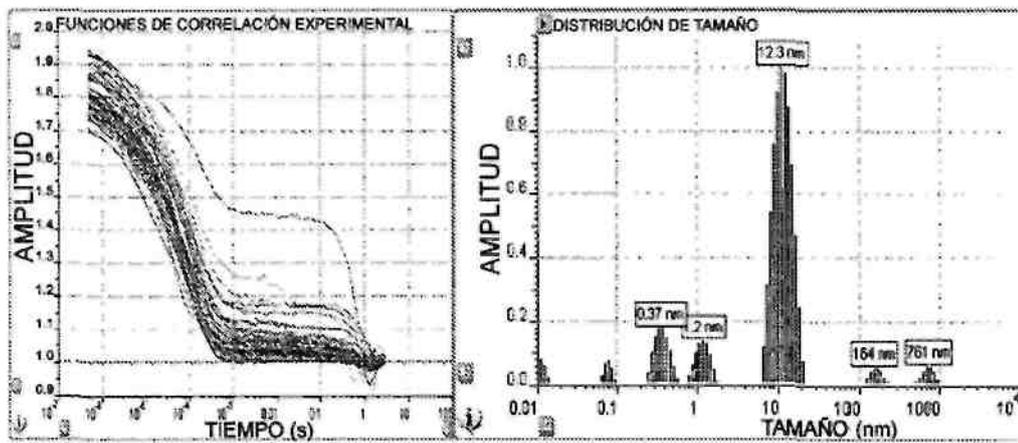


FIG. 51C

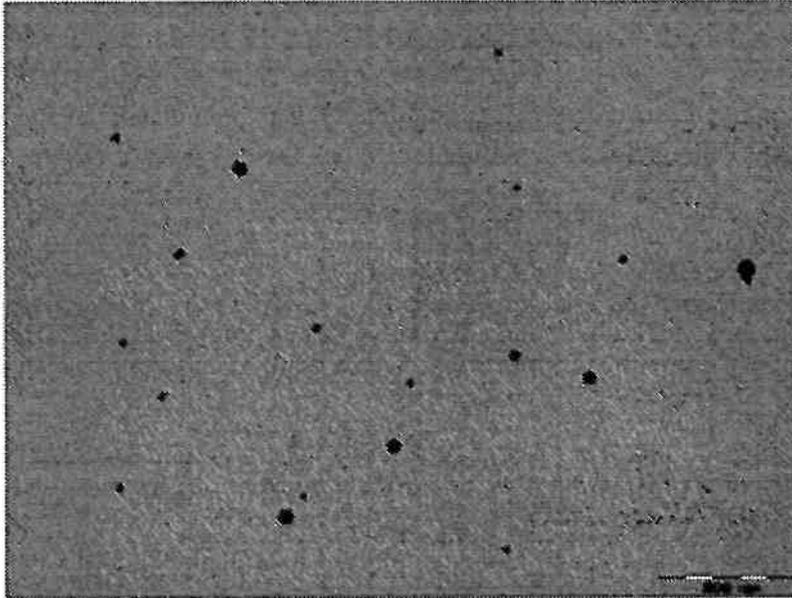


FIG. 52A1

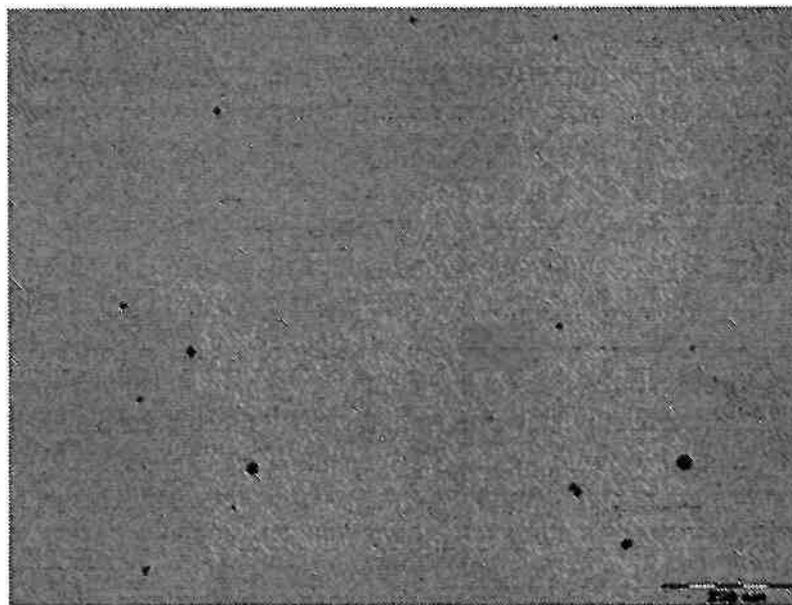


FIG. 52A2

GB-120

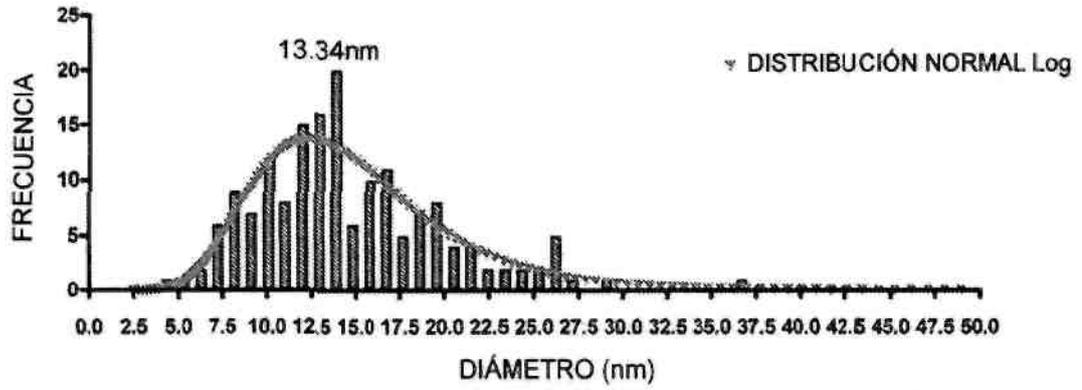


FIG. 52B

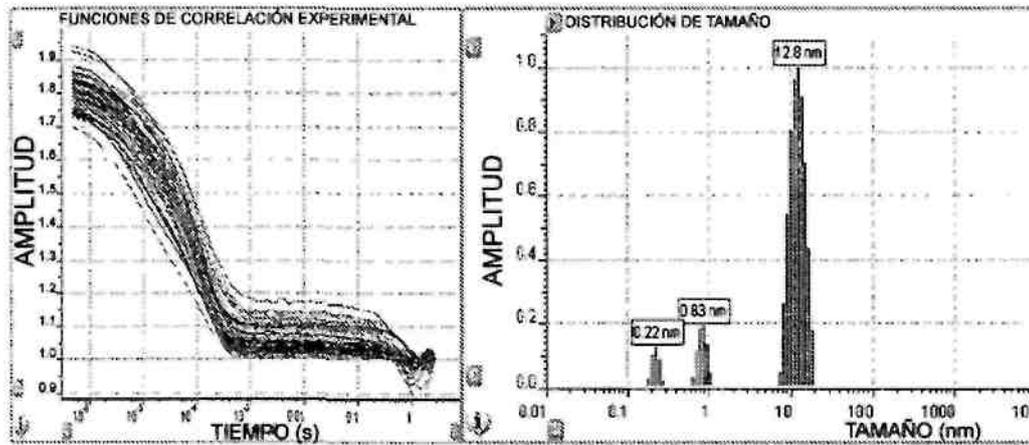


FIG. 52C

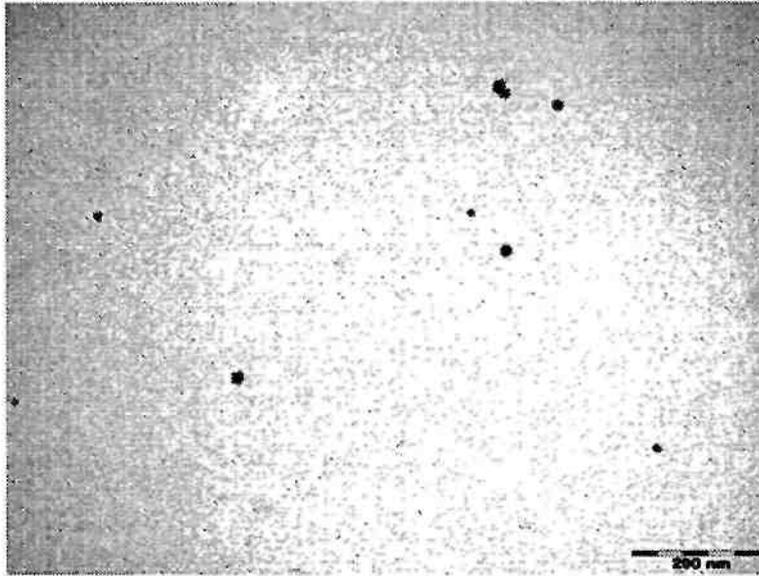


FIG. 53A1

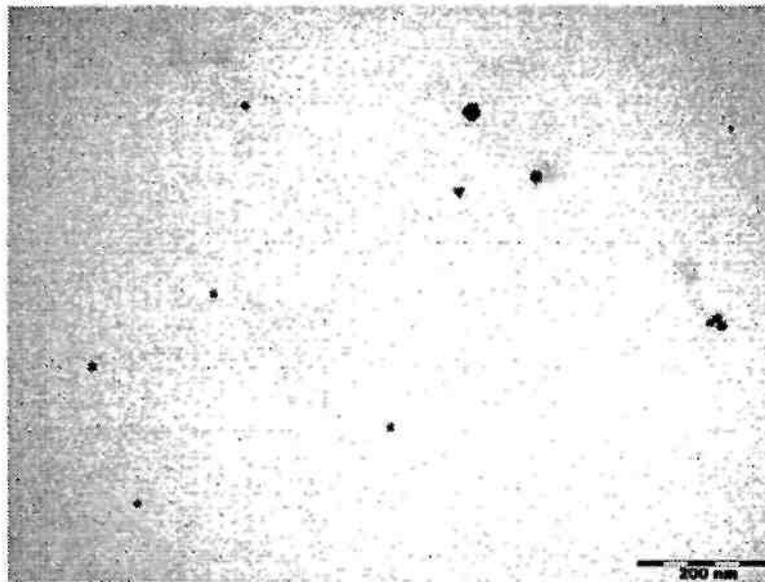


FIG. 53A2

GB-123

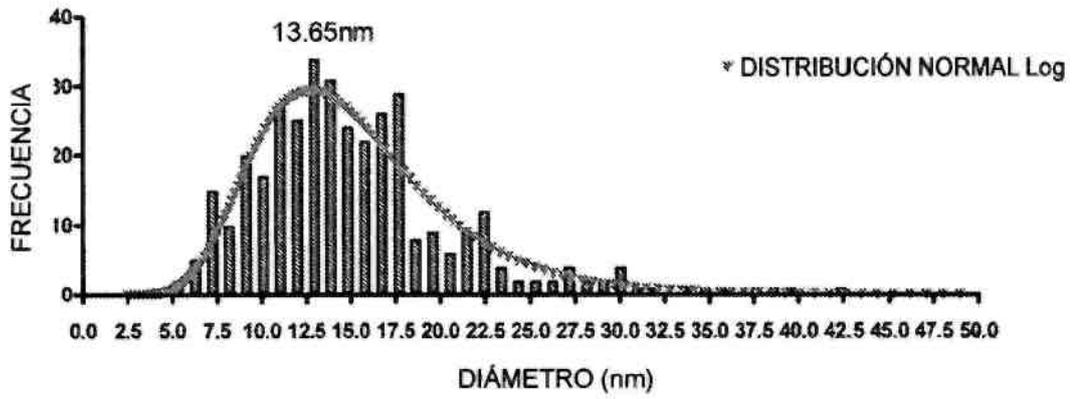


FIG. 53B

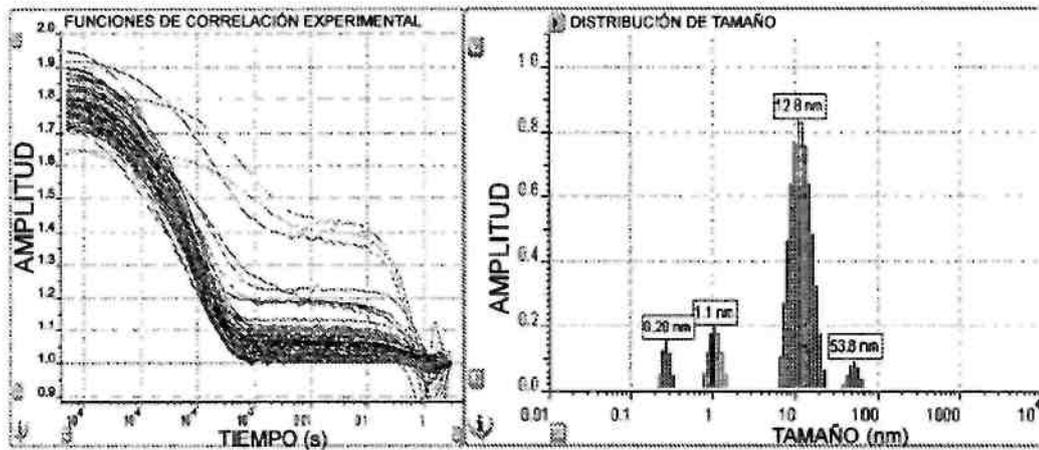


FIG. 53C

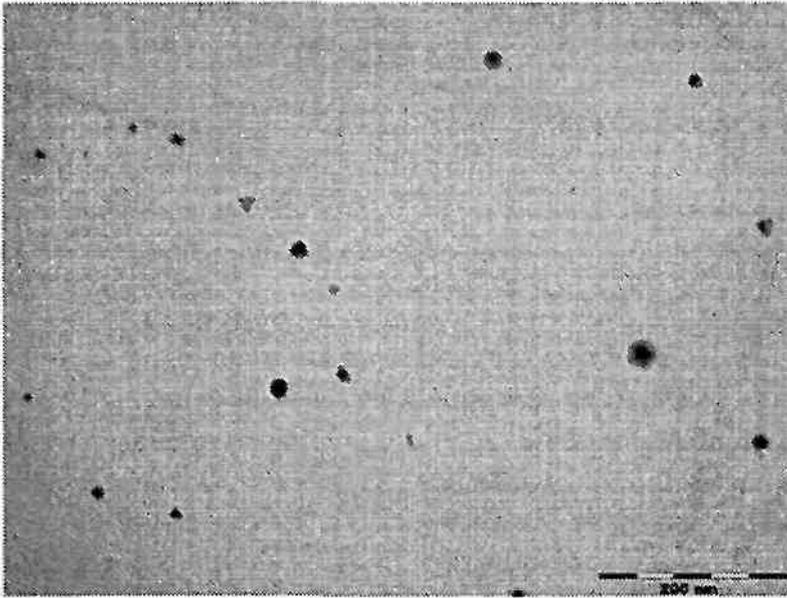


FIG. 54A1

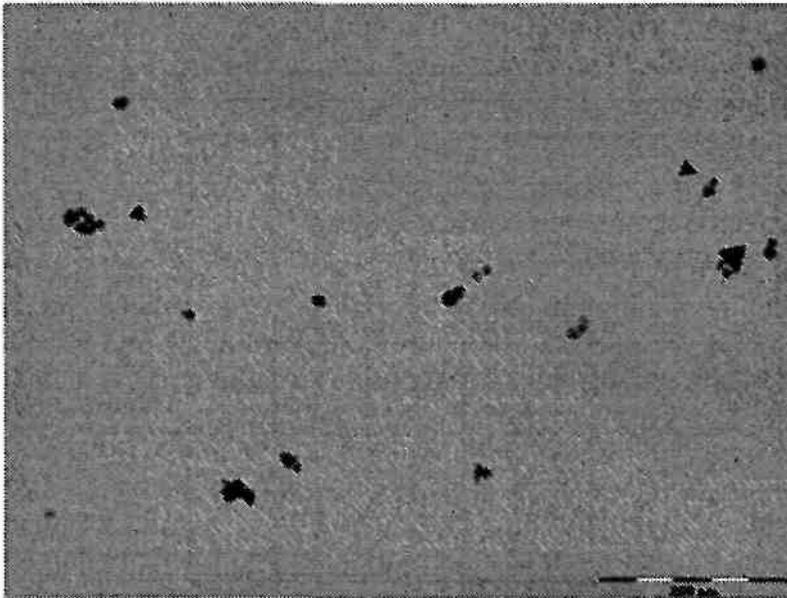


FIG. 54A2

GB-139

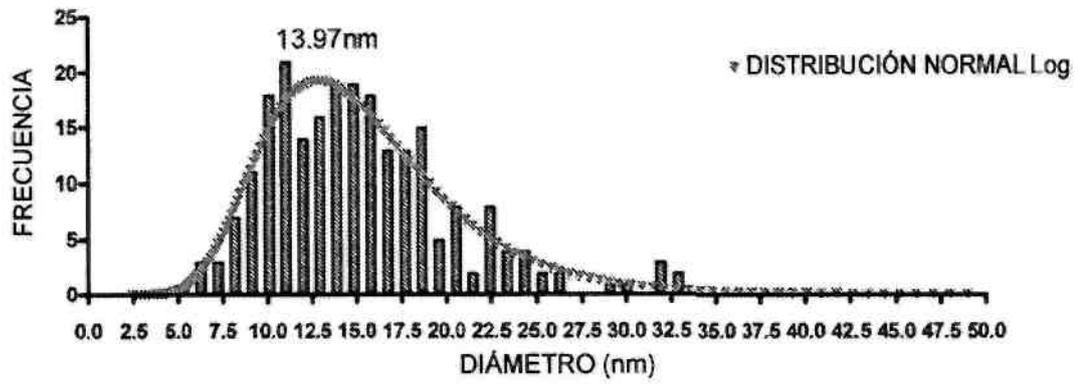


FIG. 54B

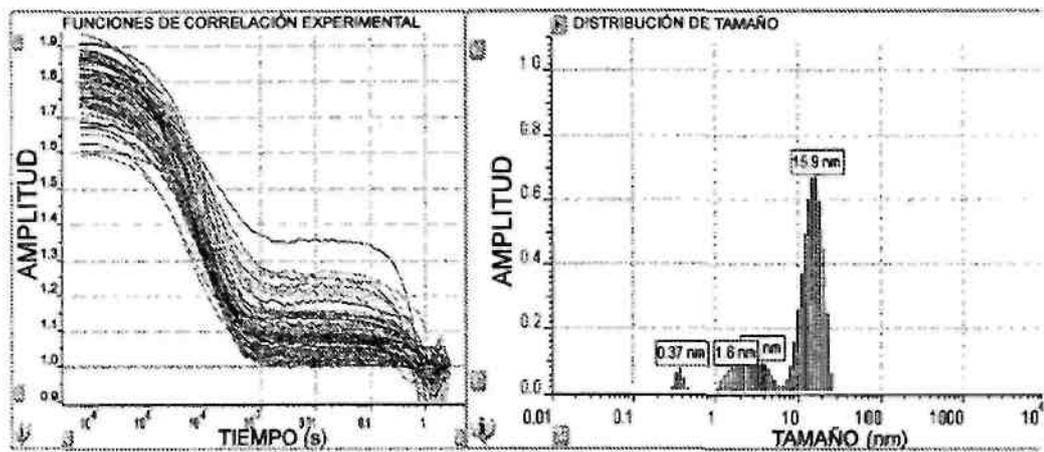


FIG. 54C

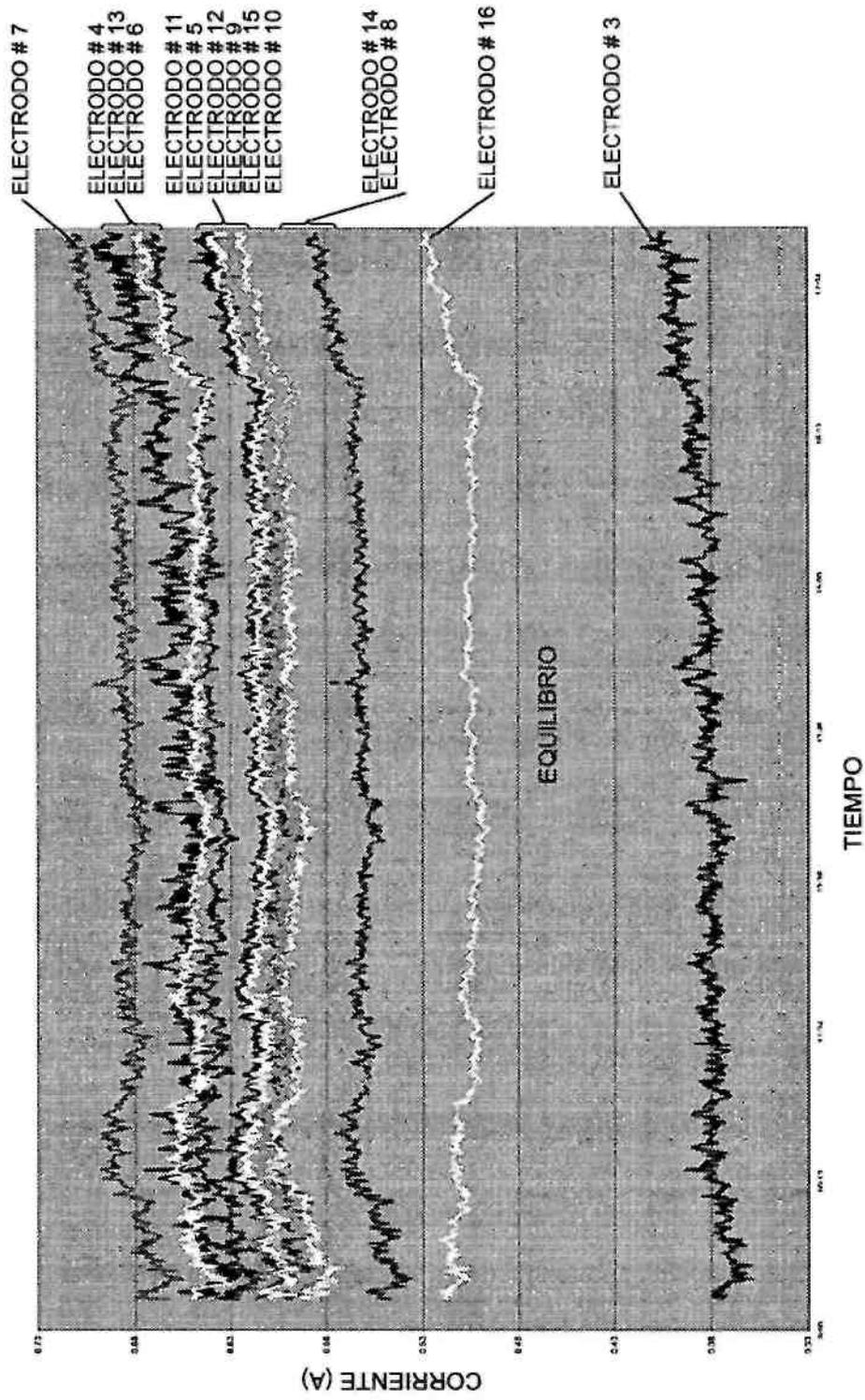


FIG. 54D

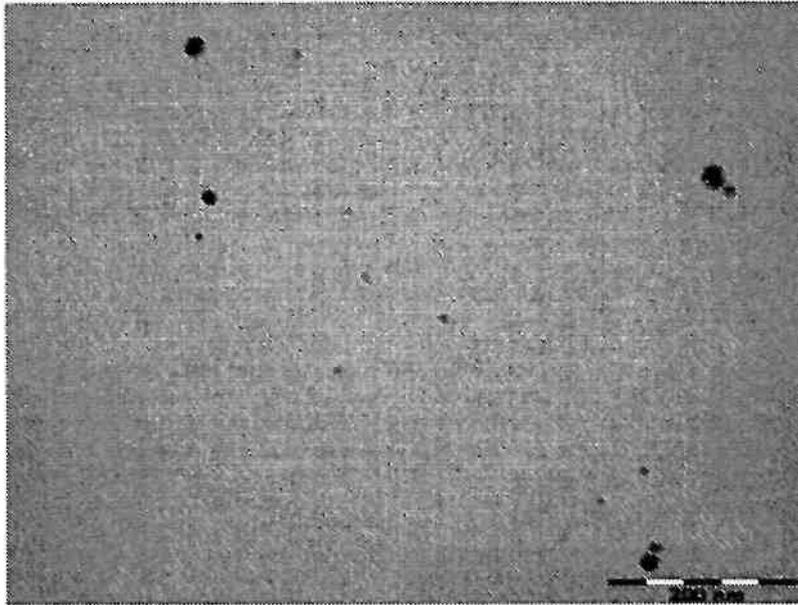


FIG. 55A1

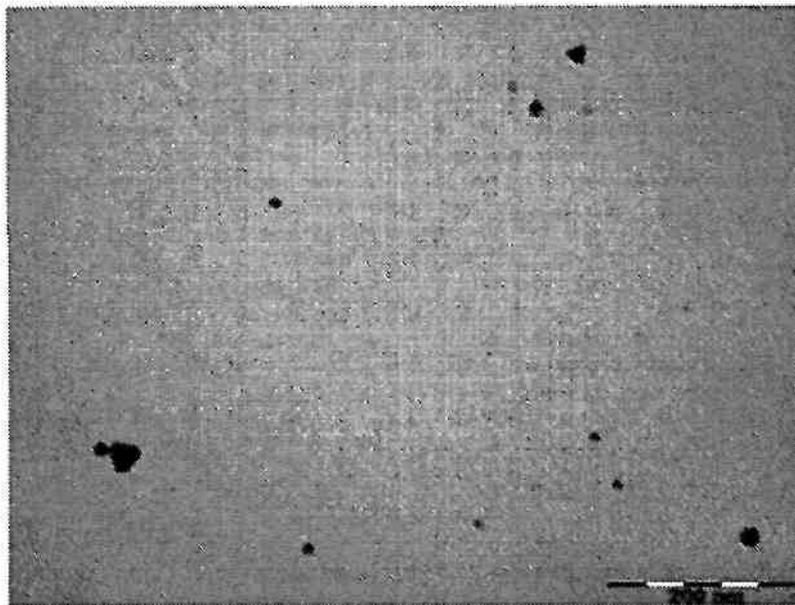


FIG. 55A2

GB-141

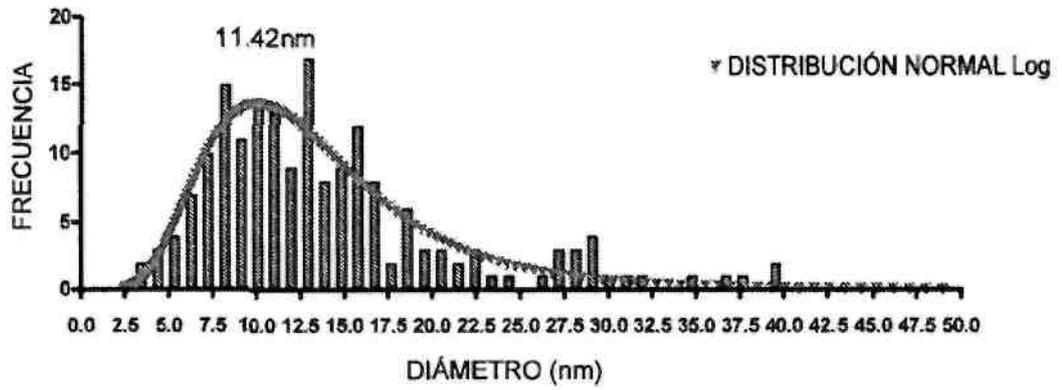


FIG. 55B

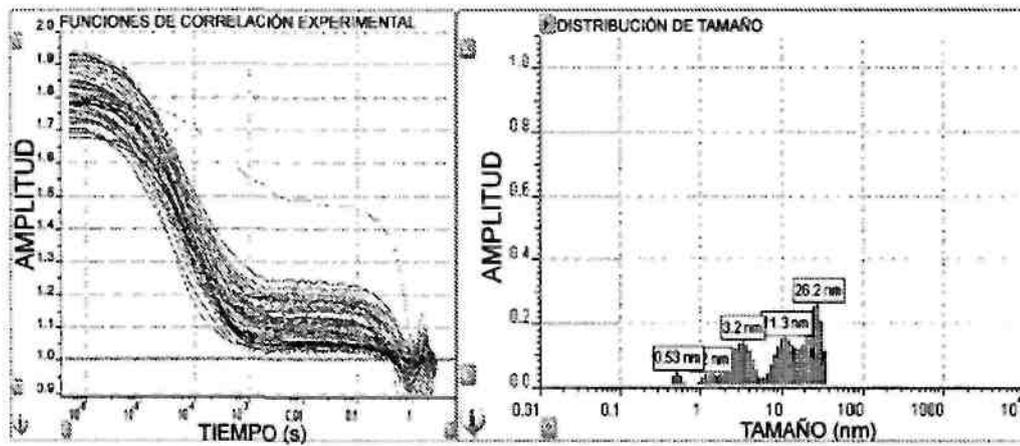


FIG. 55C

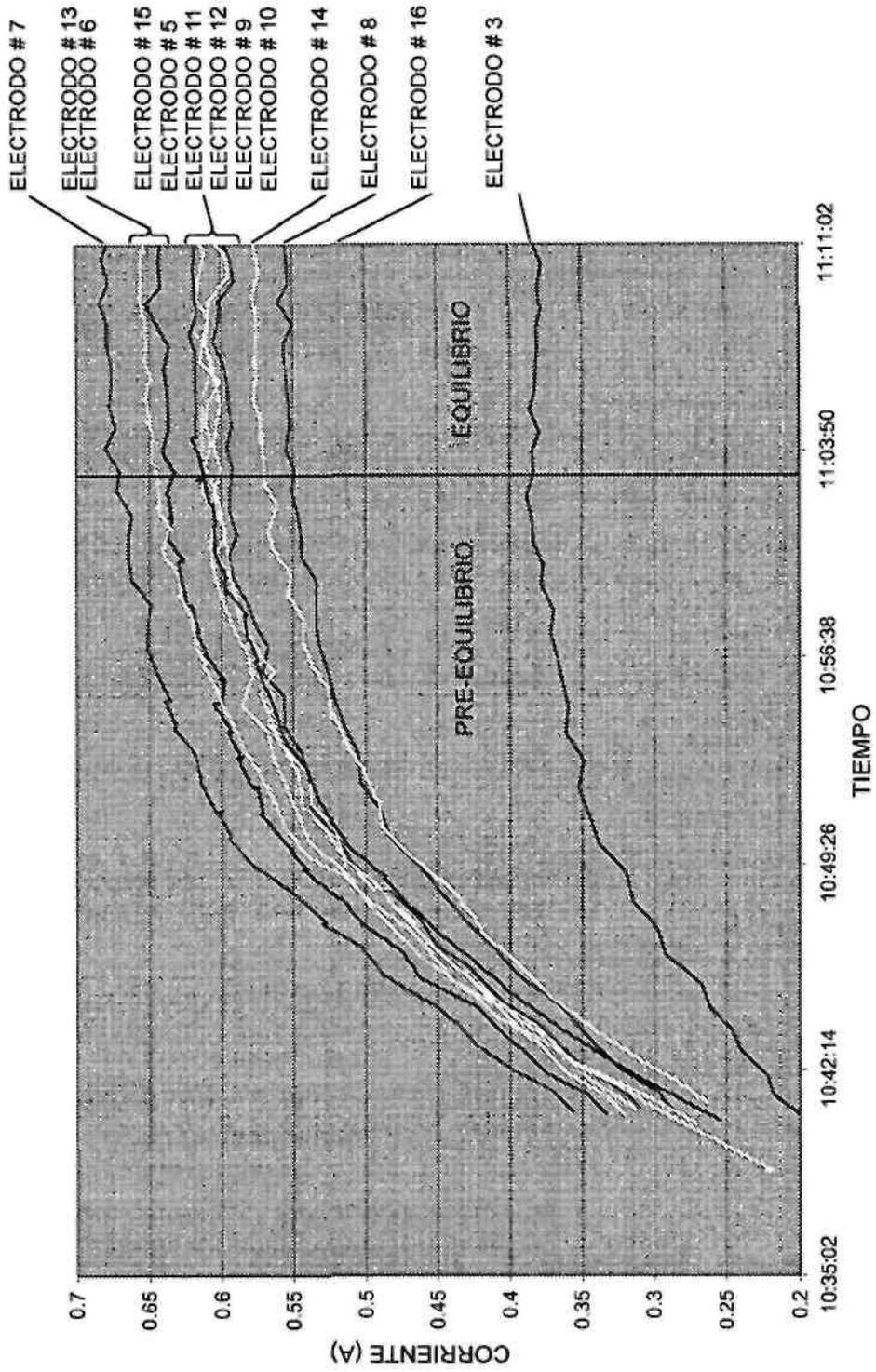


FIG. 55D

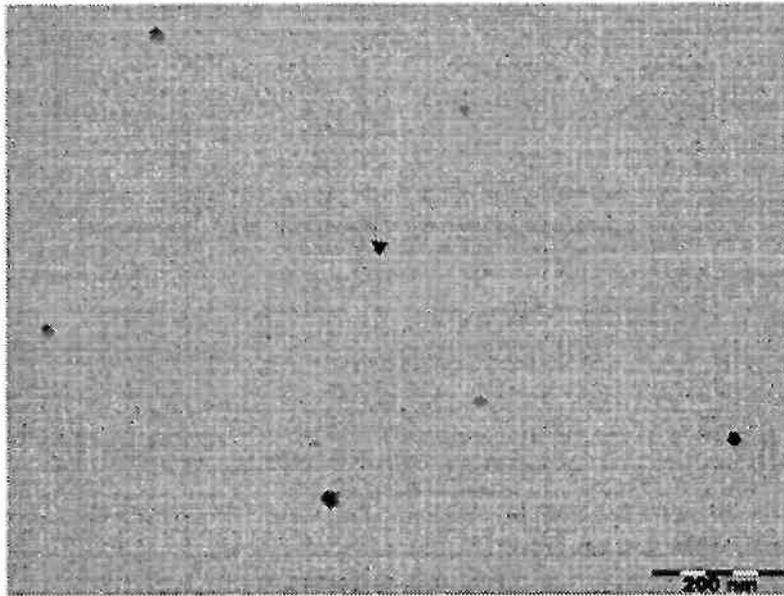


FIG. 56A1

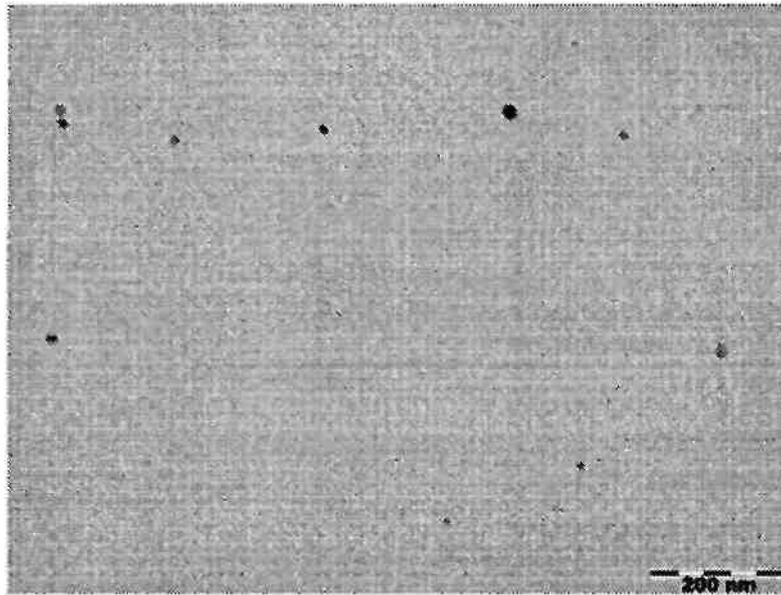


FIG. 56A2

GB-144

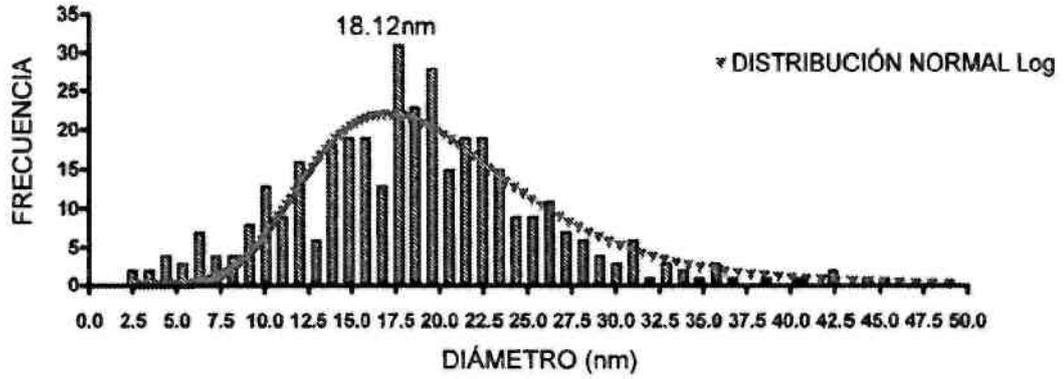


FIG. 56B

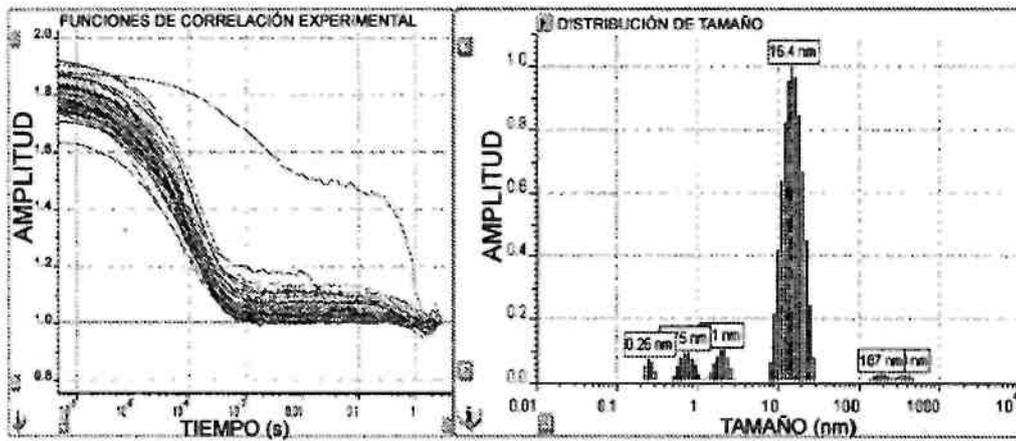


FIG. 56C

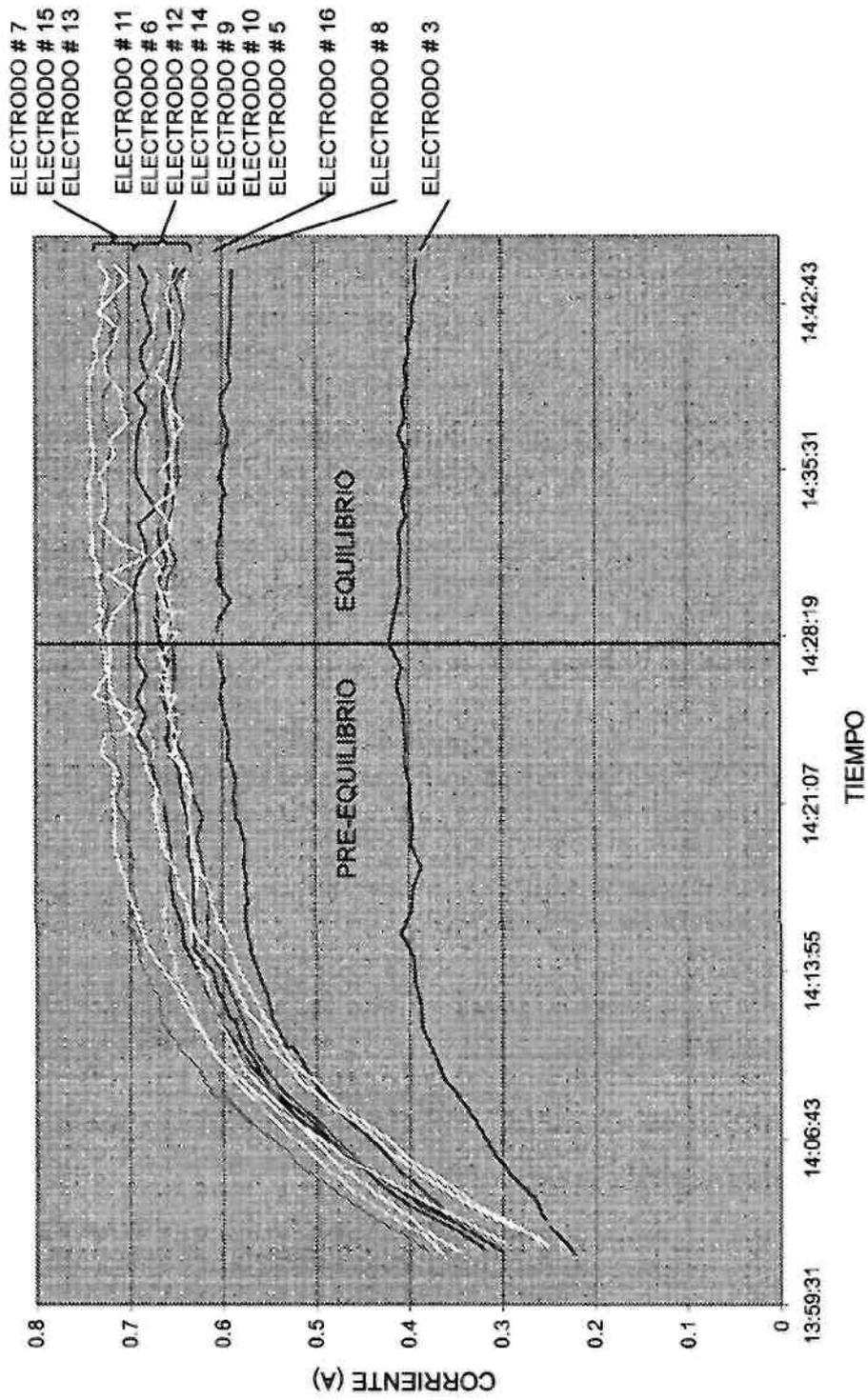


FIG. 56D

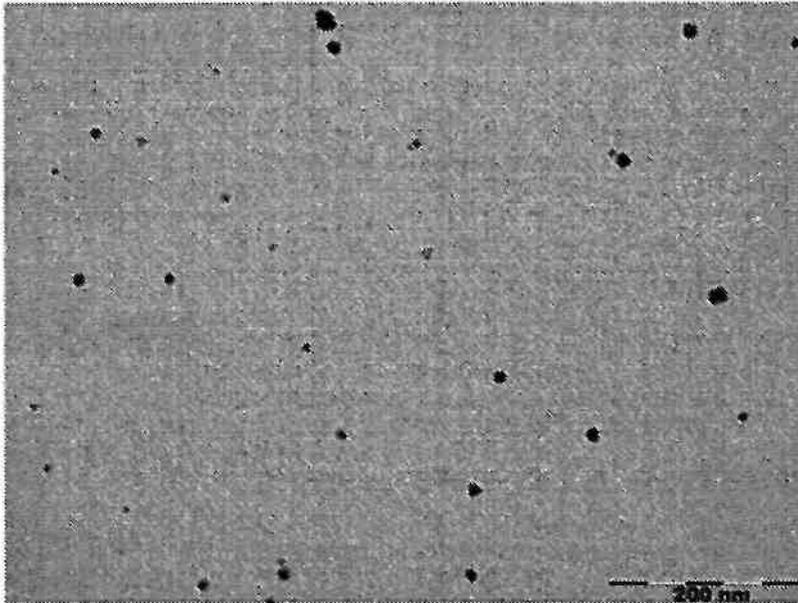


FIG. 57A1

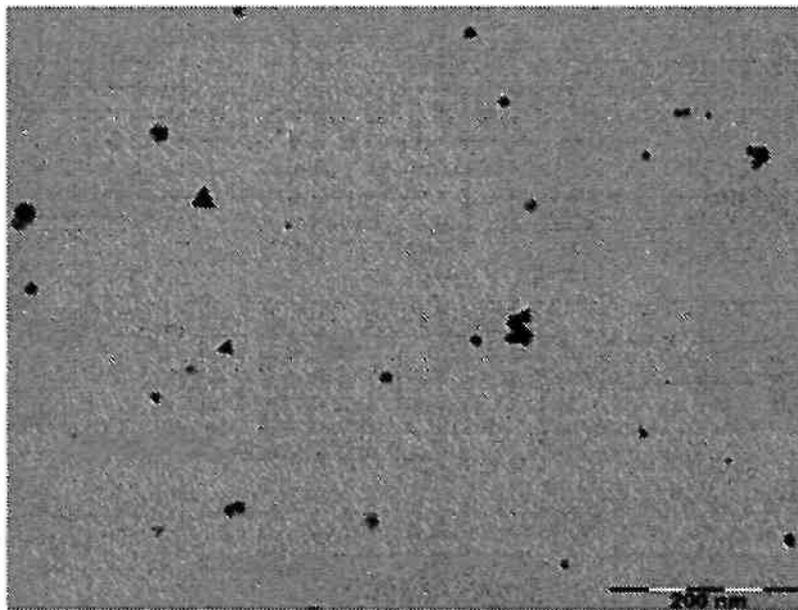


FIG. 57A2

GB-079

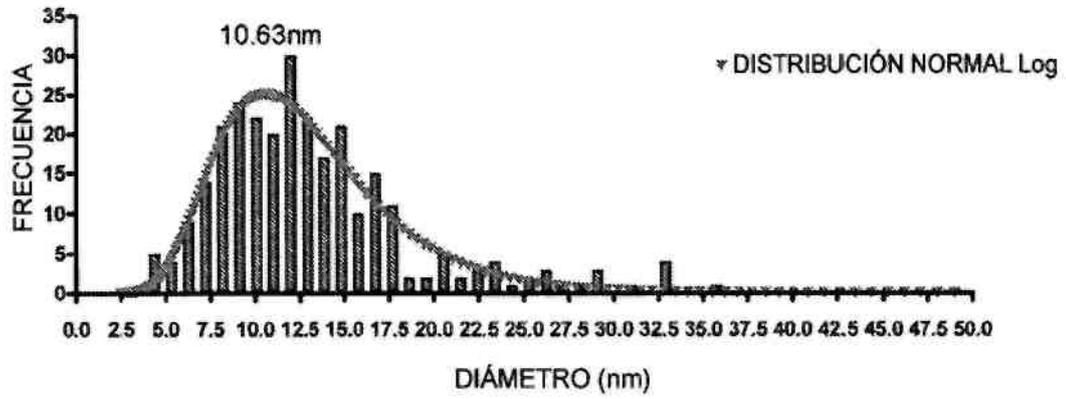


FIG. 57B

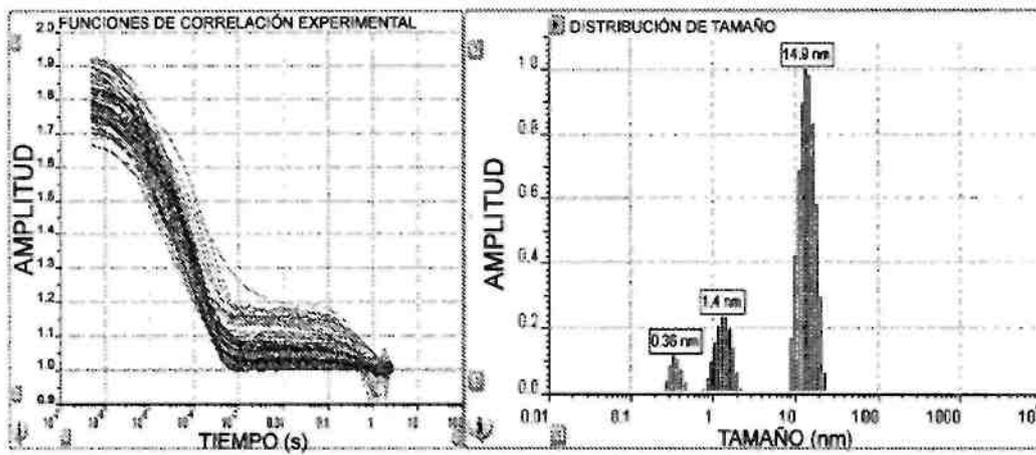


FIG. 57C

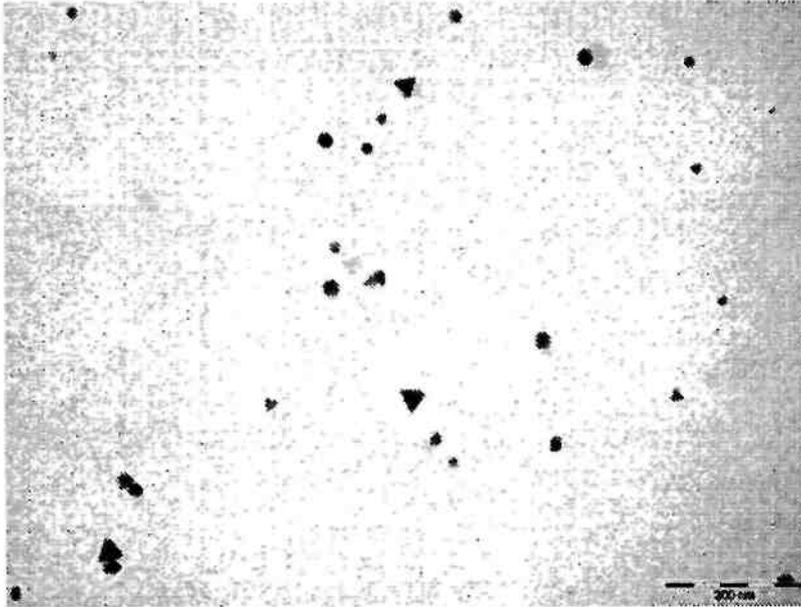


FIG. 58A1

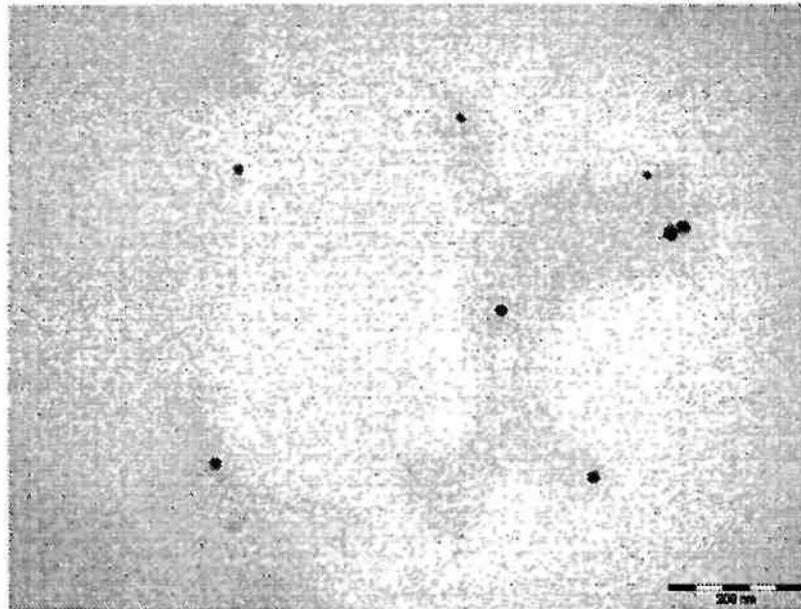


FIG. 58A2

GB-089

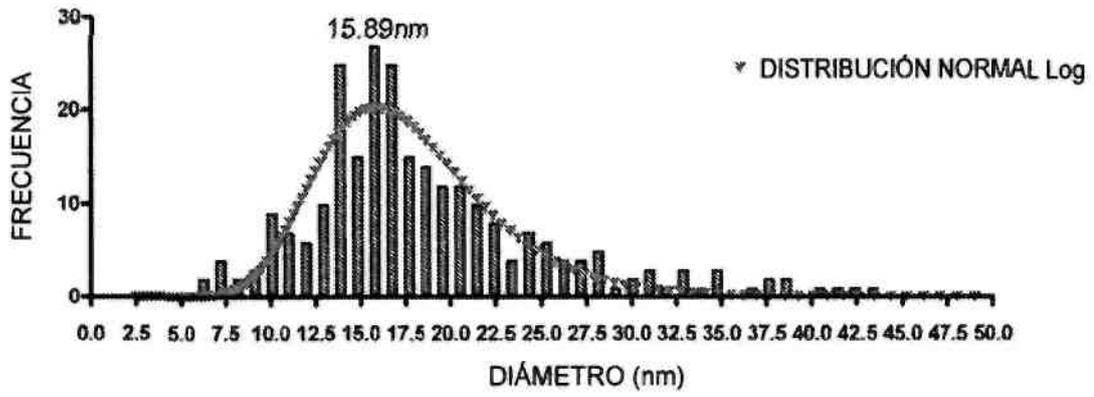


FIG. 58B

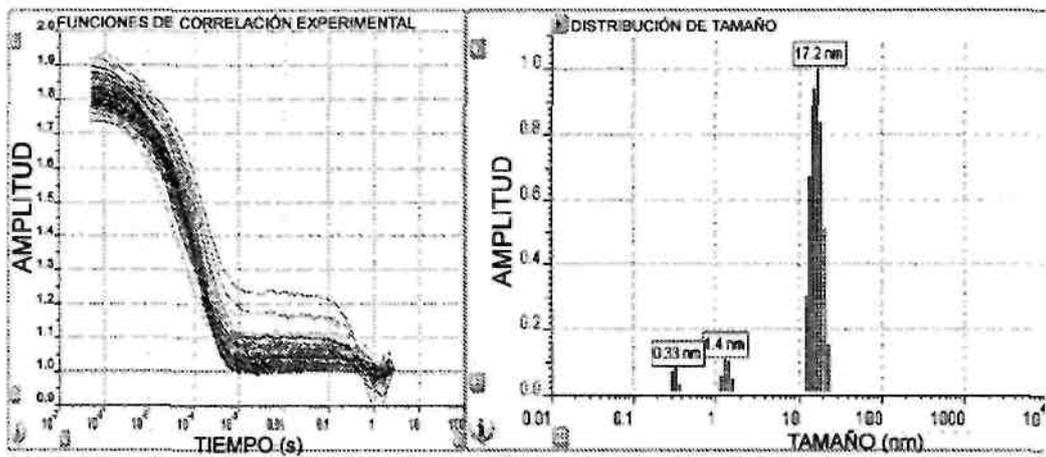


FIG. 58C

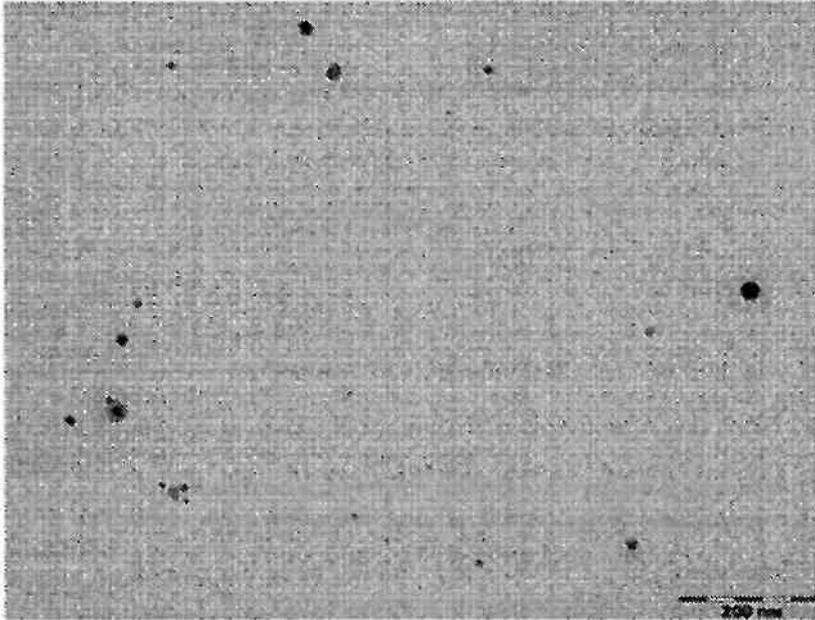


FIG. 59A1

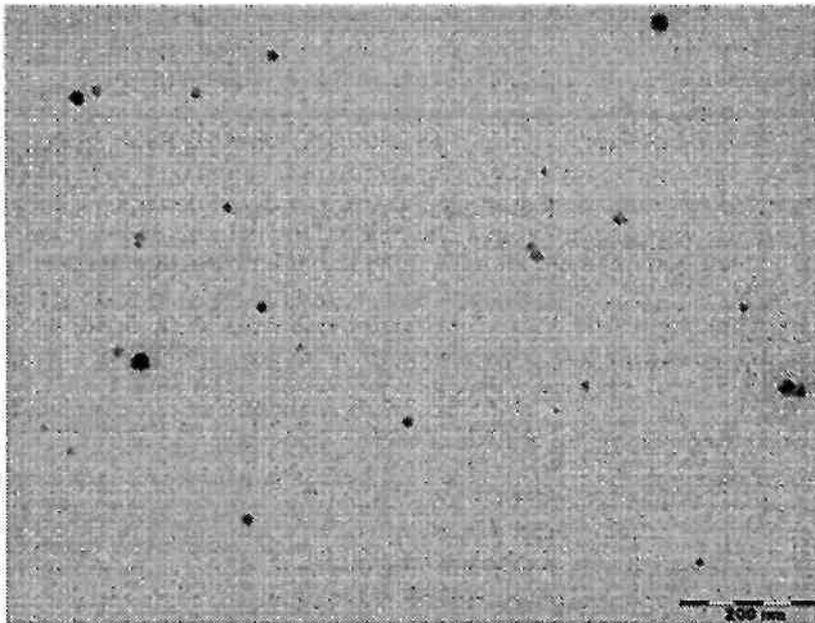


FIG. 59A2

GB-062

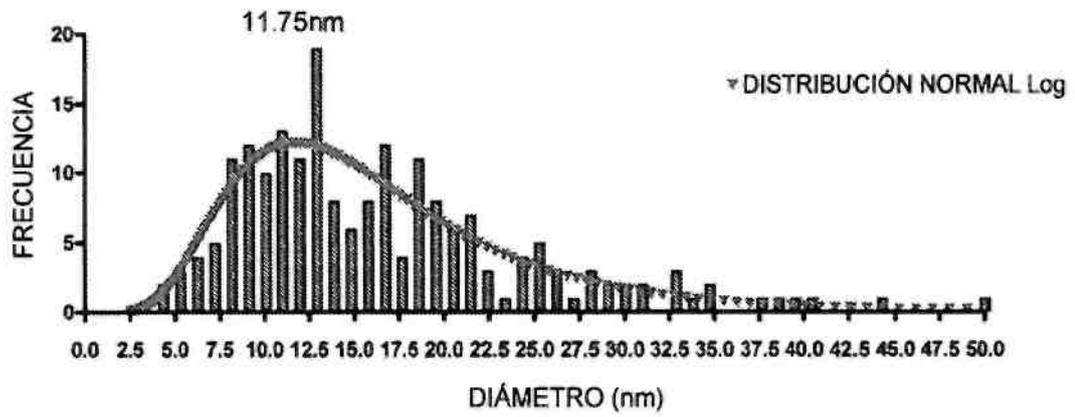


FIG. 59B

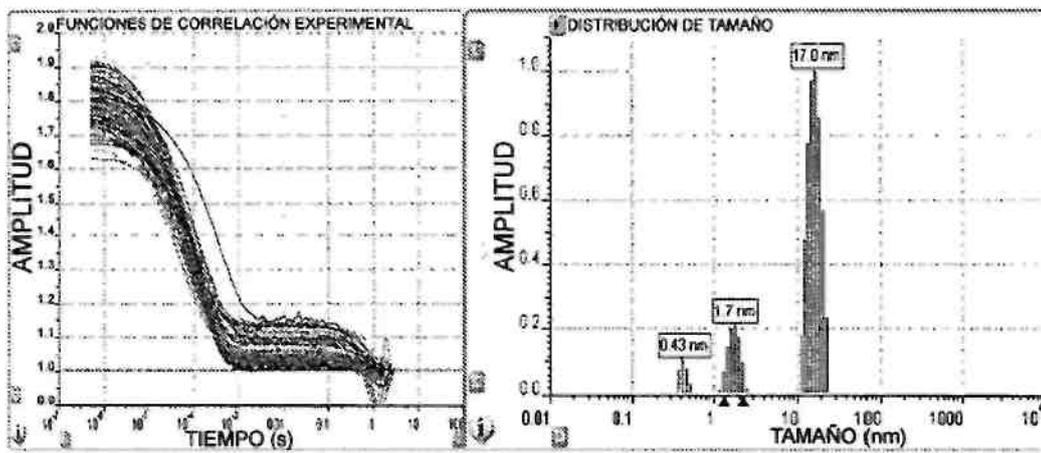


FIG. 59C

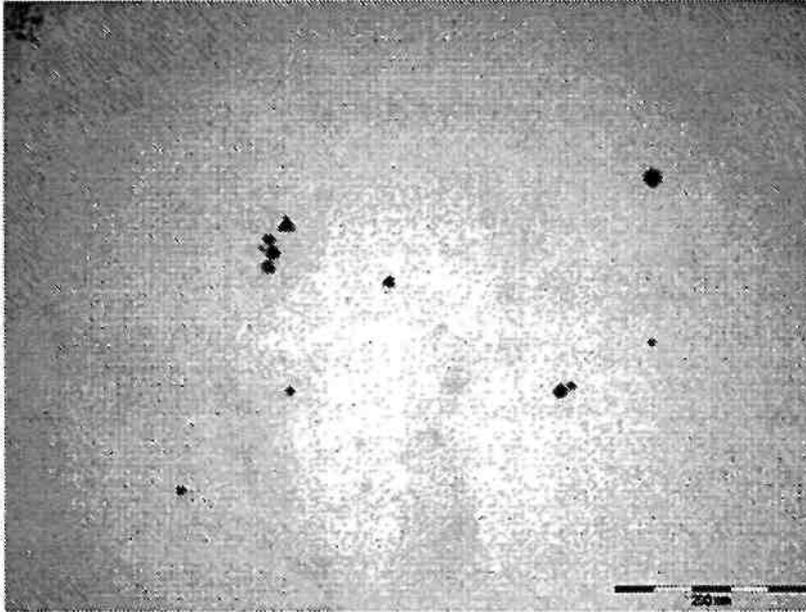


FIG. 60A1

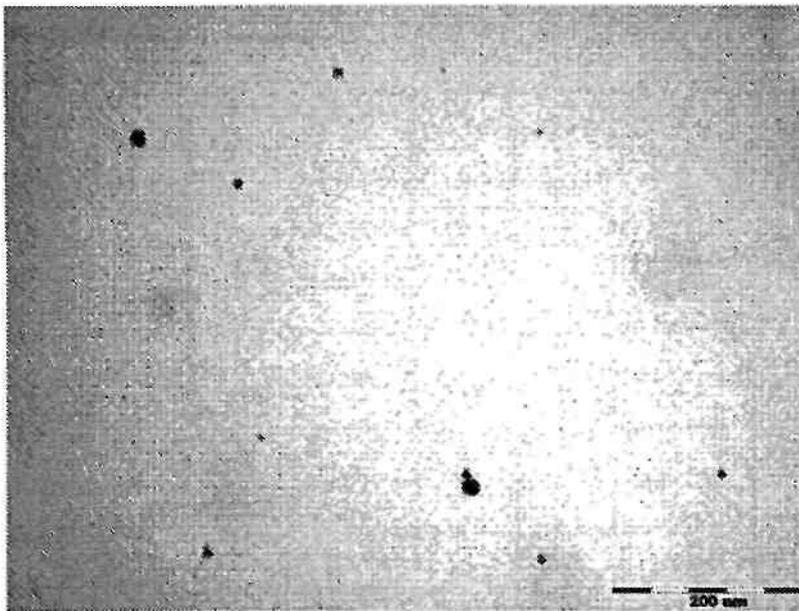


FIG. 60A2

GB-076

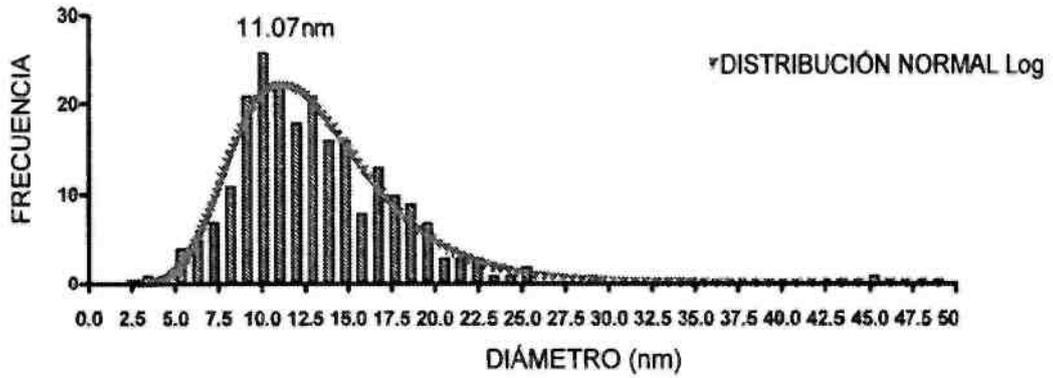


FIG. 60B

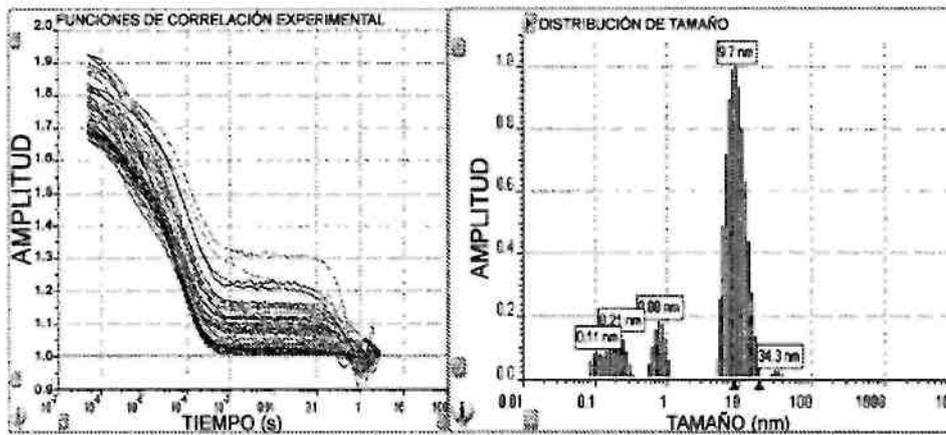


FIG. 60C

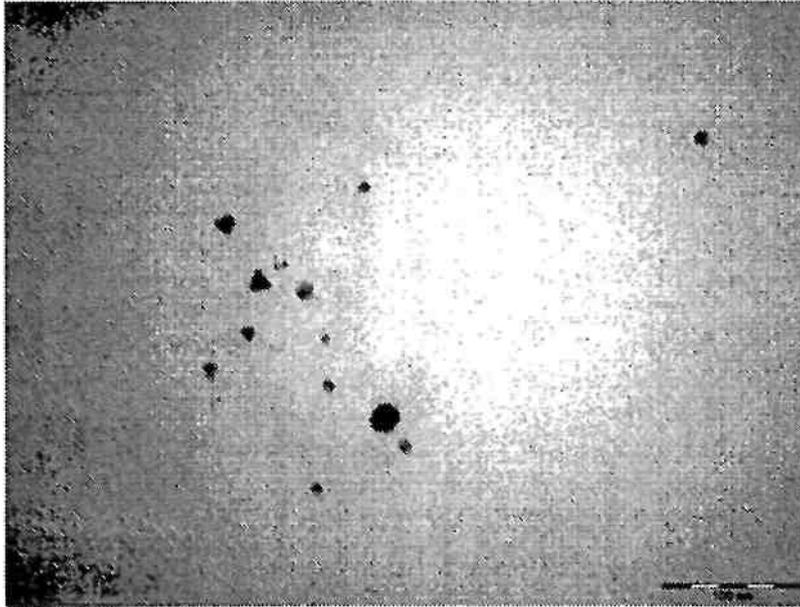


FIG. 61A1

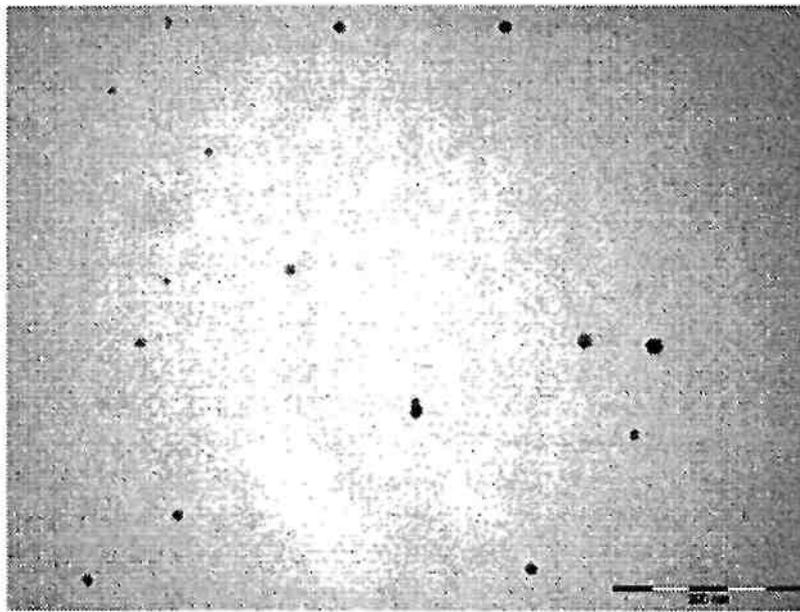


FIG. 61A2

GB-077

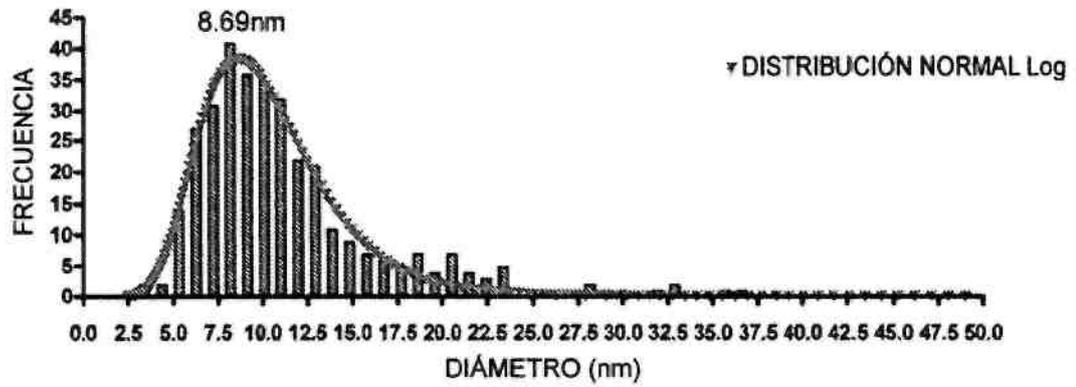


FIG. 61B

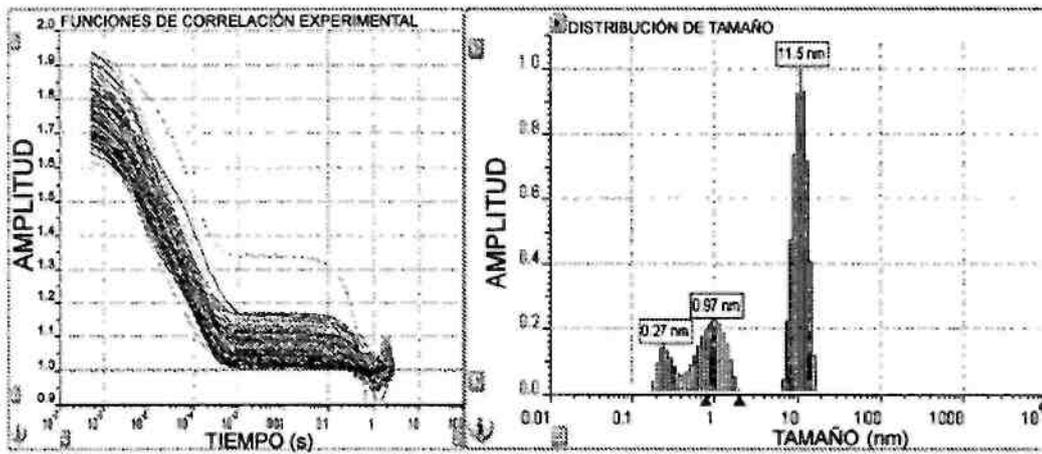


FIG. 61C

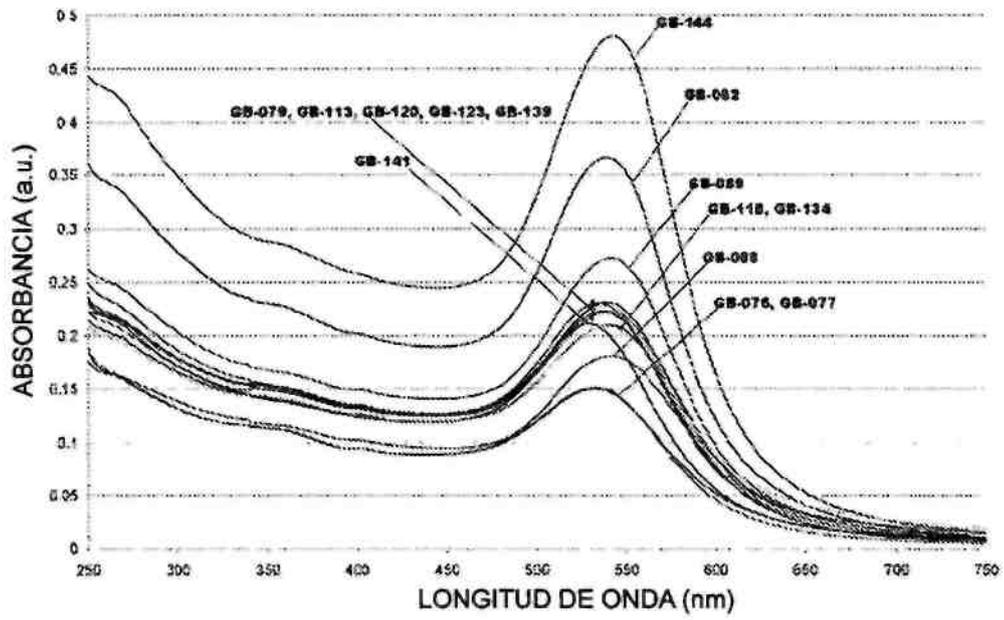


FIG. 61D

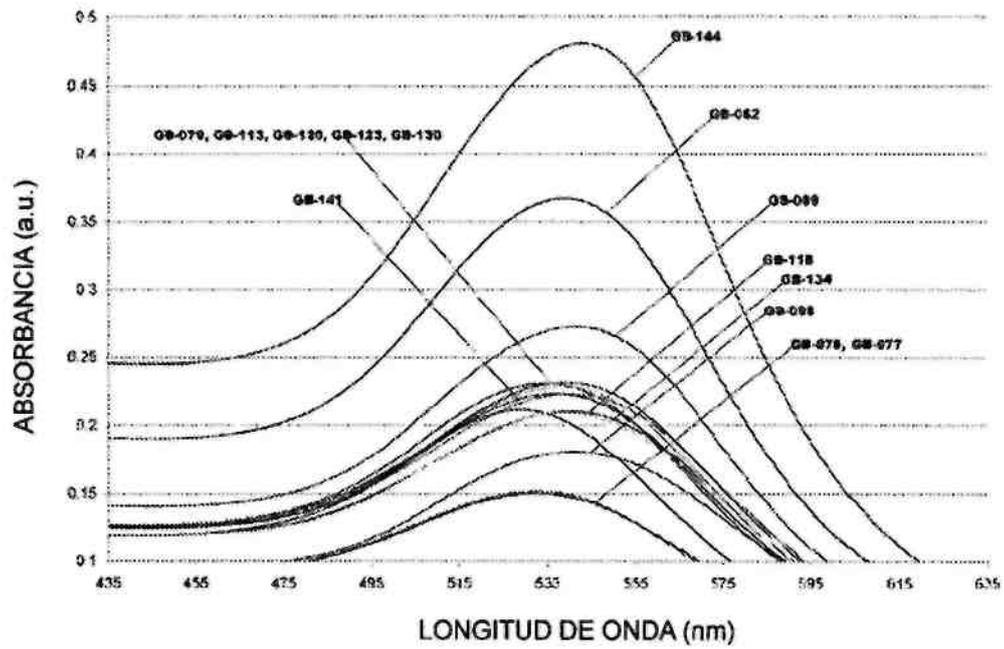


FIG. 61E

GB-151

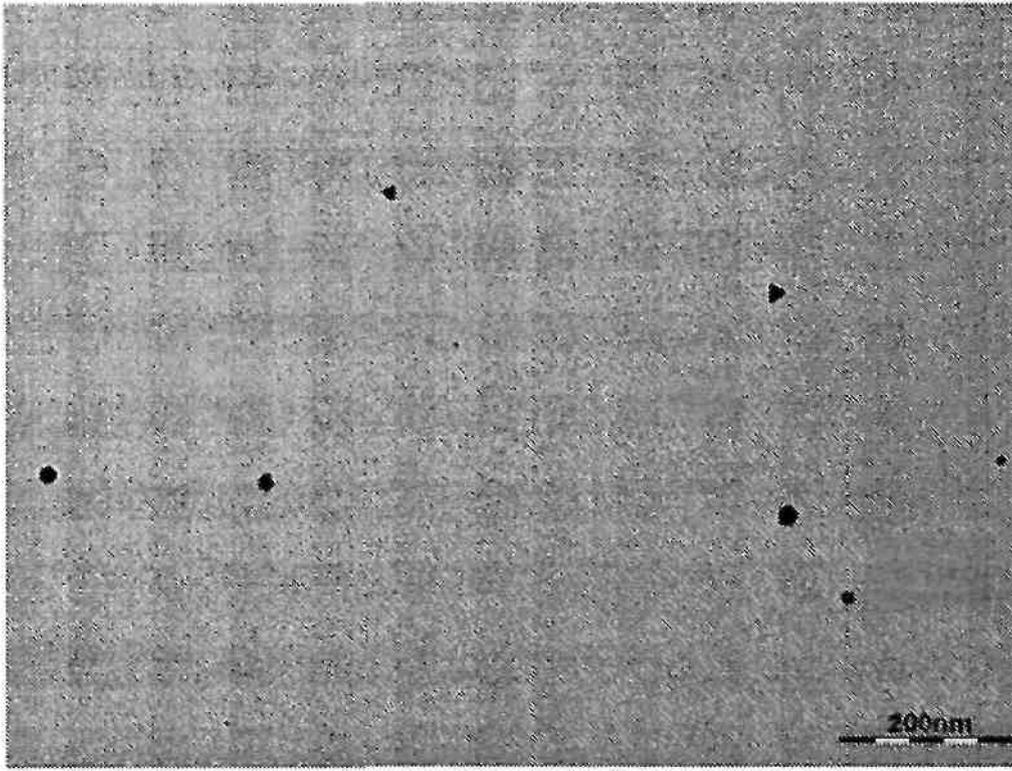


FIG. 62A

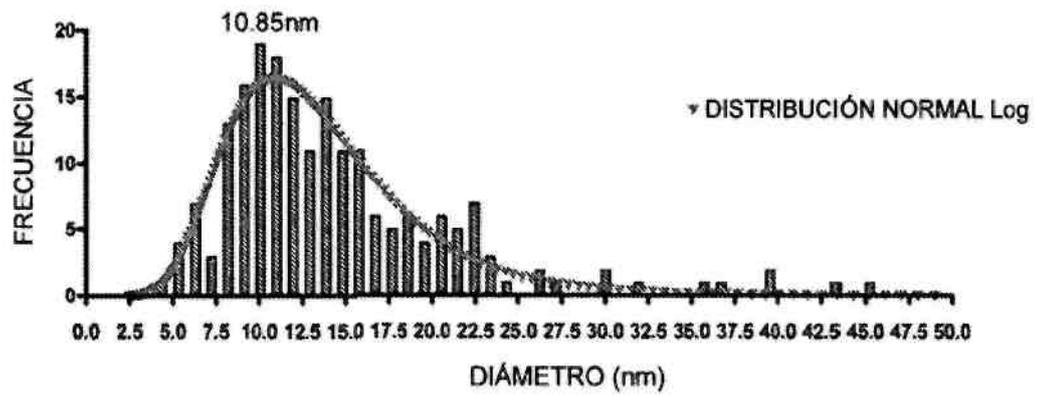


FIG. 62B

GB-188

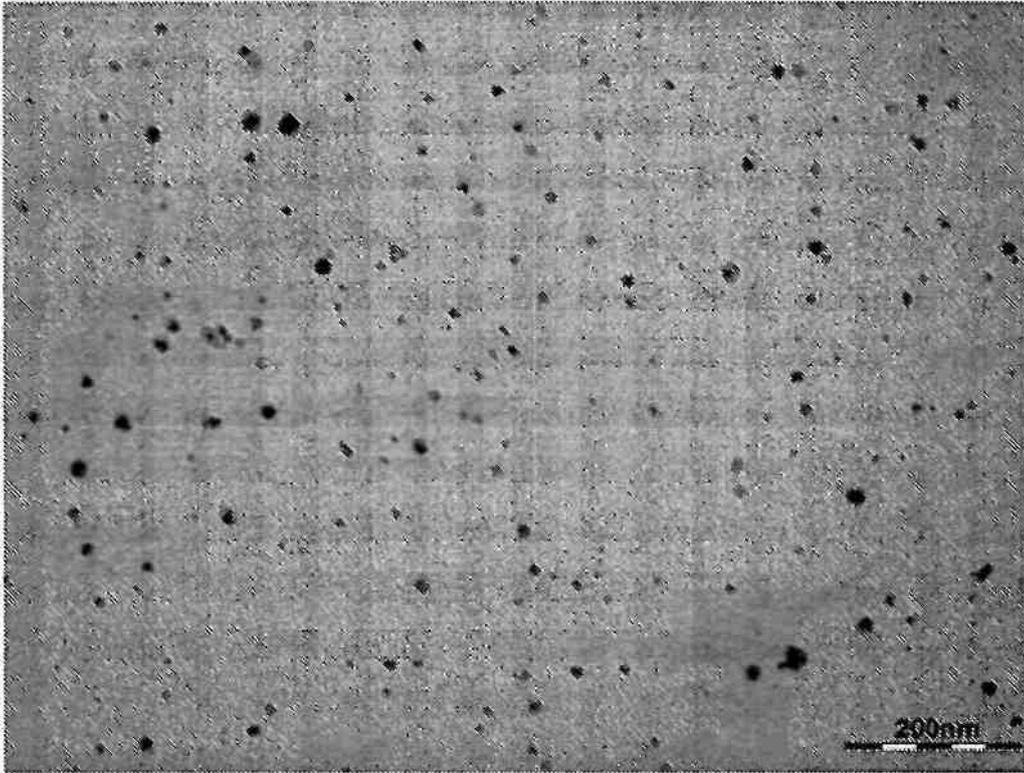


FIG. 63A

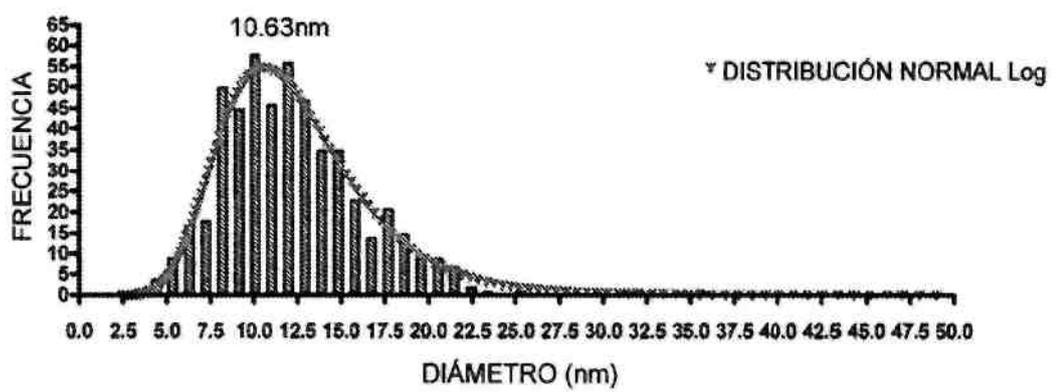


FIG. 63B

GB-175

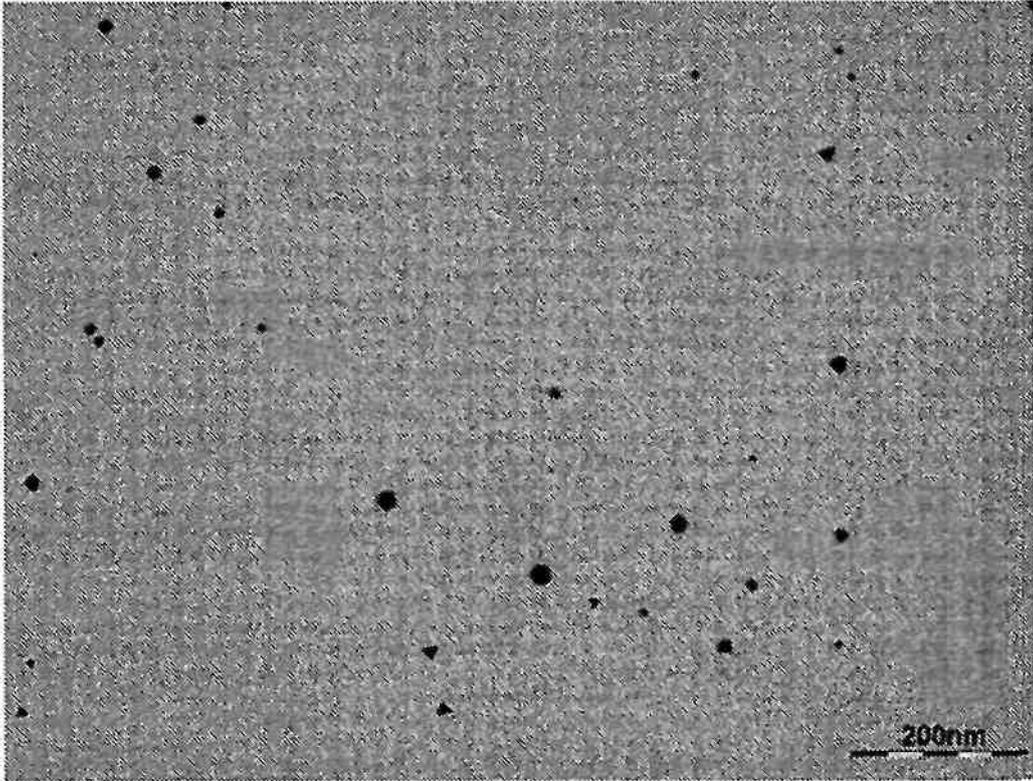


FIG. 64A

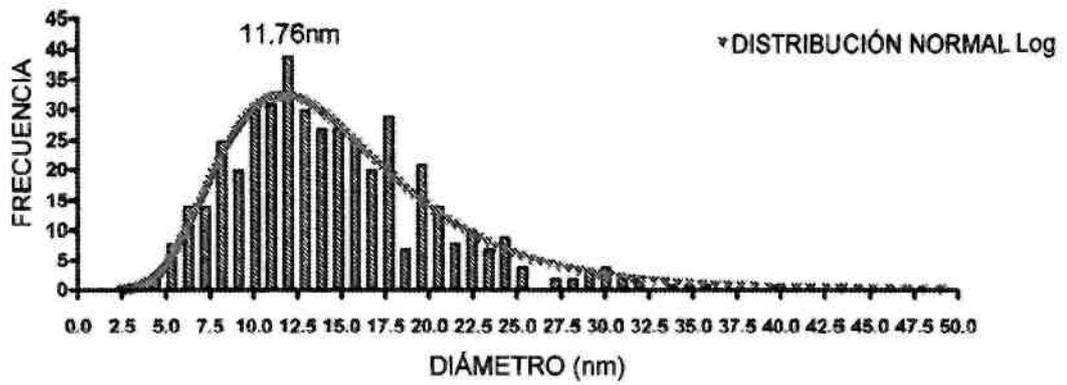


FIG. 64B

GB-177

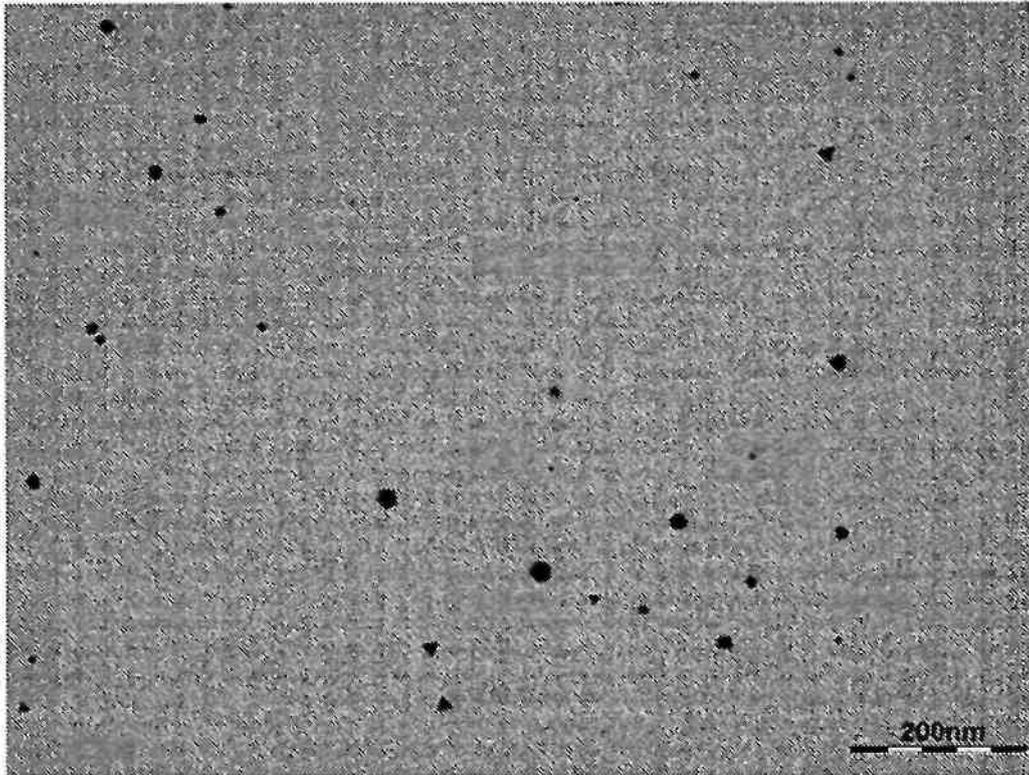


FIG. 65A

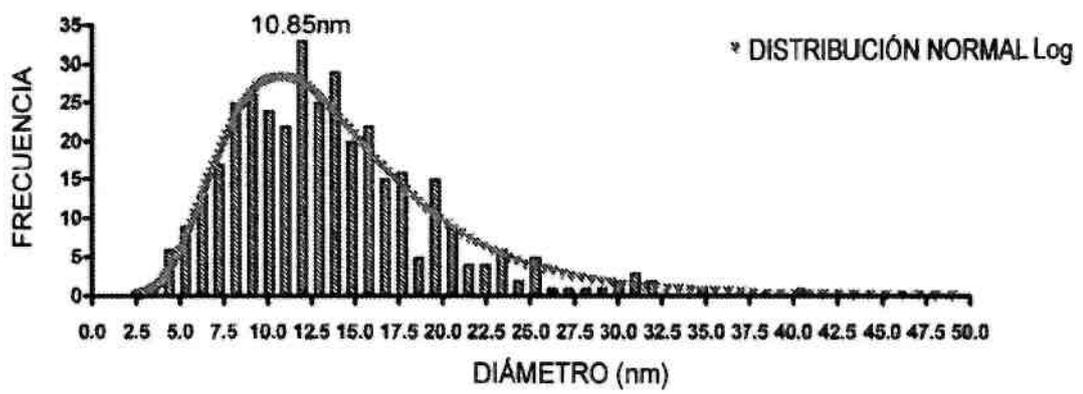


FIG. 65B

GB-176

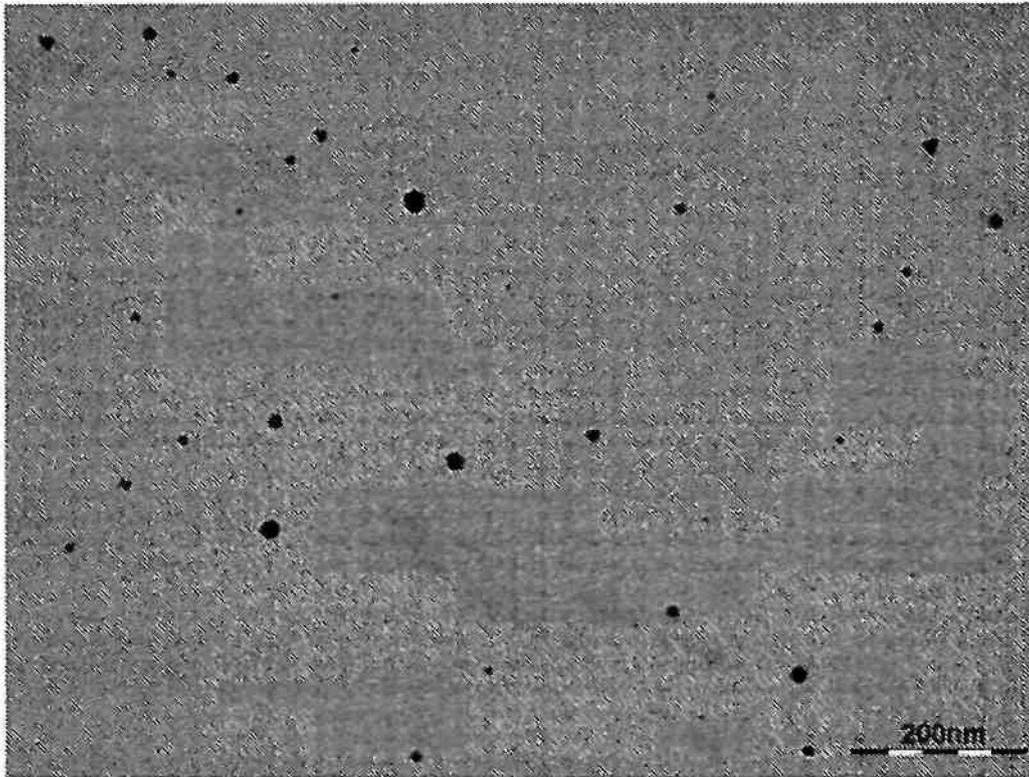


FIG. 66A

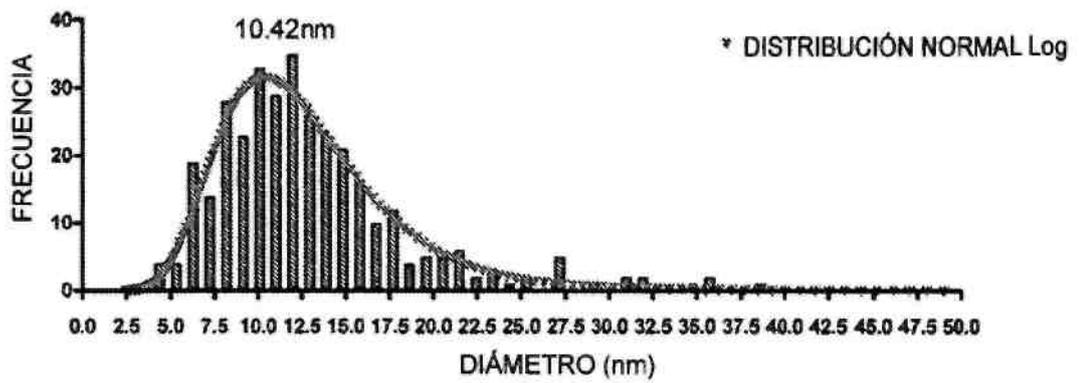


FIG. 66B

GB-189

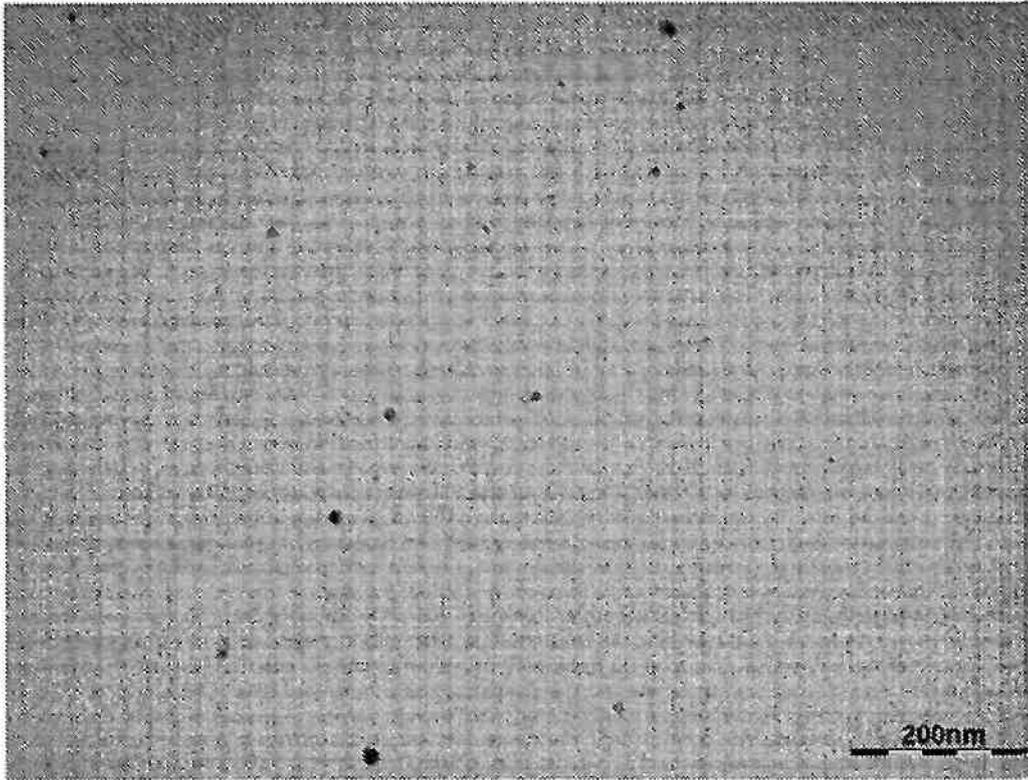


FIG. 67A

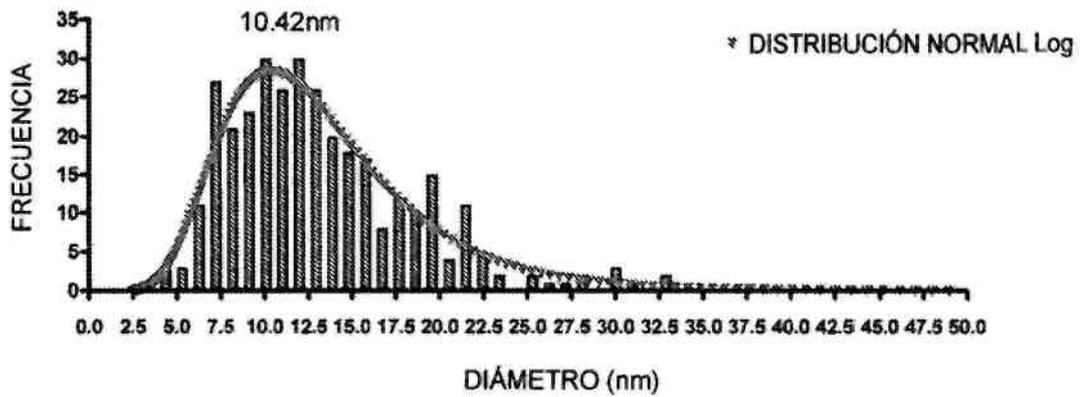


FIG. 67B

GB-194

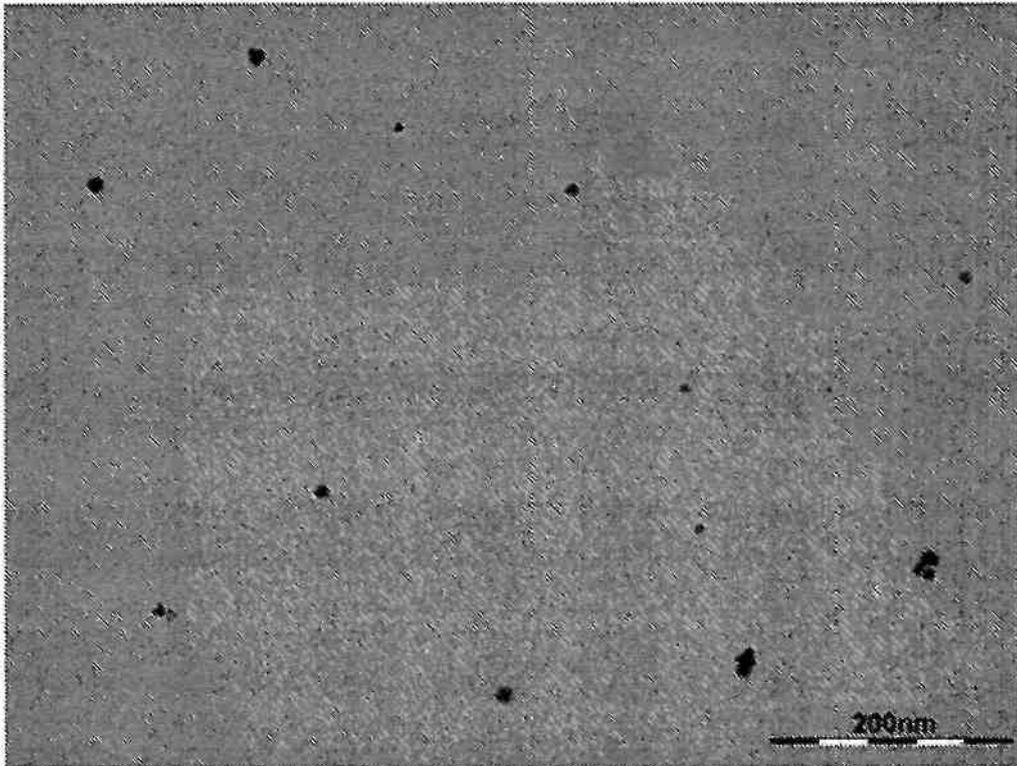


FIG. 68A

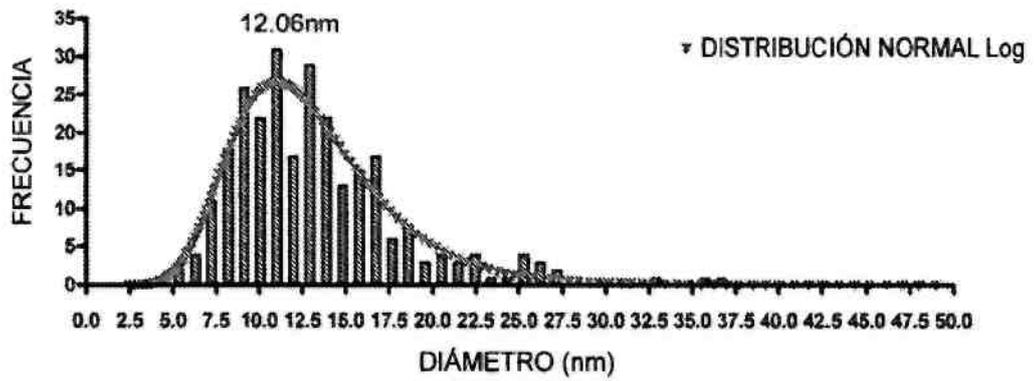


FIG. 68B

GB-195

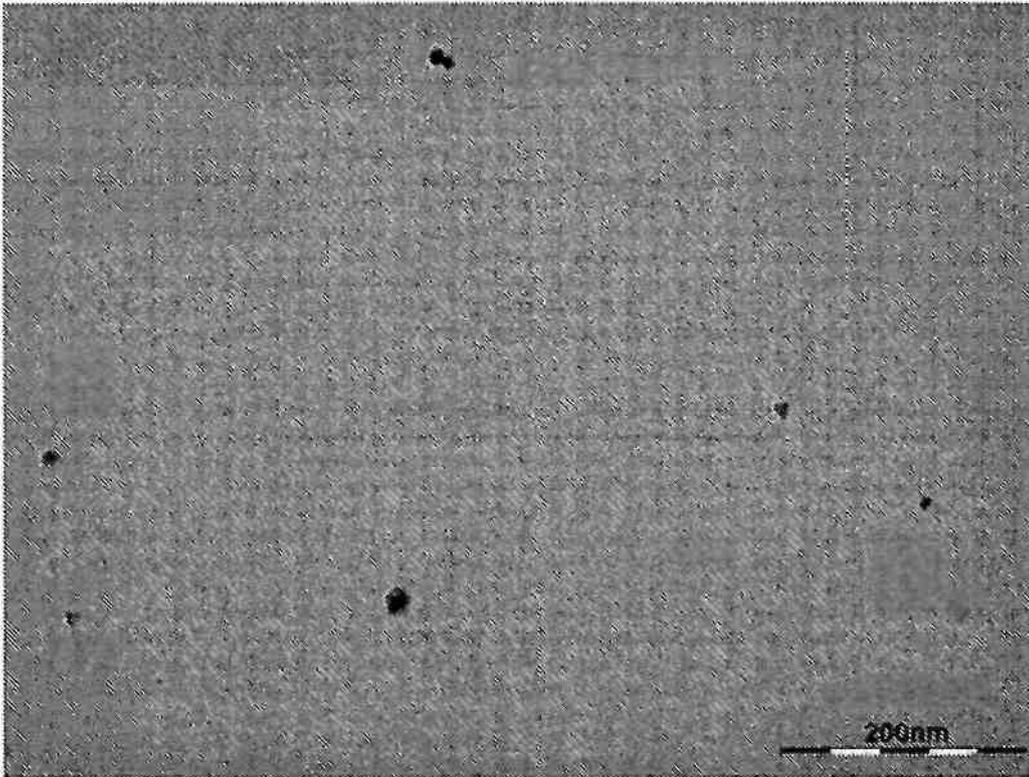


FIG. 69A

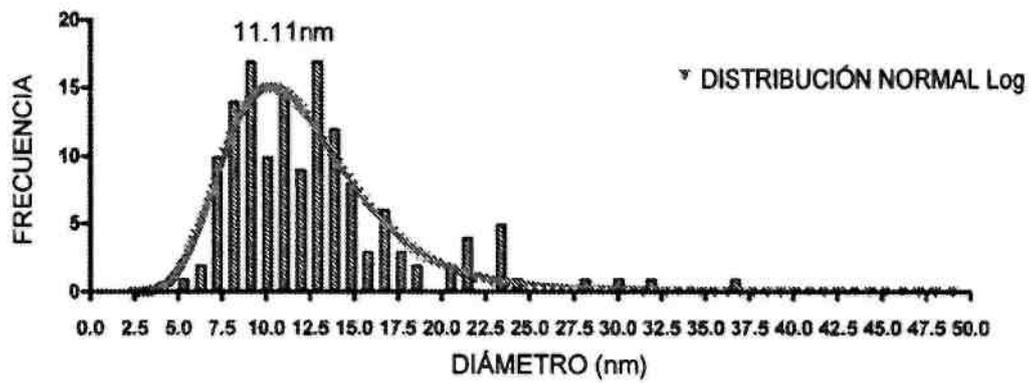


FIG. 69B

GB-196

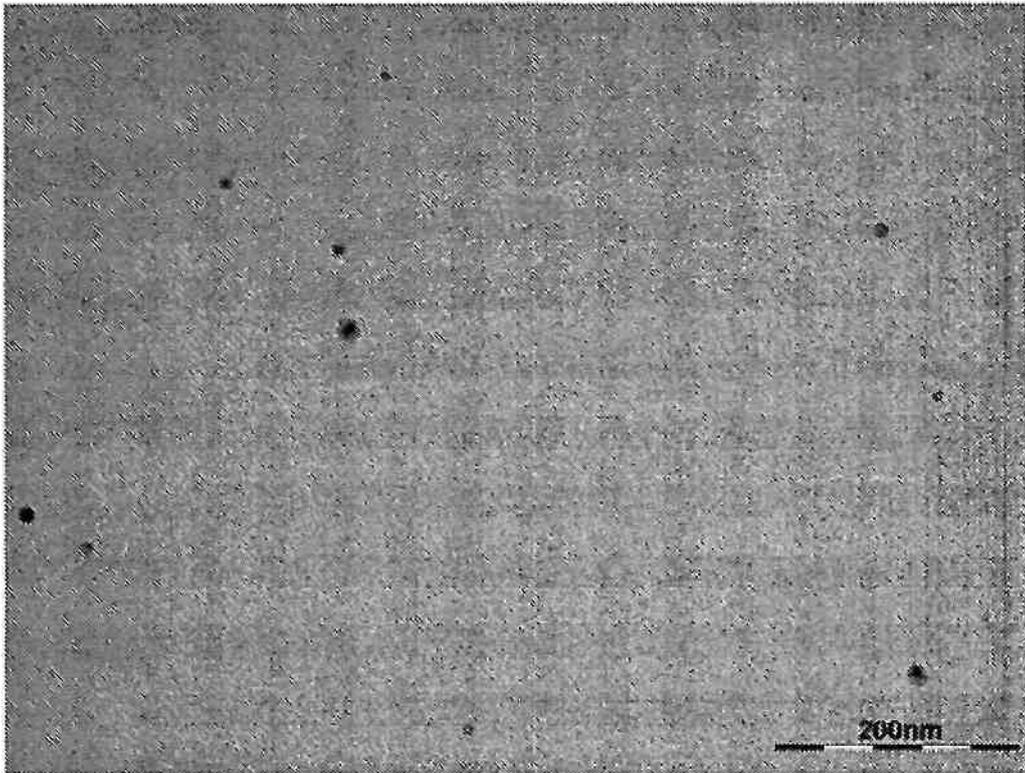


FIG. 70A

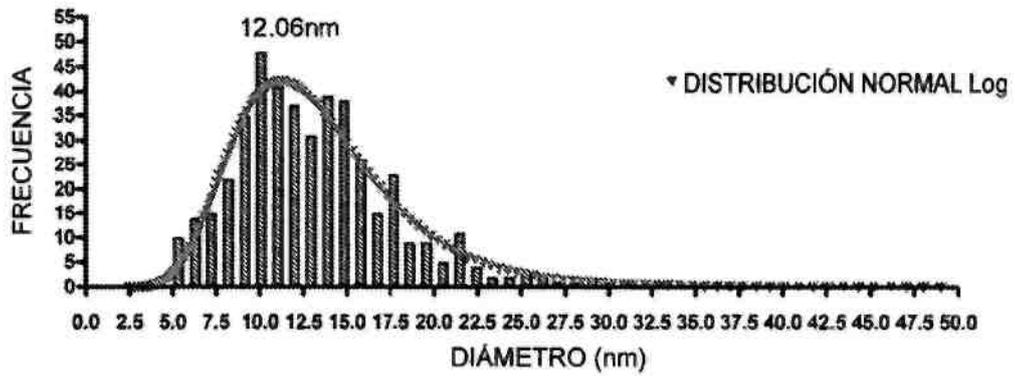


FIG. 70B

GB-198

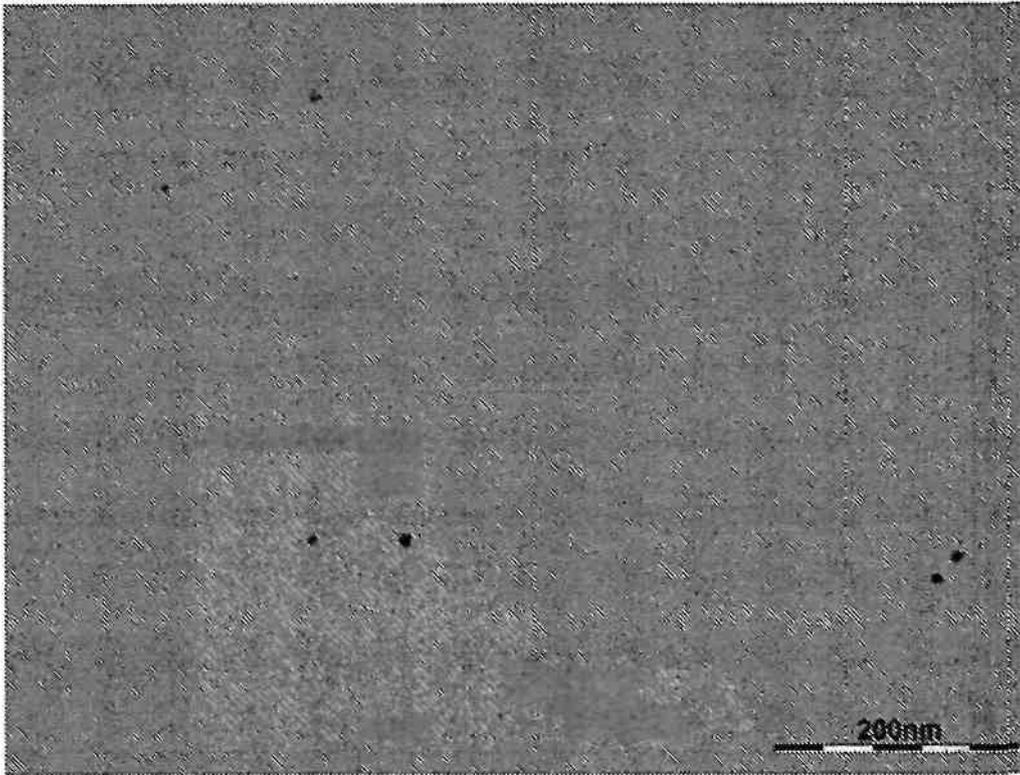


FIG. 71A

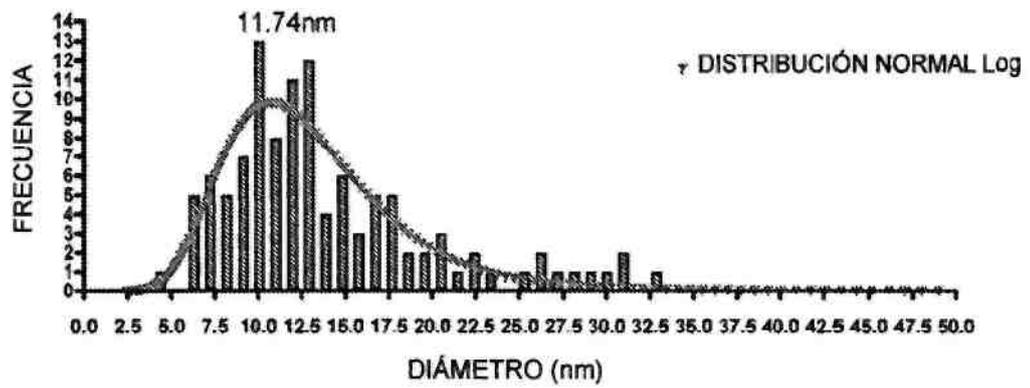


FIG. 71B

GB-199

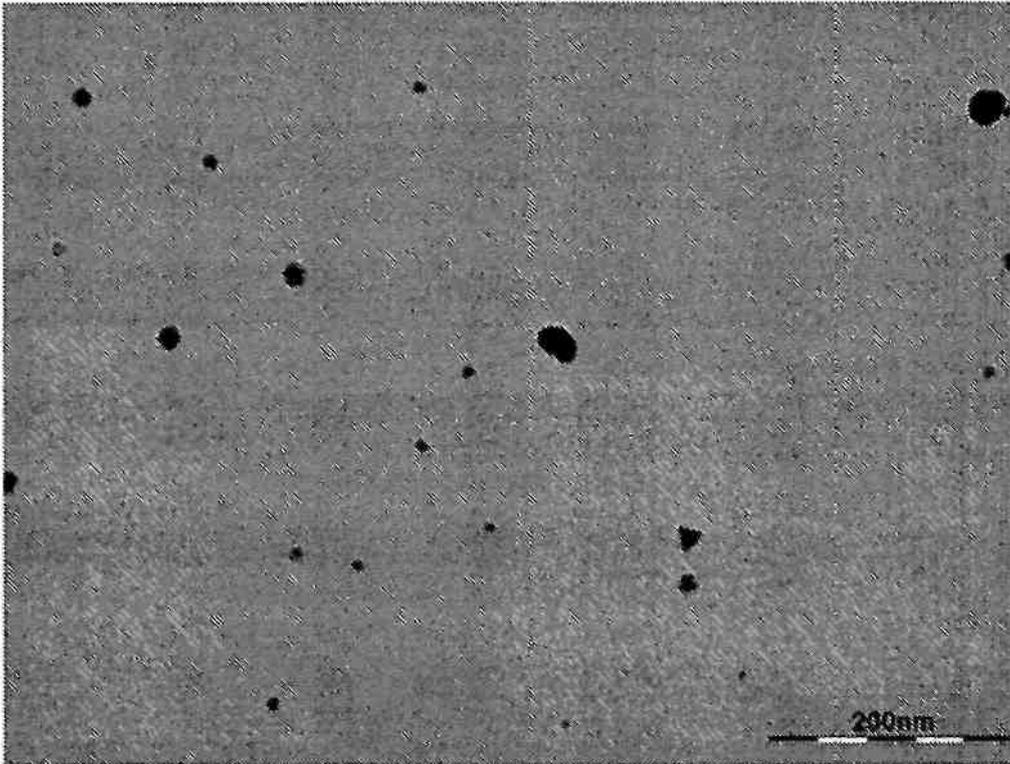


FIG. 72A

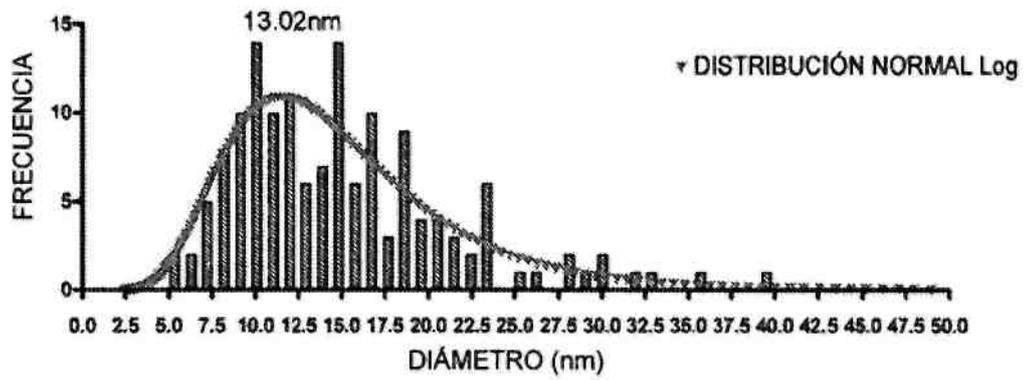


FIG. 72B

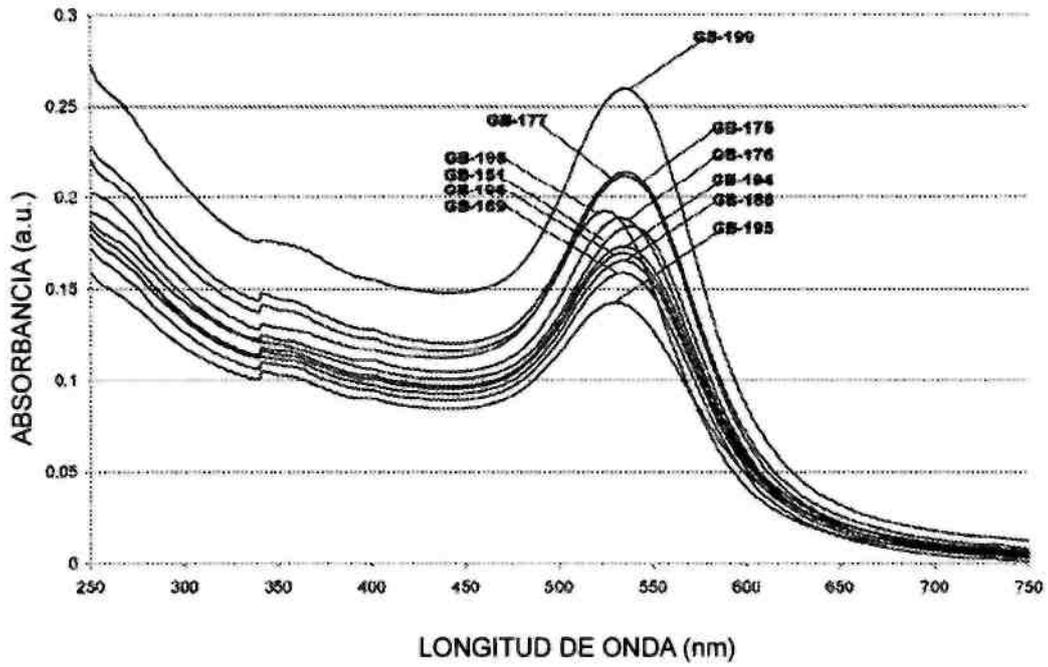


FIG. 72C

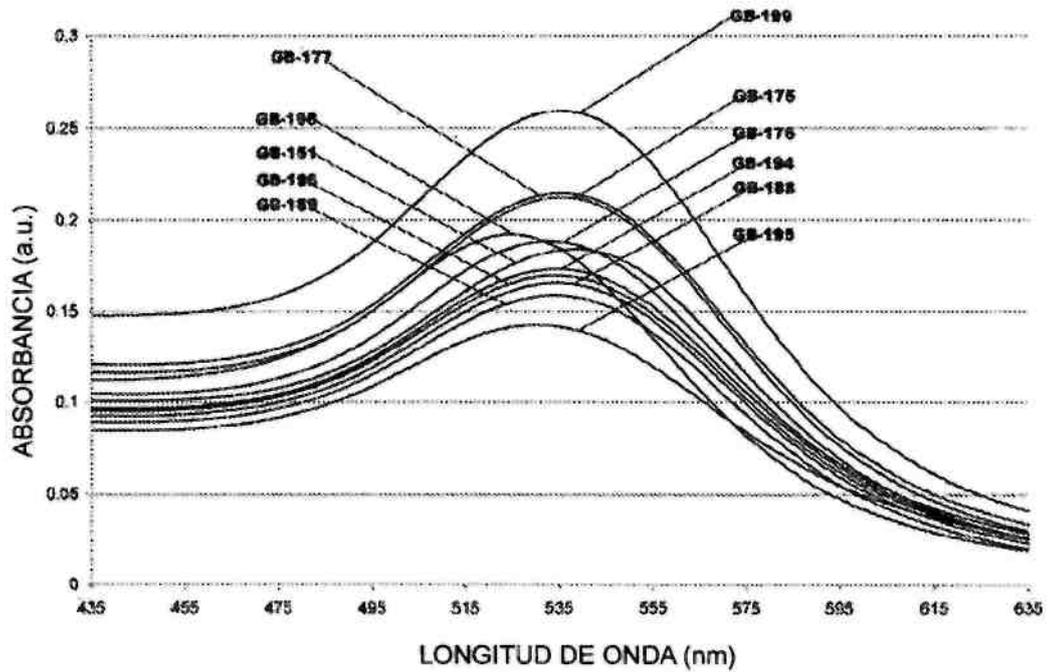


FIG. 72D

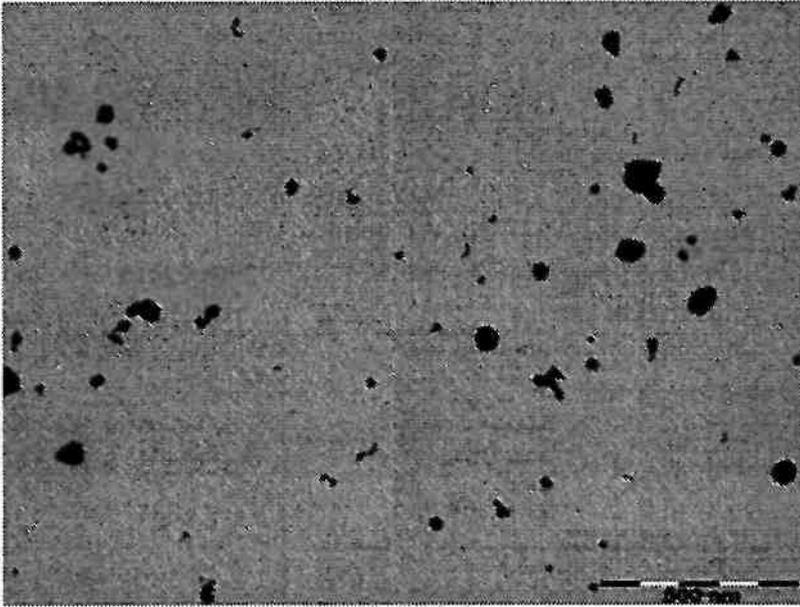


FIG. 73A1

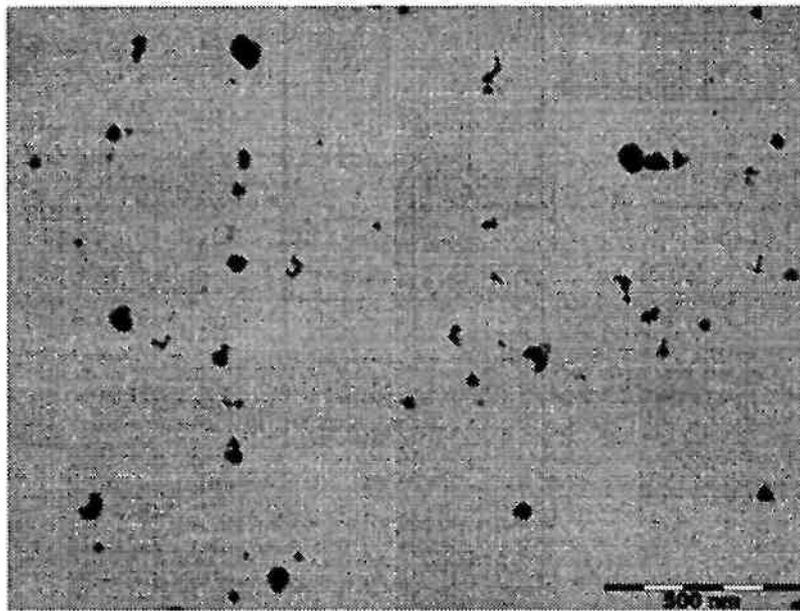


FIG. 73A2

Aurora-020

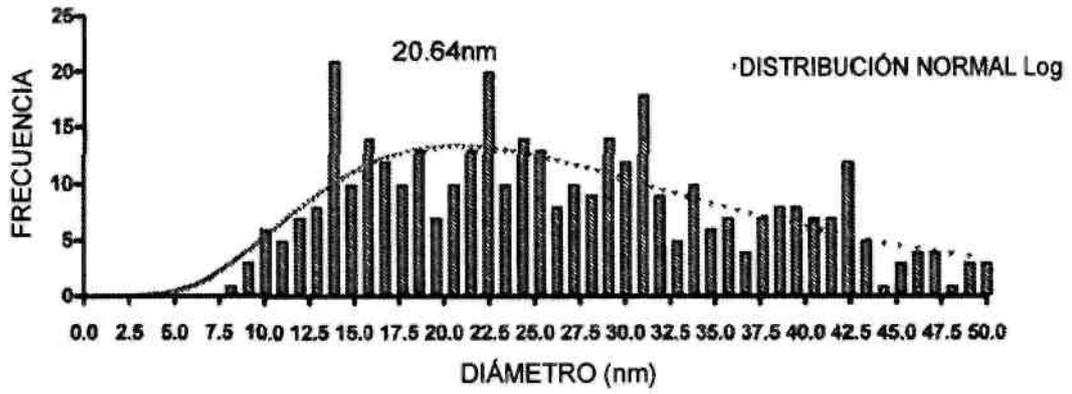


FIG. 73B

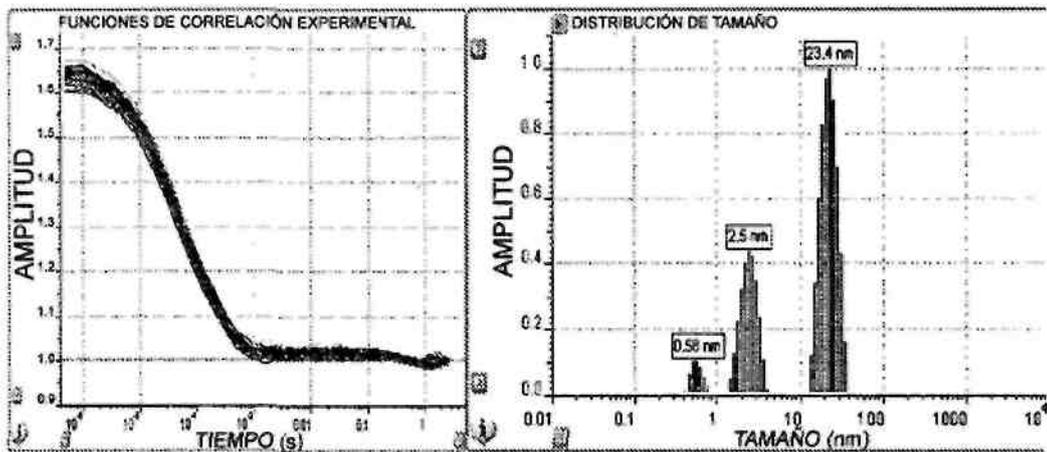


FIG. 73C

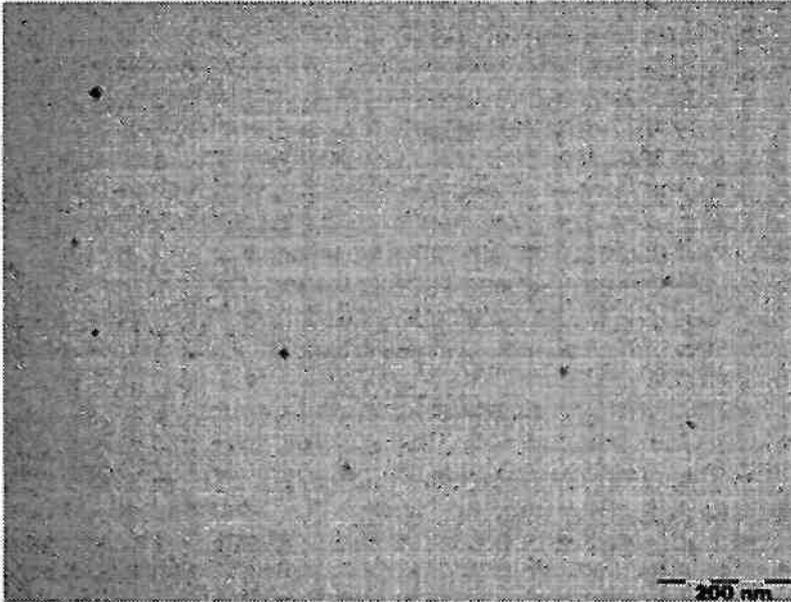


FIG. 74A1

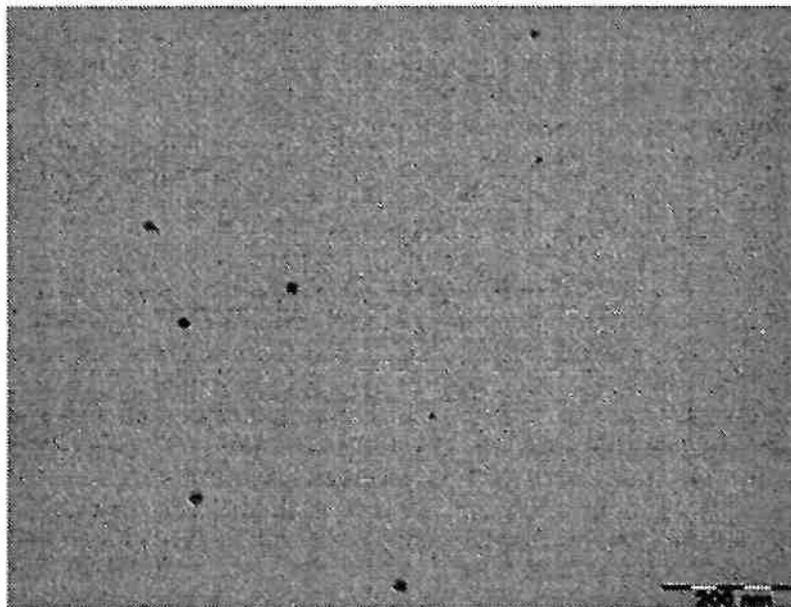


FIG. 74A2

GA-002

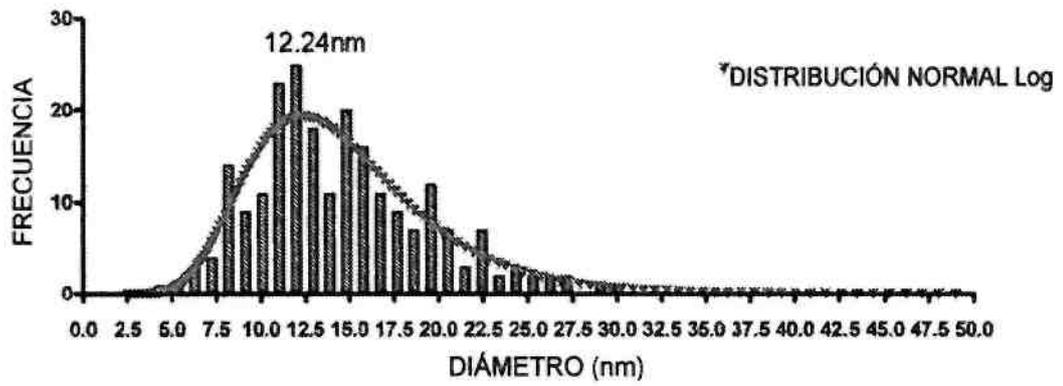


FIG. 74B

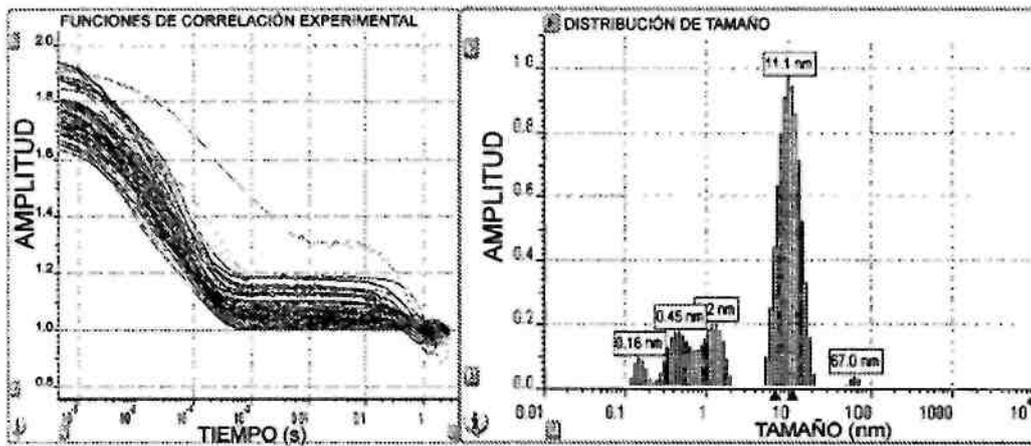


FIG. 74C

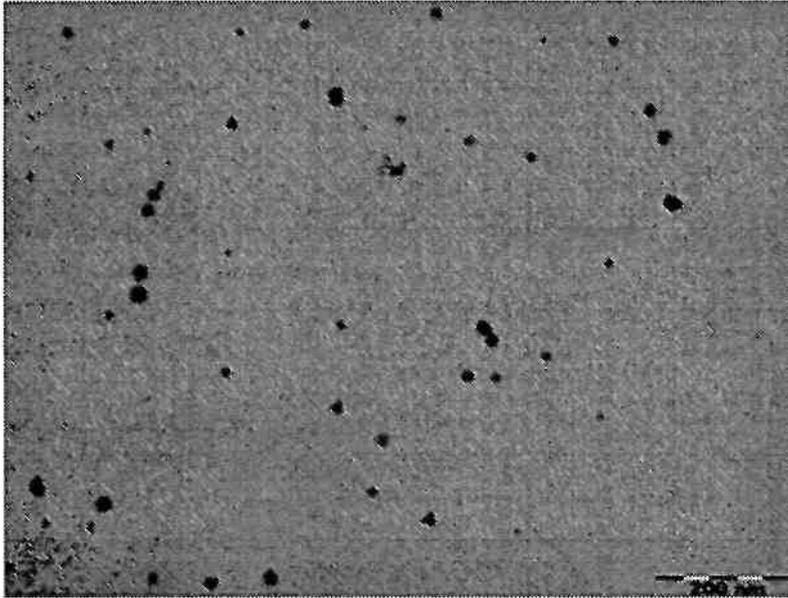


FIG. 75A1

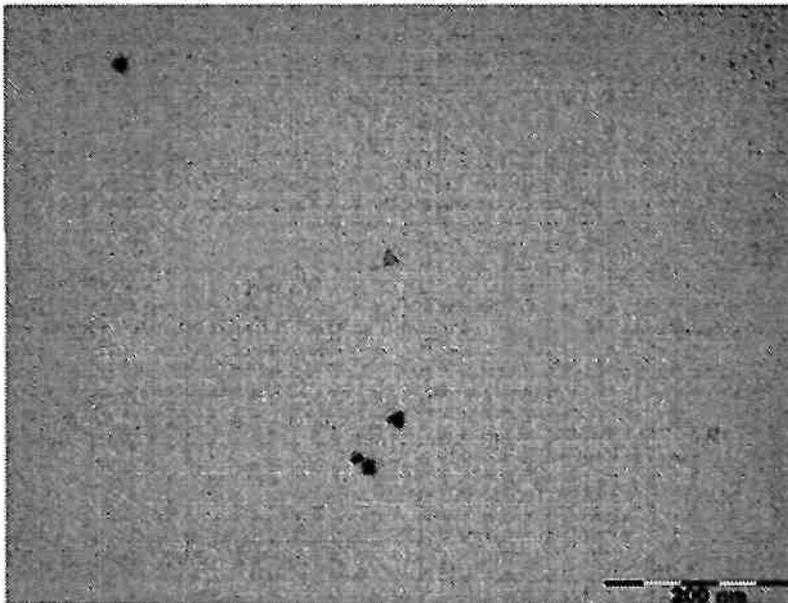


FIG. 75A2

GA-003

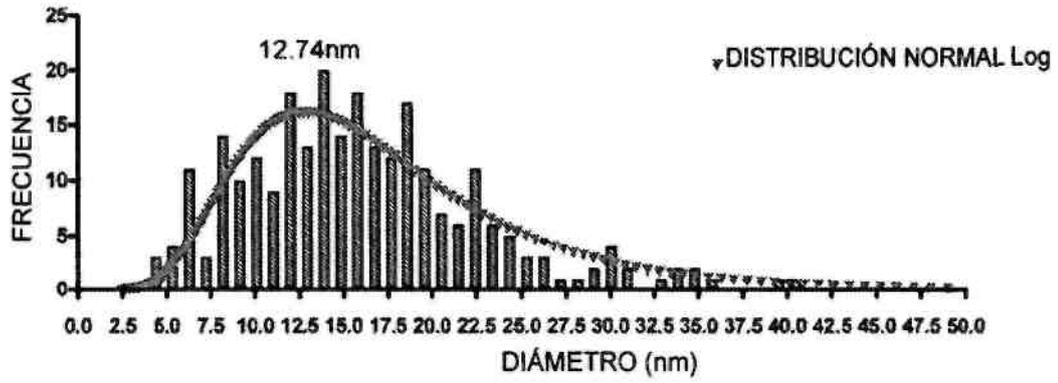


FIG. 75B

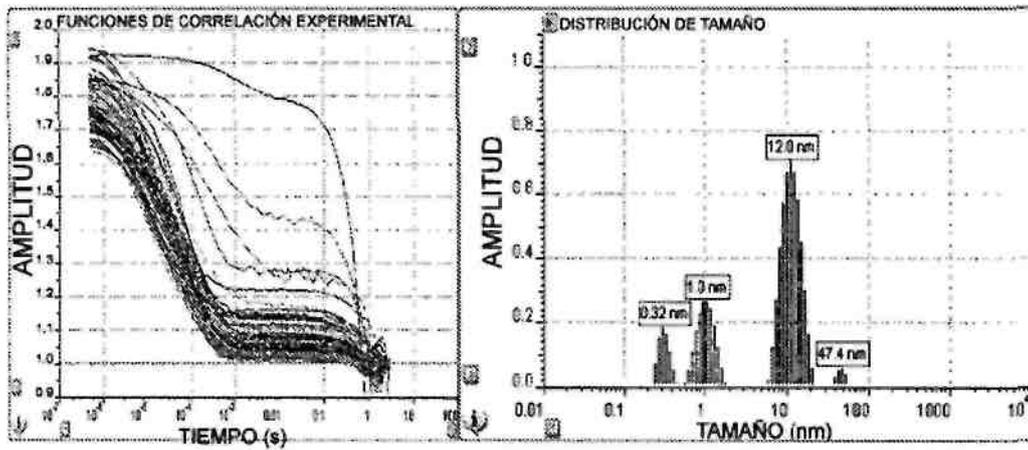


FIG. 75C

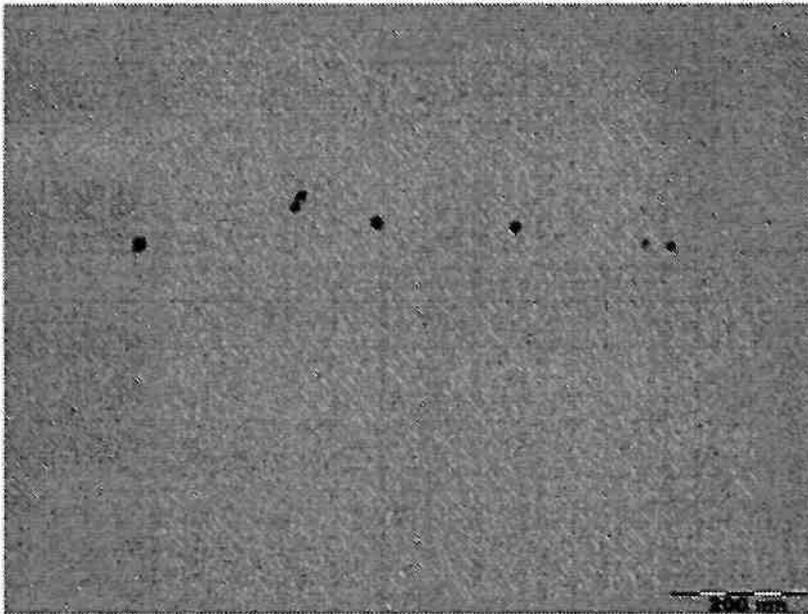


FIG. 76A1

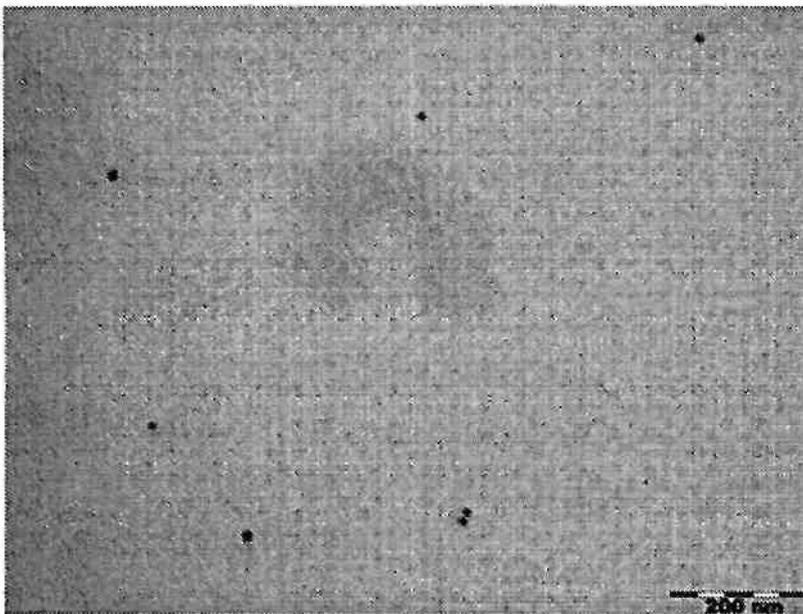


FIG. 76A2

GA-004

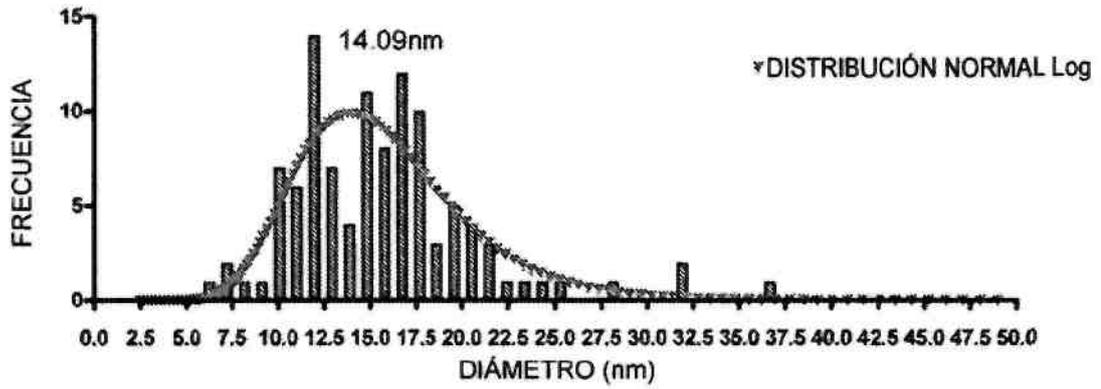


FIG. 76B

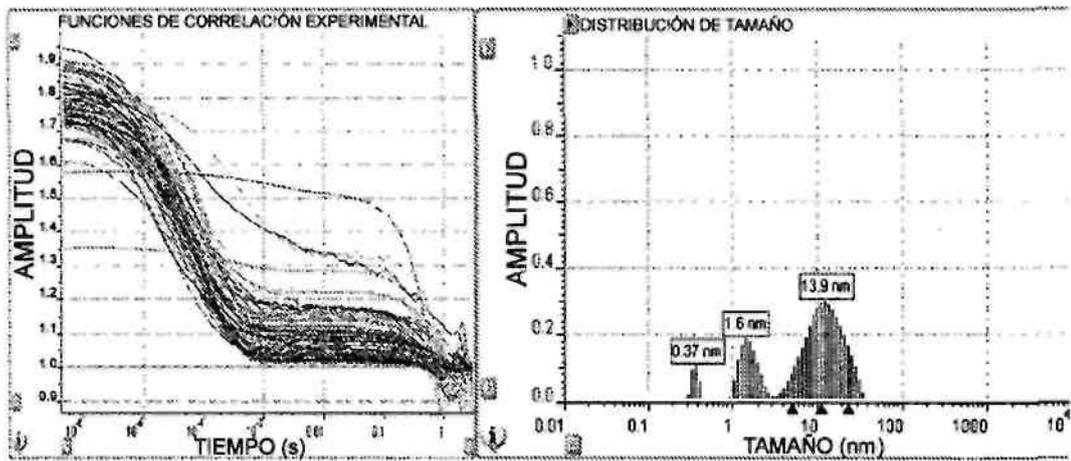


FIG. 76C

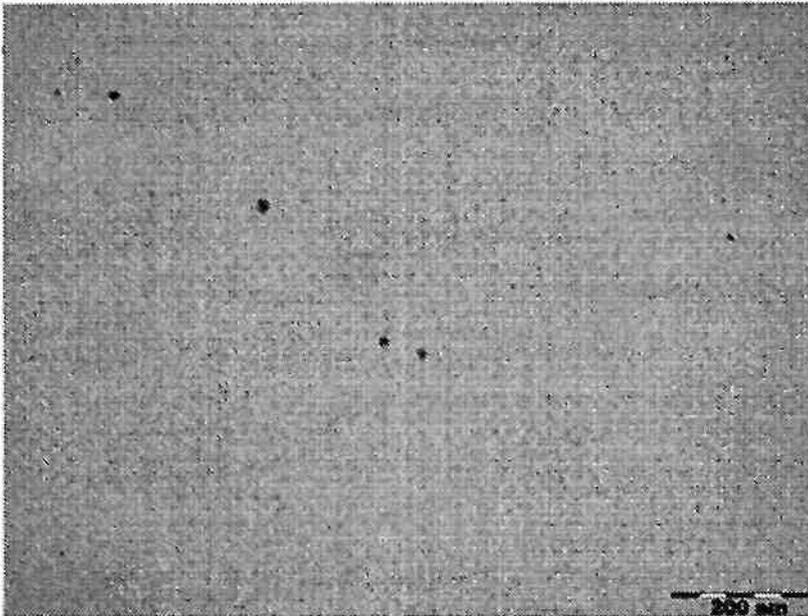


FIG. 77A1

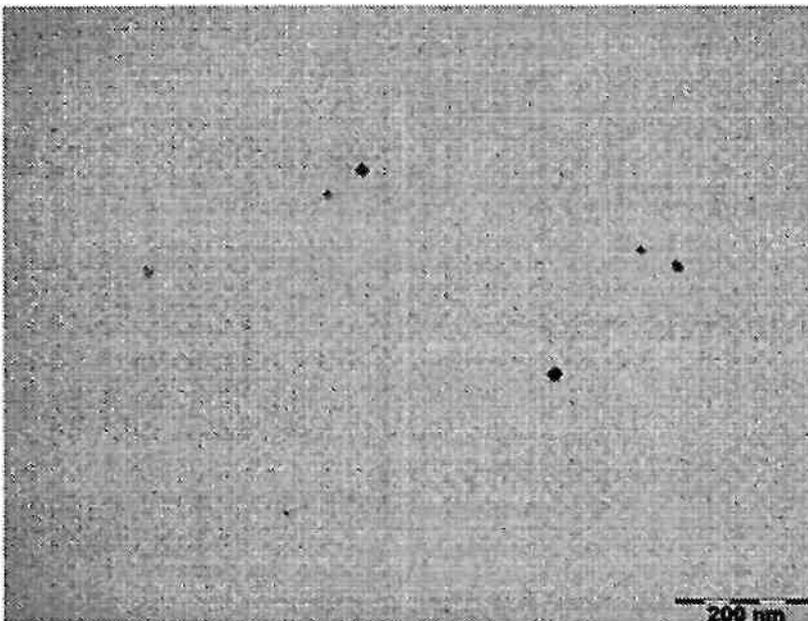


FIG. 77A2

GA-005

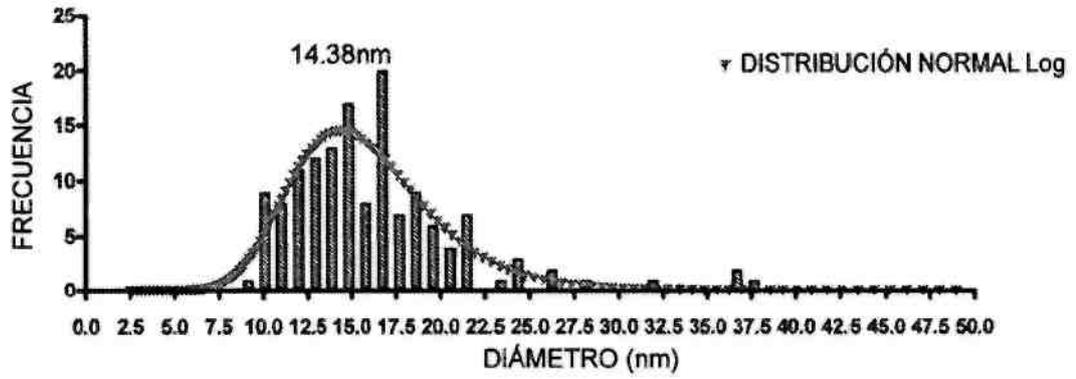


FIG. 77B

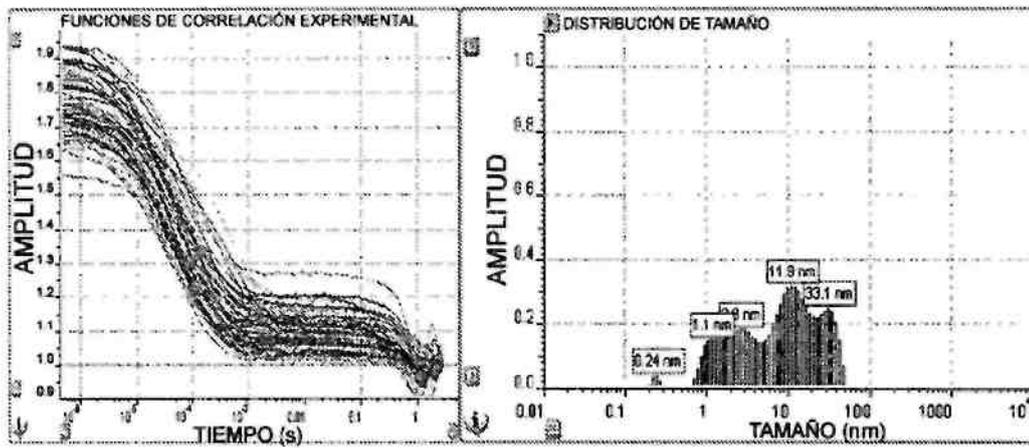


FIG. 77C

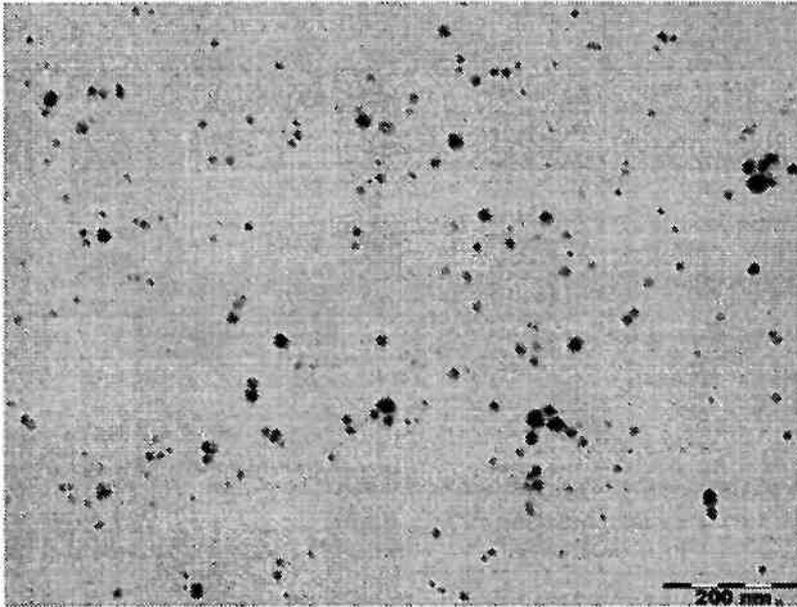


FIG. 78A1

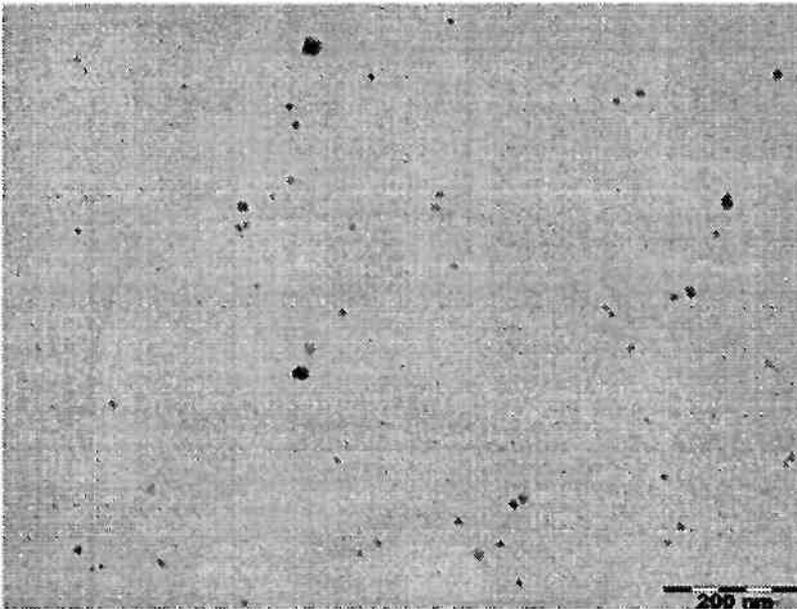


FIG. 78A2

GA-009

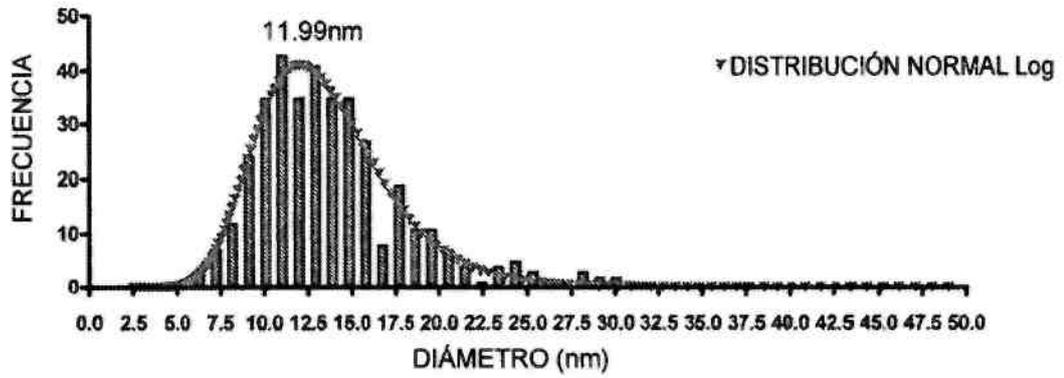


FIG. 78B

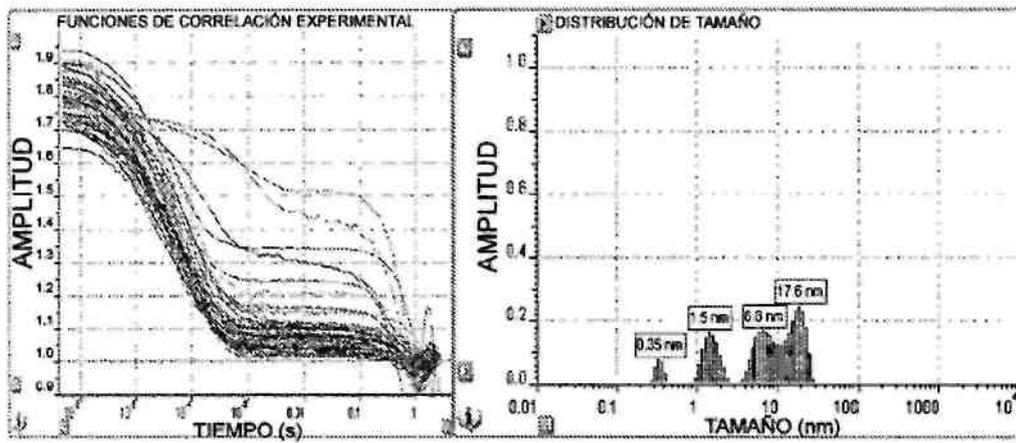


FIG. 78C

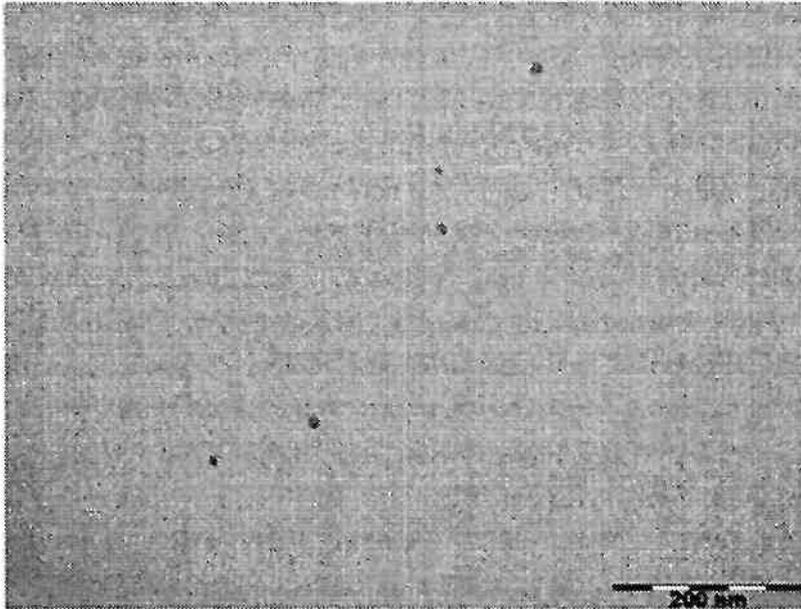


FIG. 79A1

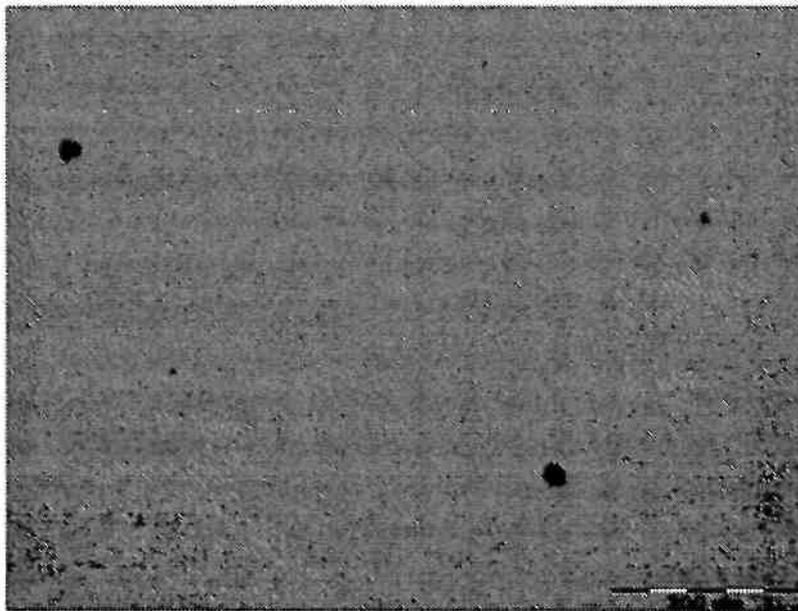


FIG. 79A2

GA-011

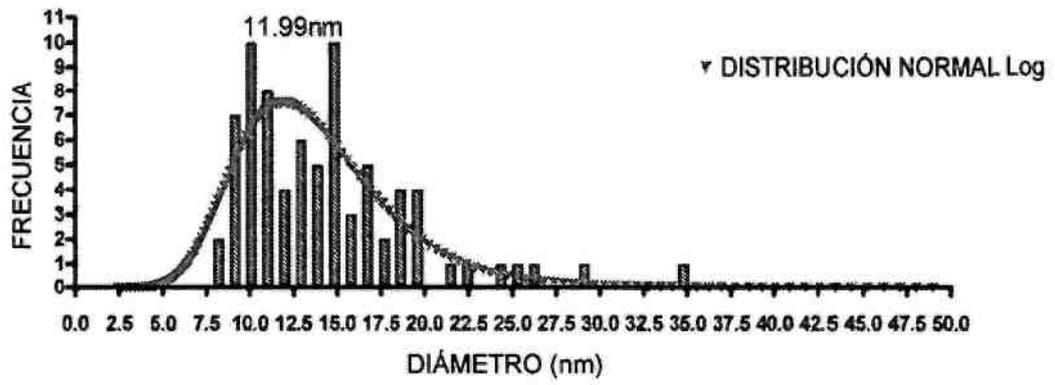


FIG. 79B

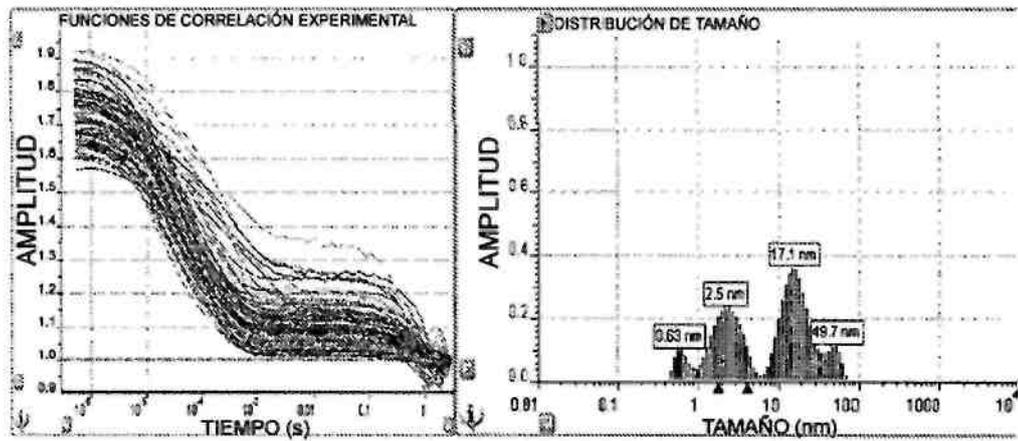


FIG. 79C

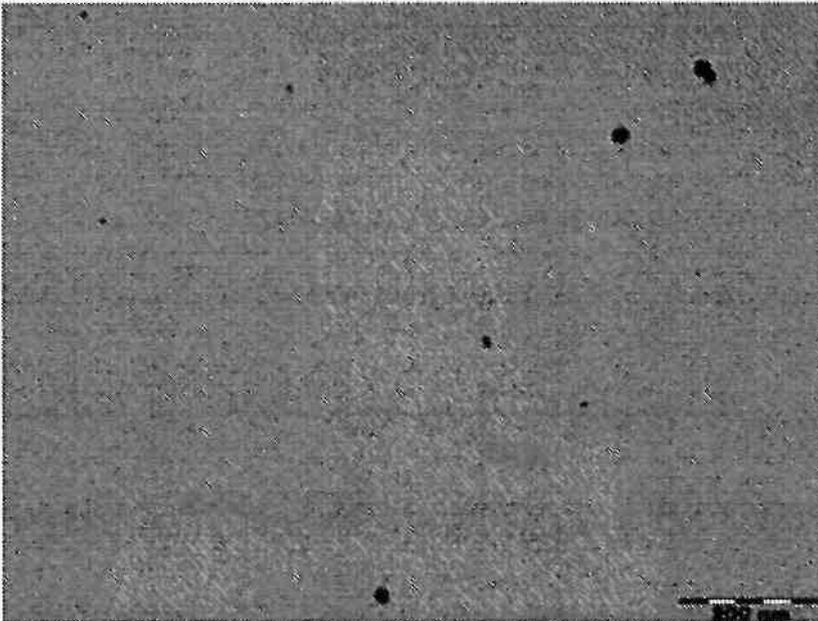


FIG. 80A1

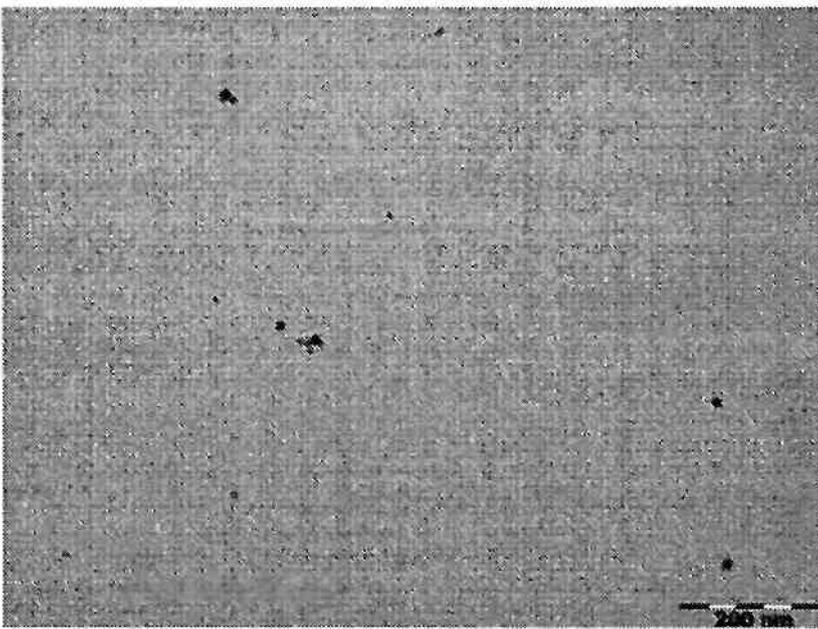


FIG. 80A2

GA-013

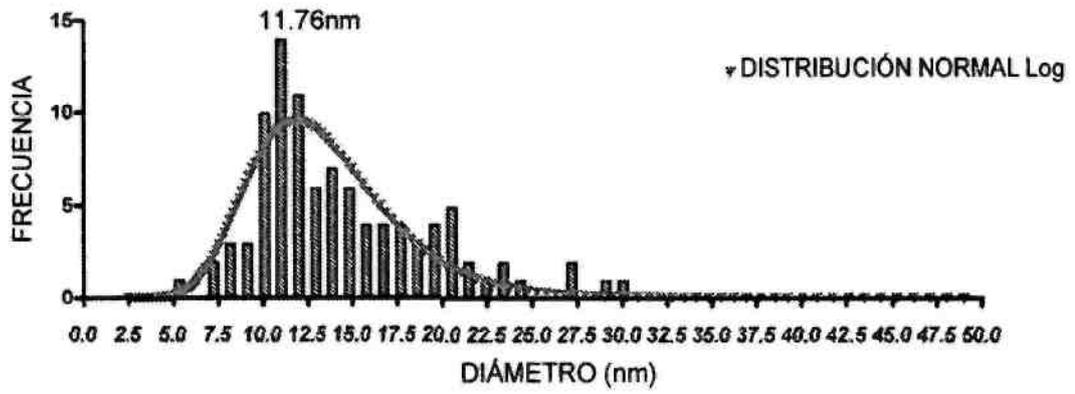


FIG. 80B

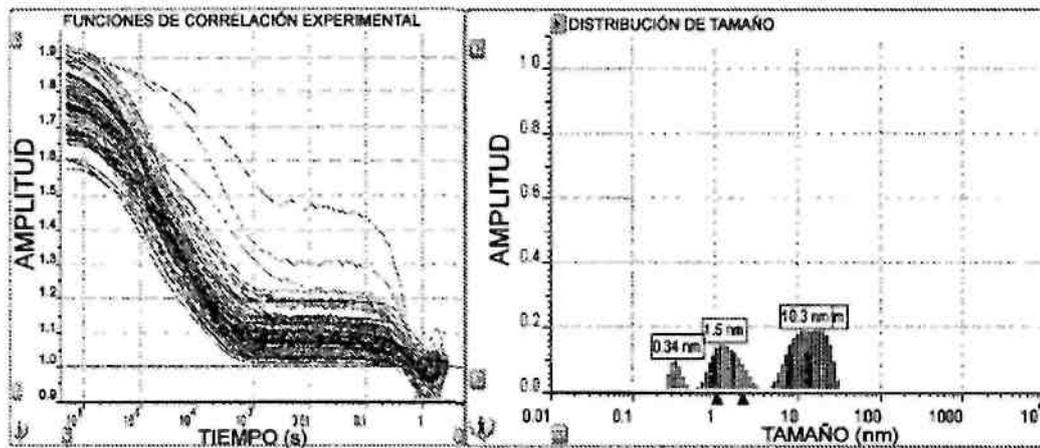


FIG. 80C

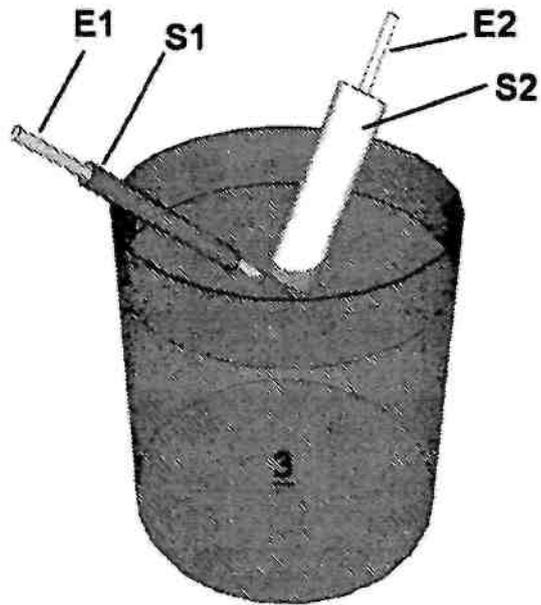


FIG. 81A

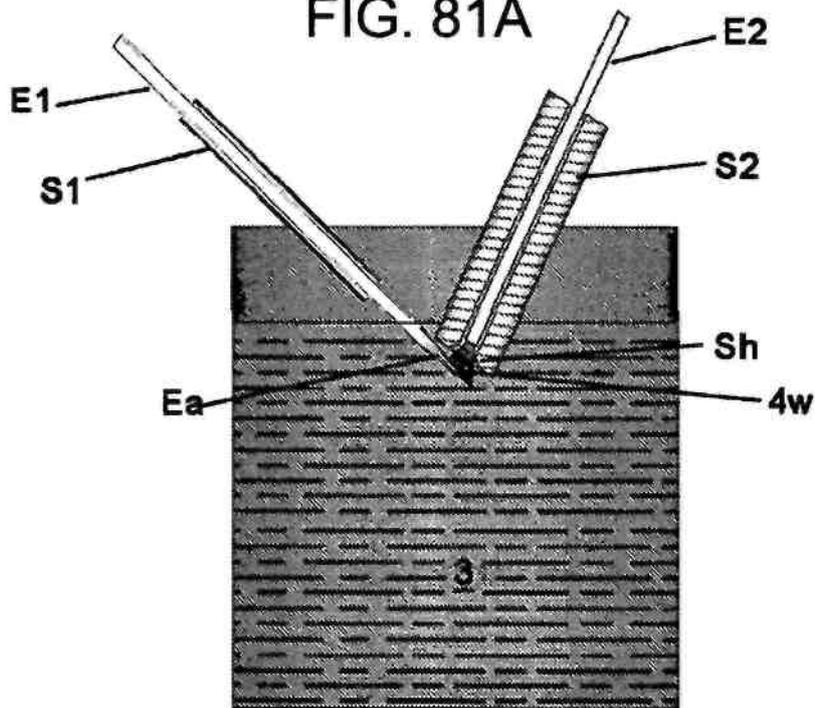


FIG. 81B

ARCG-05

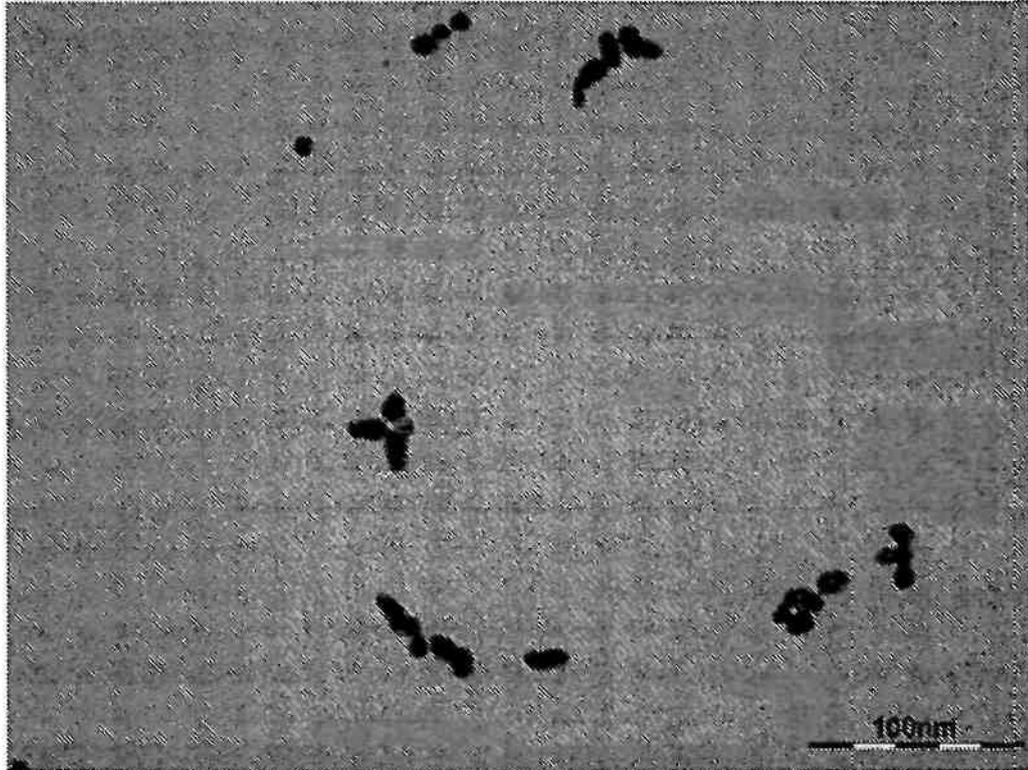


FIG. 82A

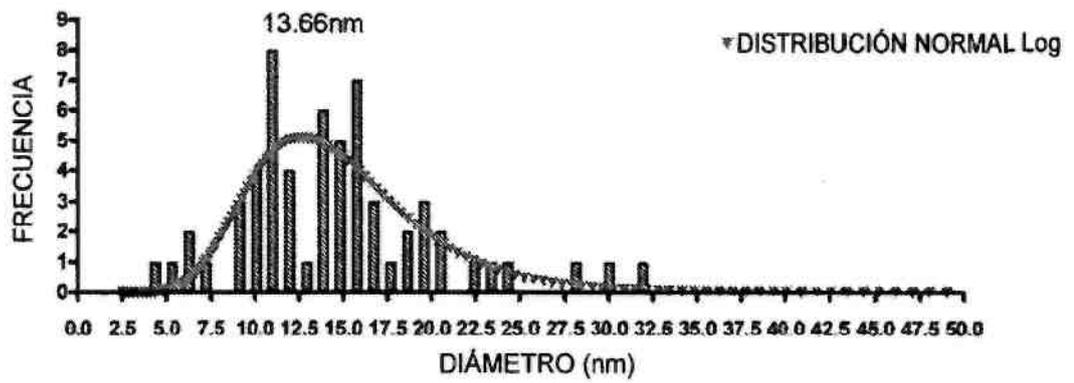


FIG. 82B

Utopia Gold

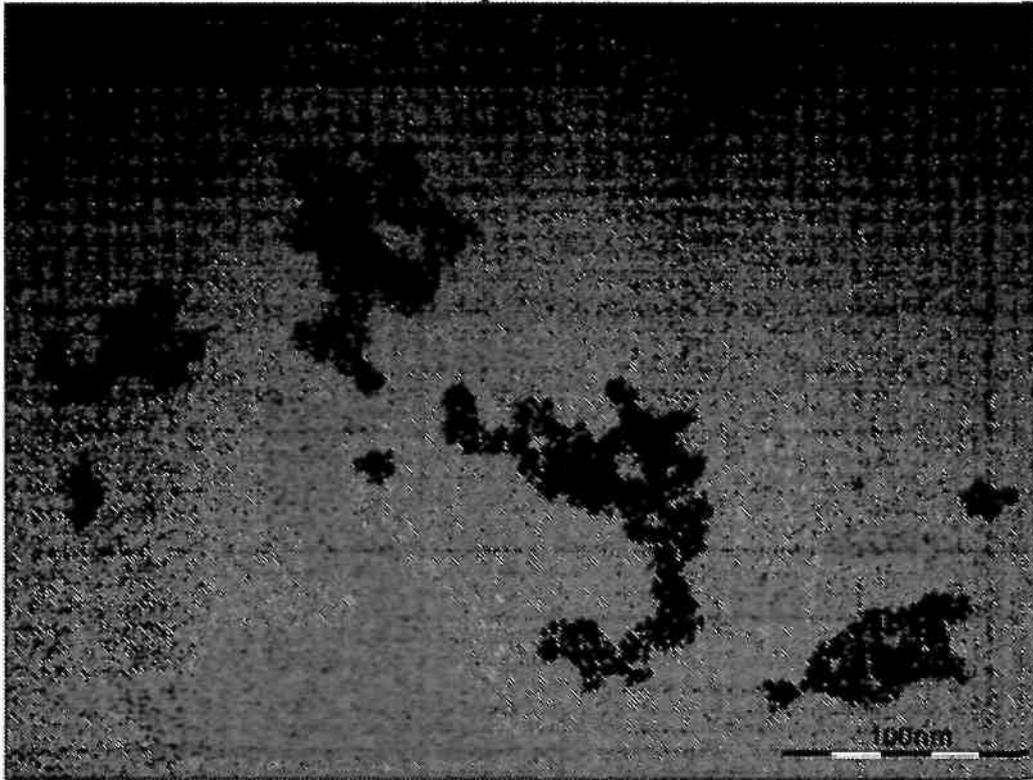


FIG. 83A

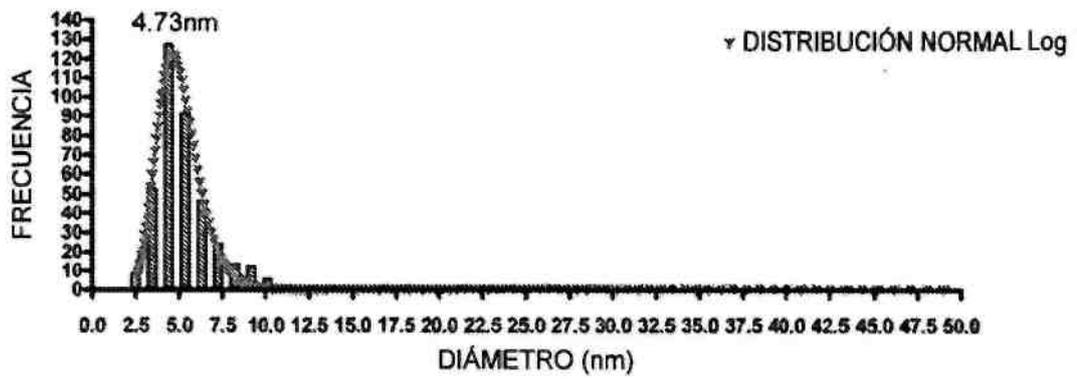


FIG. 83B

Source Naturals (SNG911219)

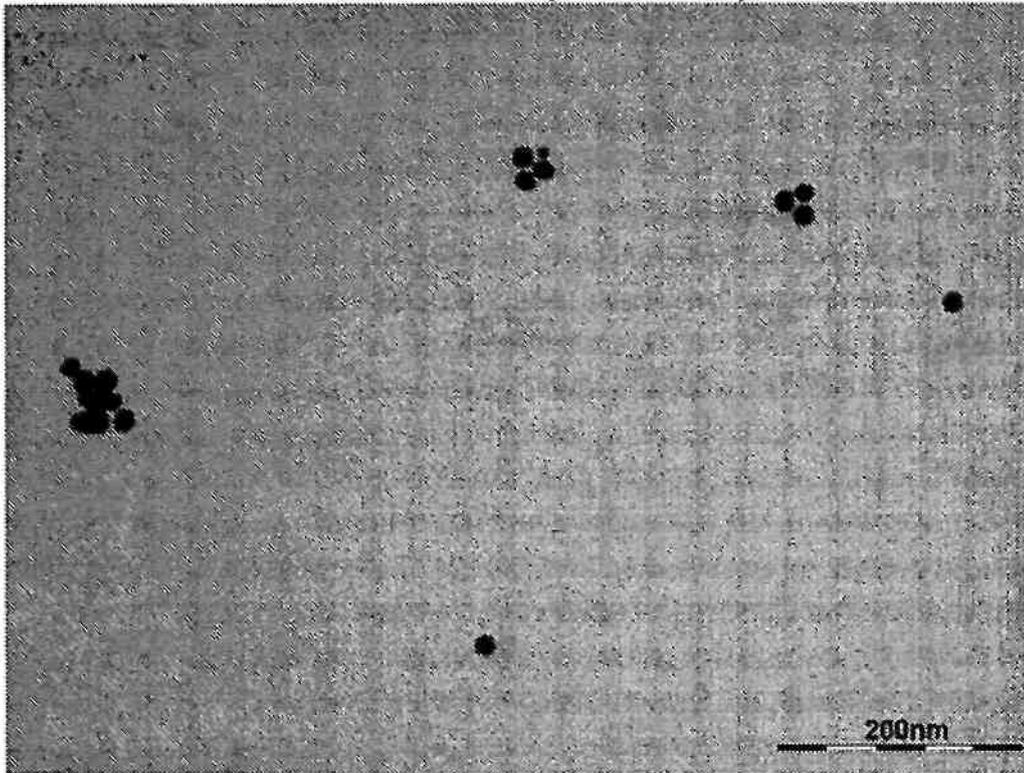


FIG. 84A

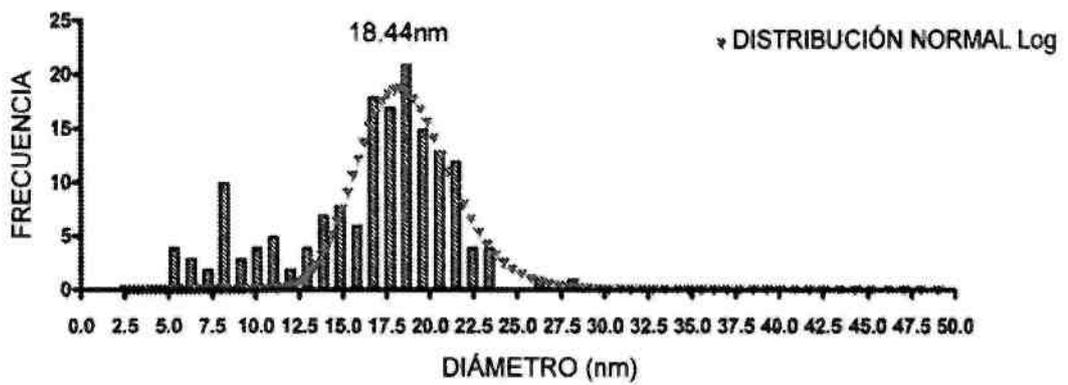


FIG. 84B

Nanopartz

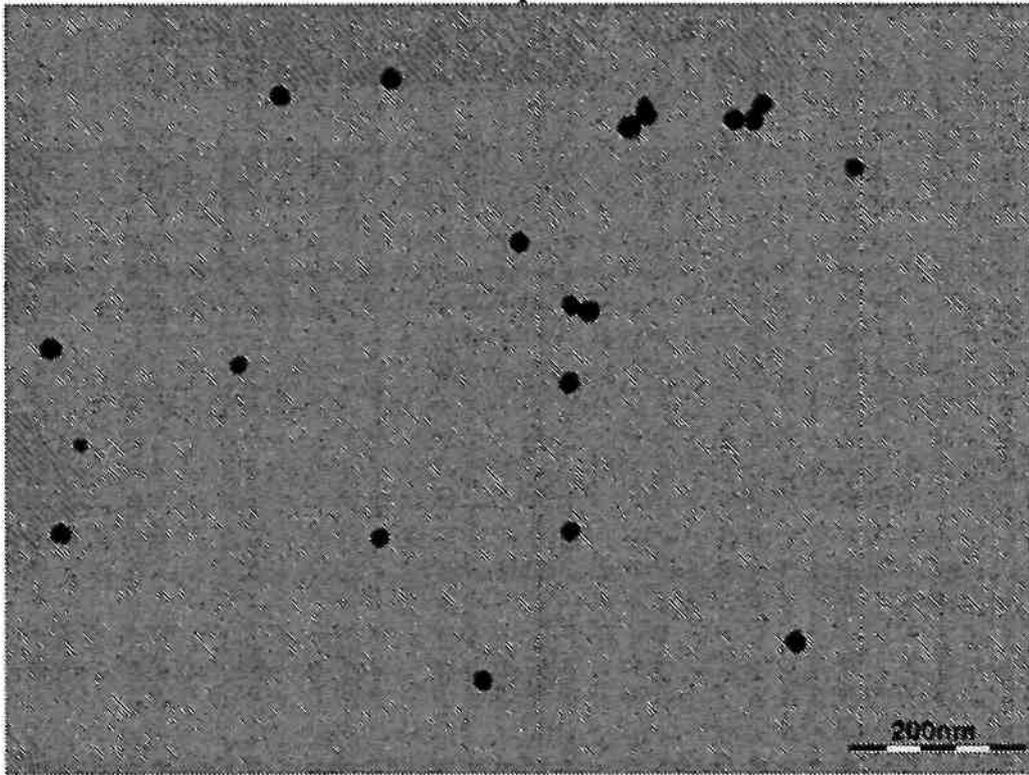


FIG. 85A

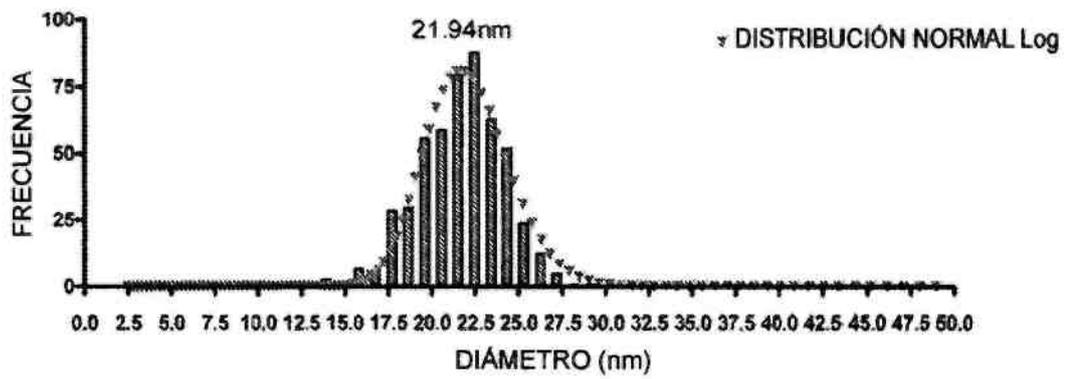


FIG. 85B

Nanocomposix (15nm)

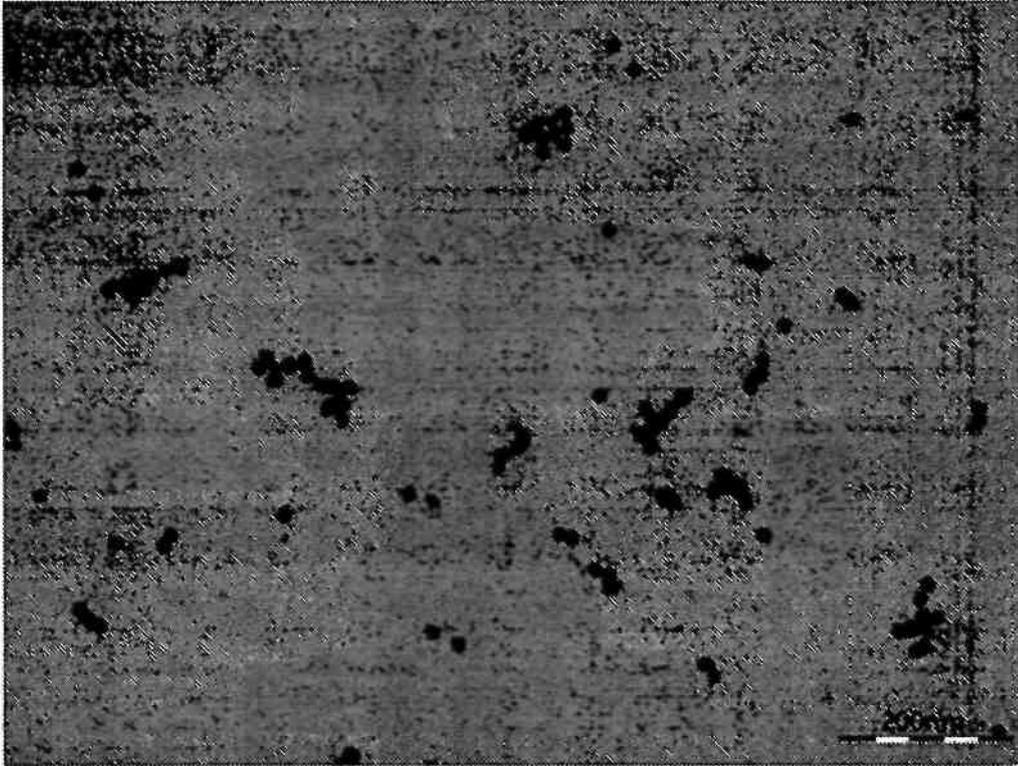


FIG. 86A

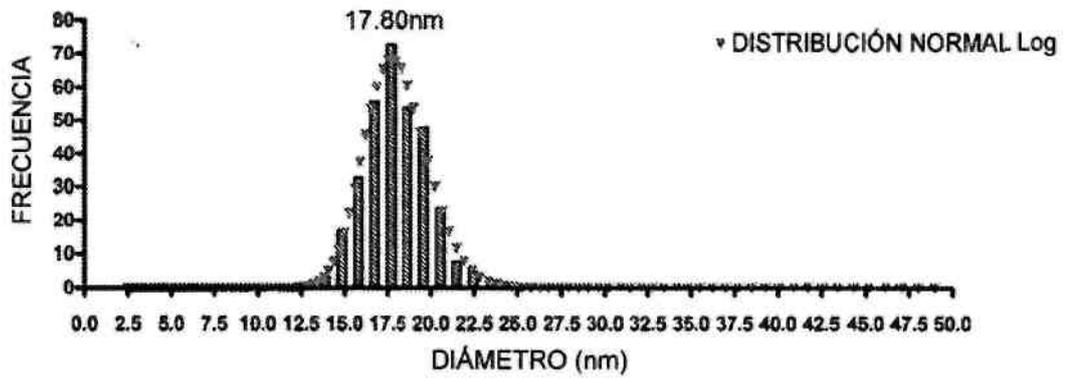


FIG. 86B

Nanocomposix (10nm)

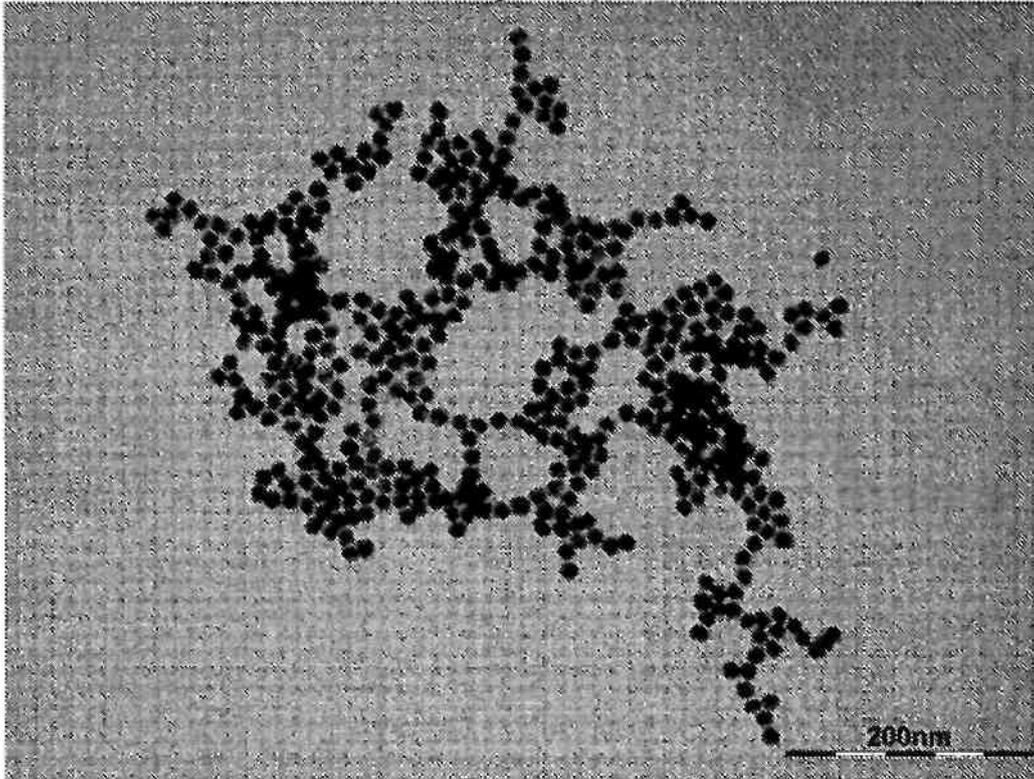


FIG. 87A

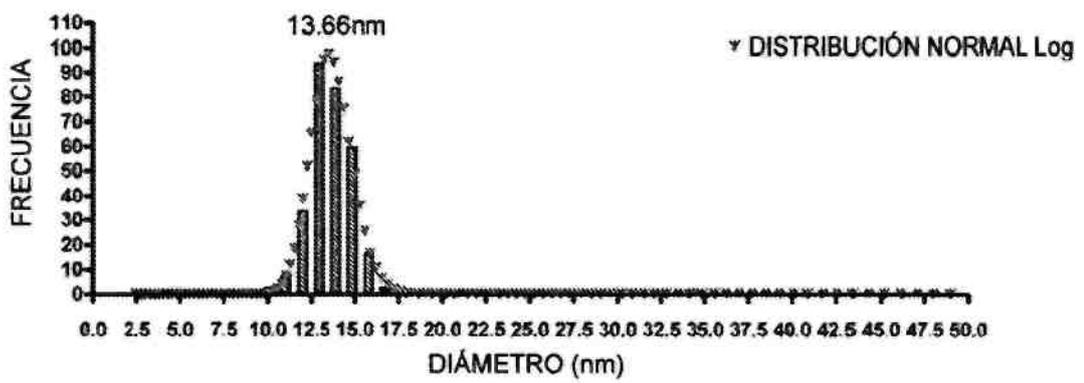


FIG. 87B

Harmonic Gold

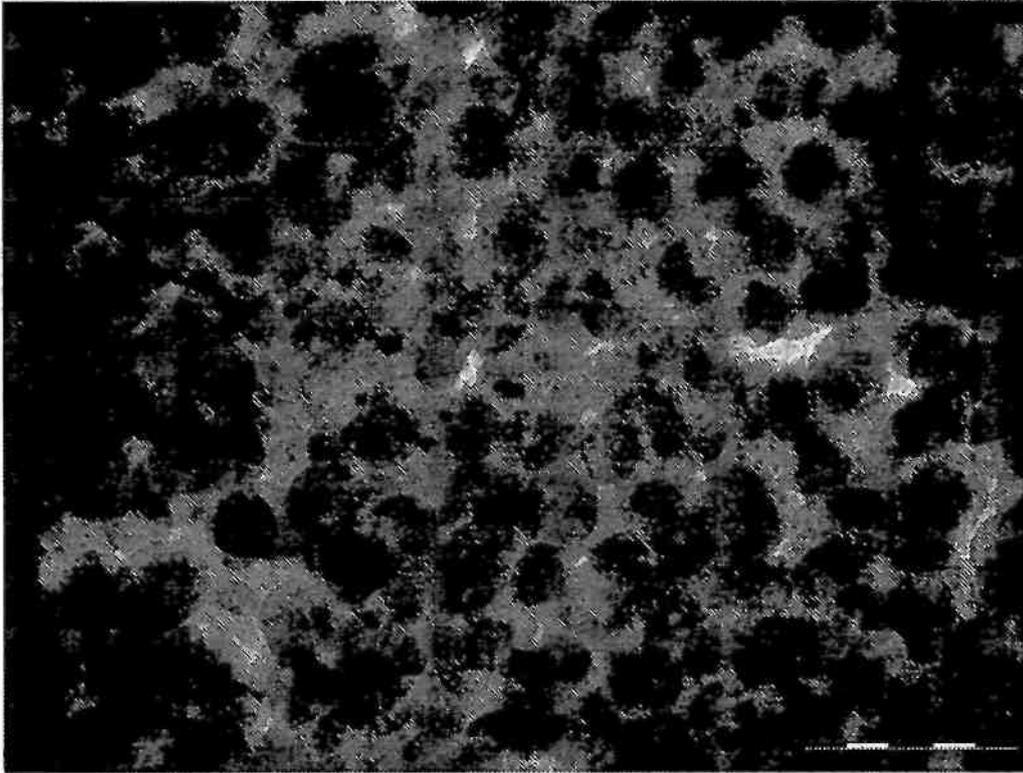


FIG. 88A

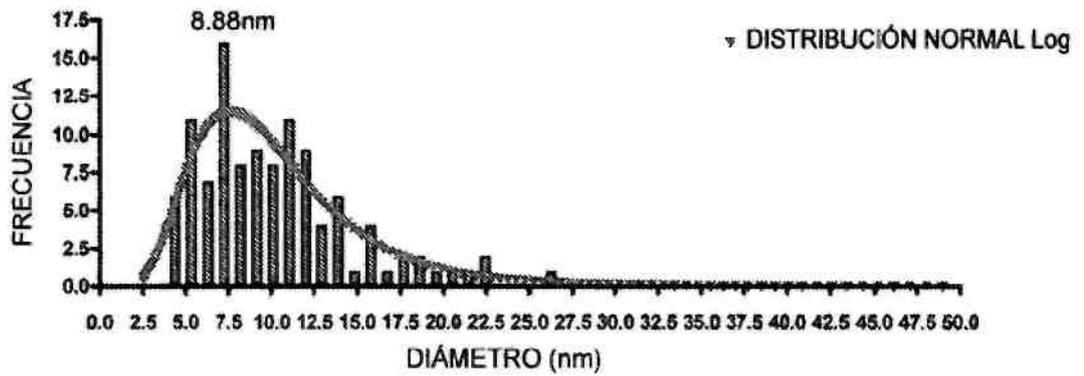


FIG. 88B

MesoGold

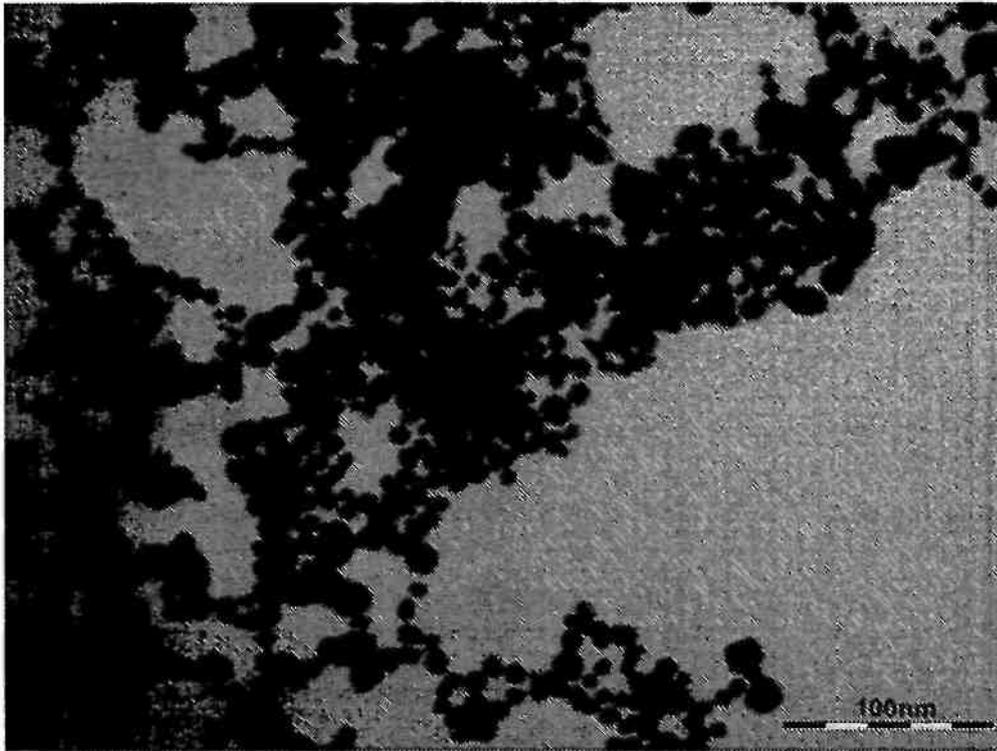


FIG. 89A

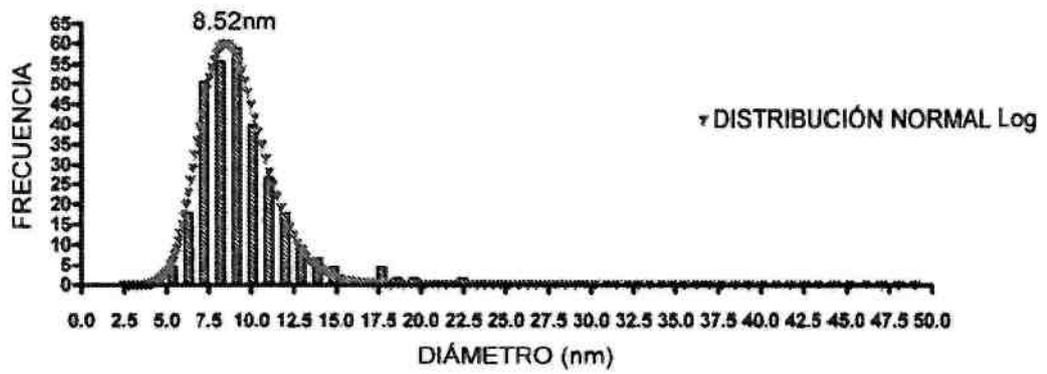


FIG. 89B

ElectraClear Gold (EC63010)

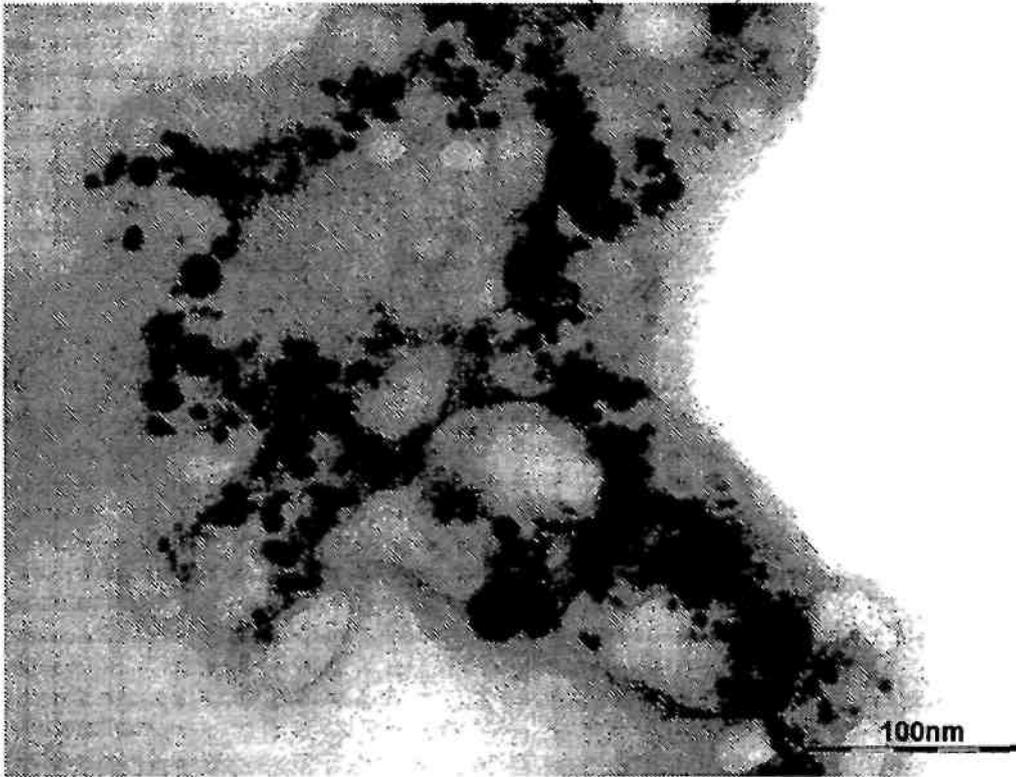


FIG. 90A

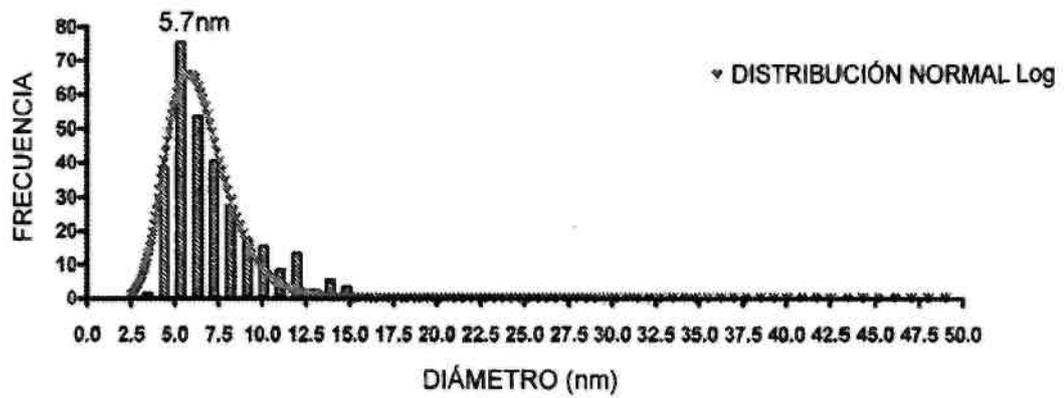


FIG. 90B

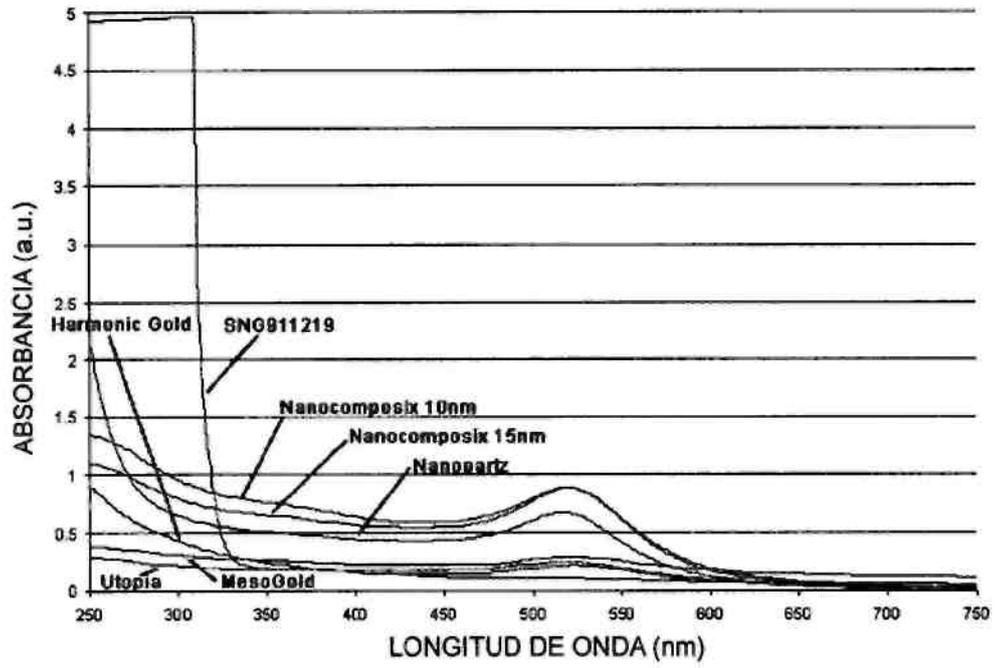


FIG. 90C

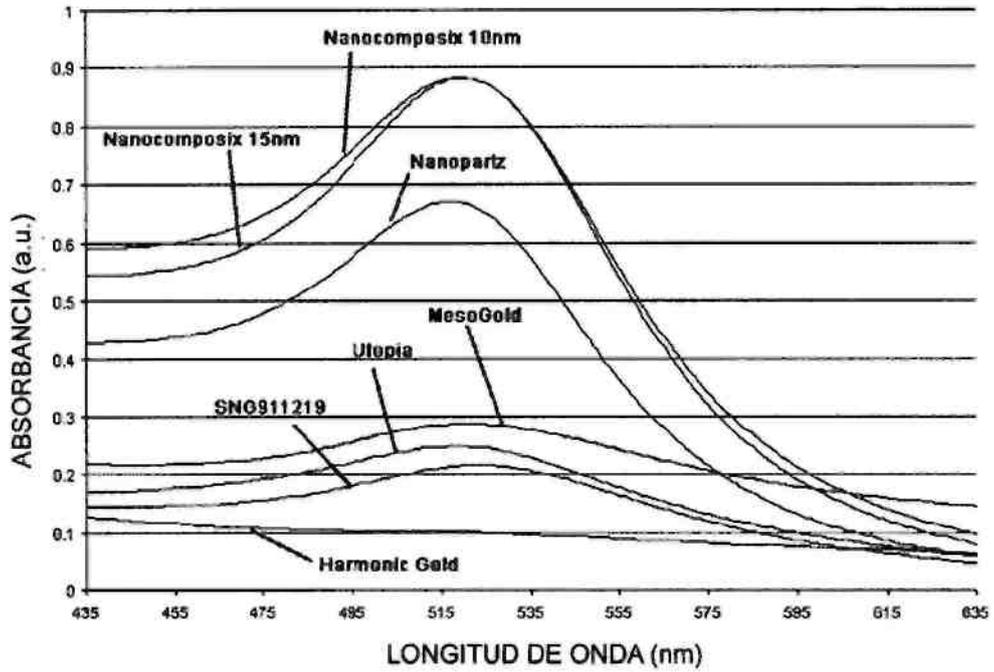


FIG. 90D

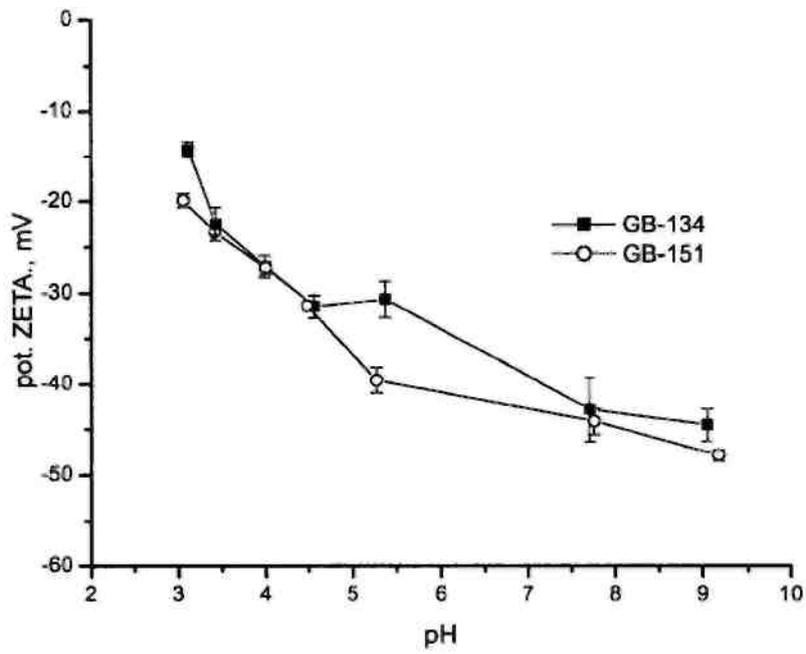


FIG. 91

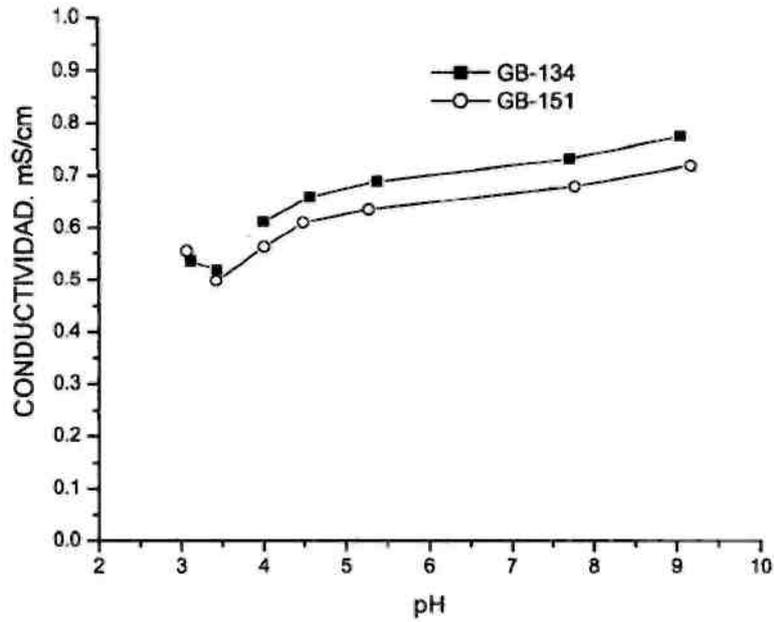


FIG. 92

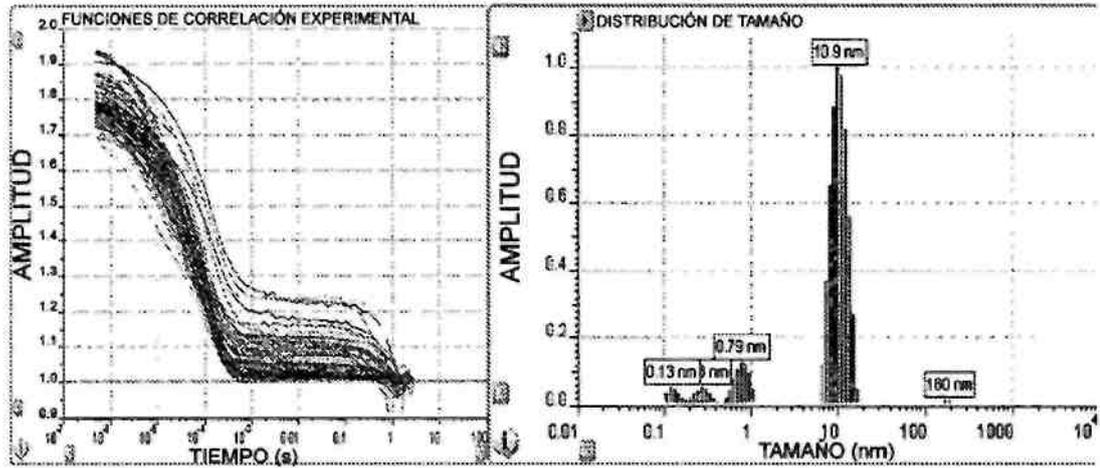


FIG. 93

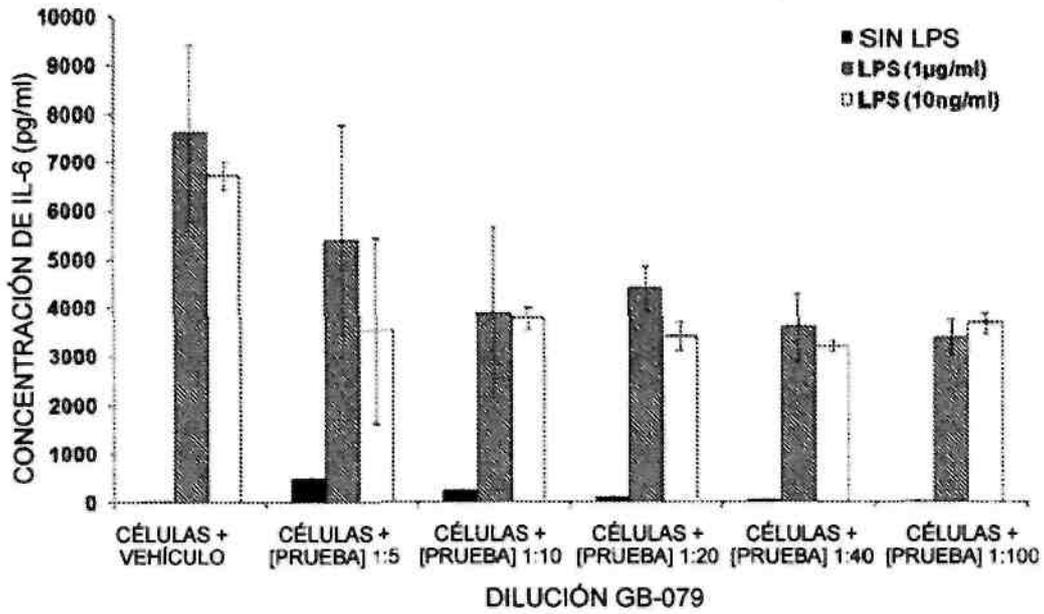


FIG. 94A

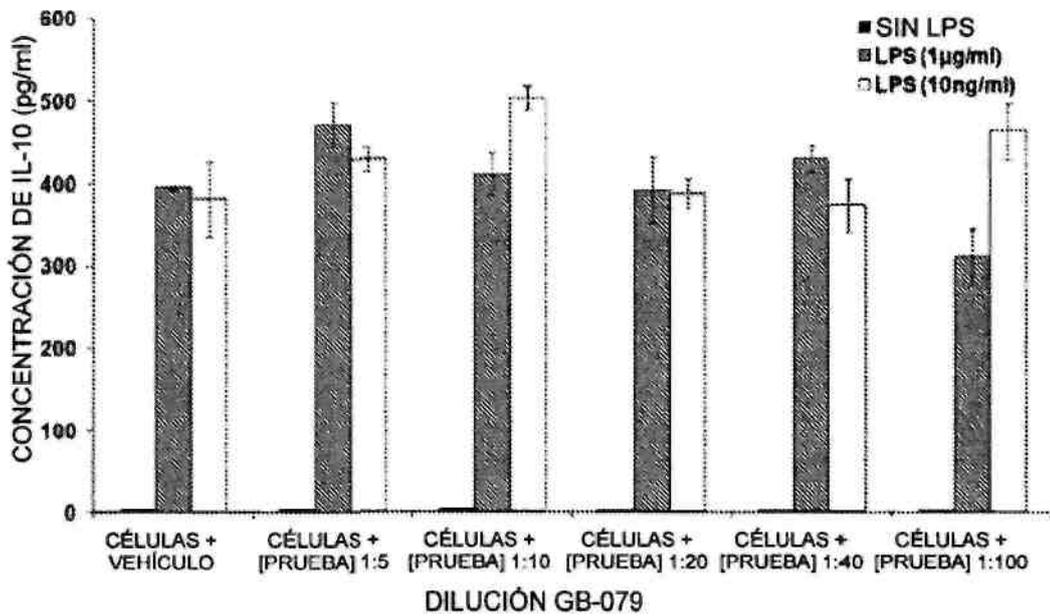


FIG. 94B

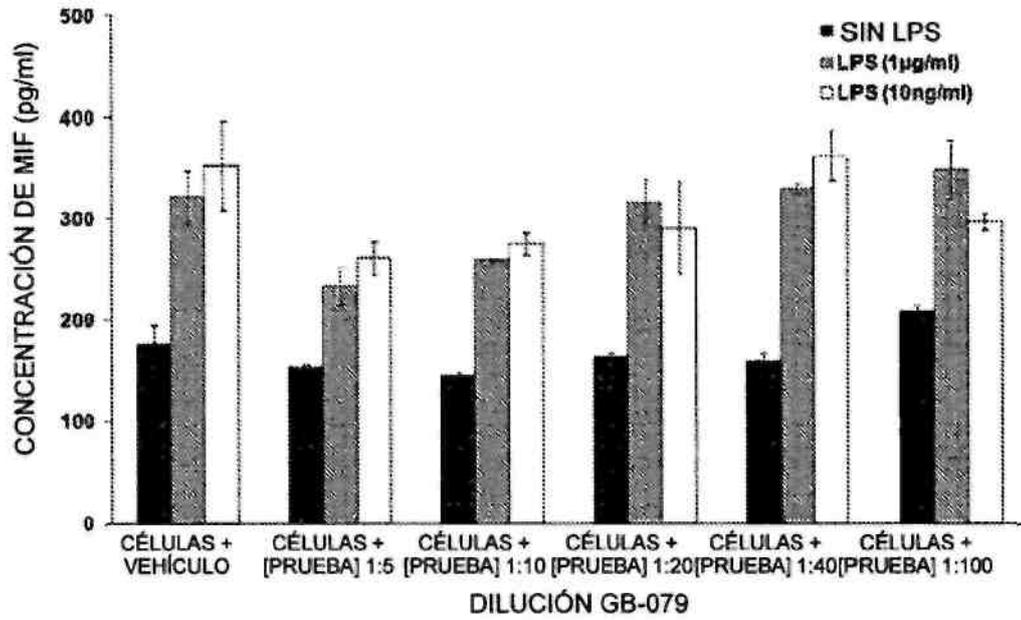


FIG. 94C

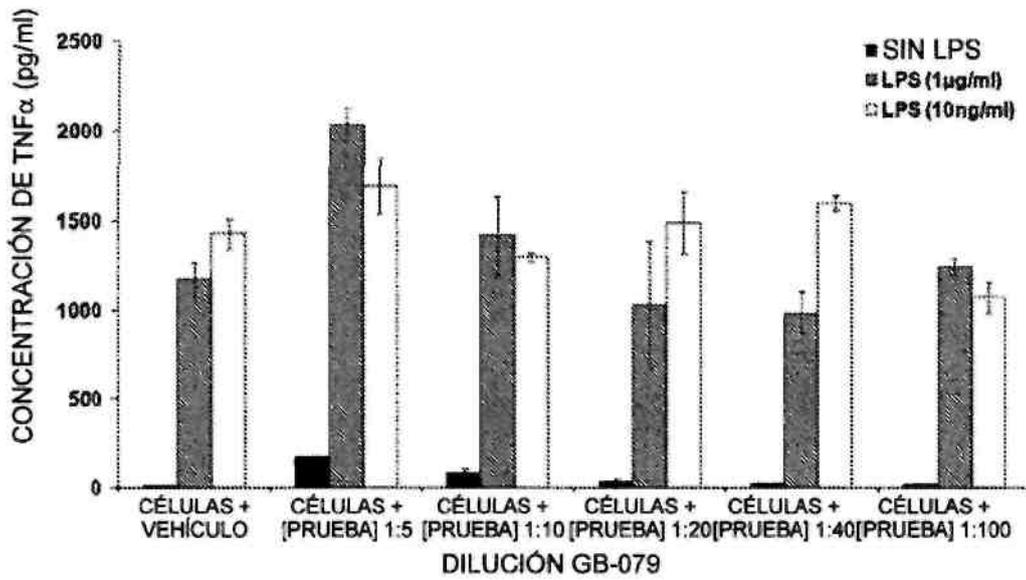


FIG. 94D

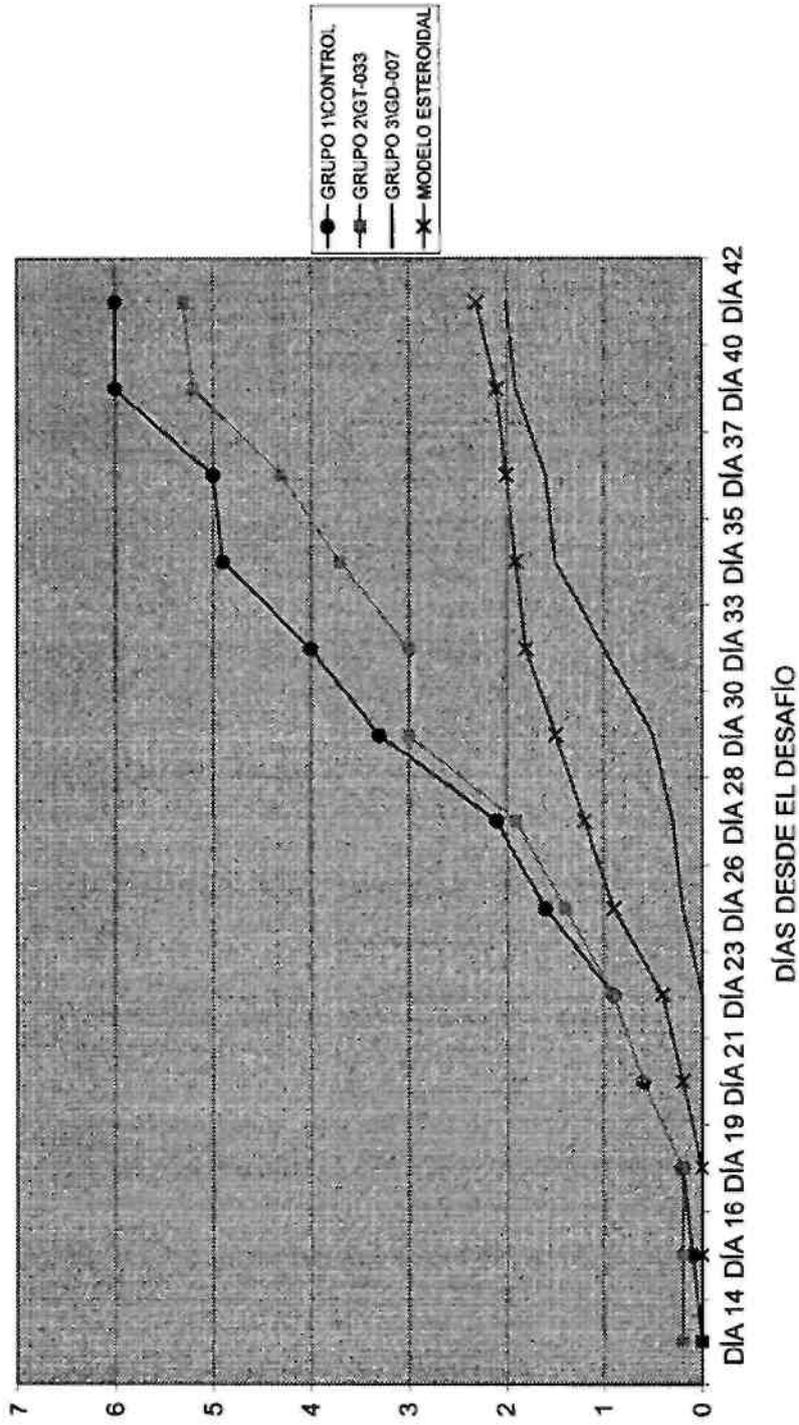


FIG. 95



FIG. 96A
(UNIÓN NORMAL)



FIG. 96B
(GRADO 1)



FIG. 96C
(GRADO 2)



FIG. 96D
(GRADO 3)



FIG. 97A
(GRADO 0)

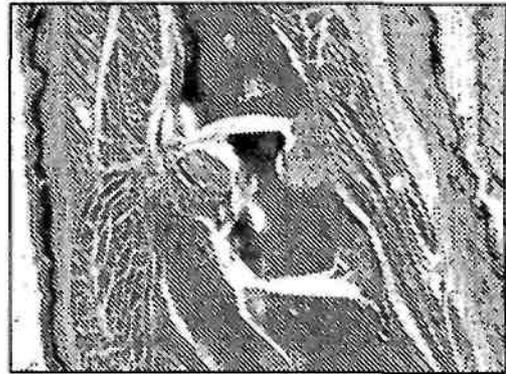


FIG. 97B
(GRADO 1)



FIG. 97C
(GRADO 4)



FIG. 97D
(GRADO 7)



FIG. 97E
(GRADO 9)

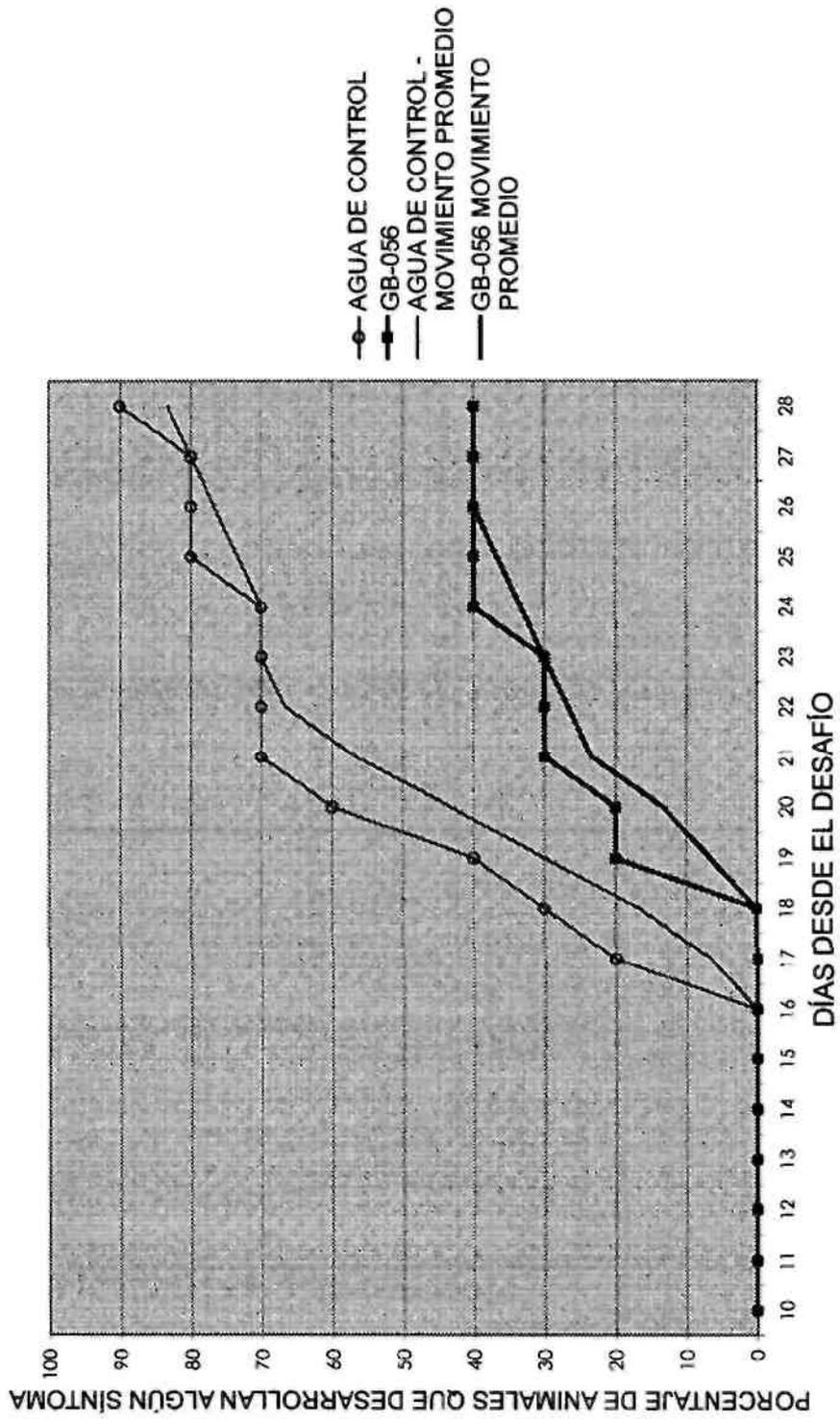


FIG. 98

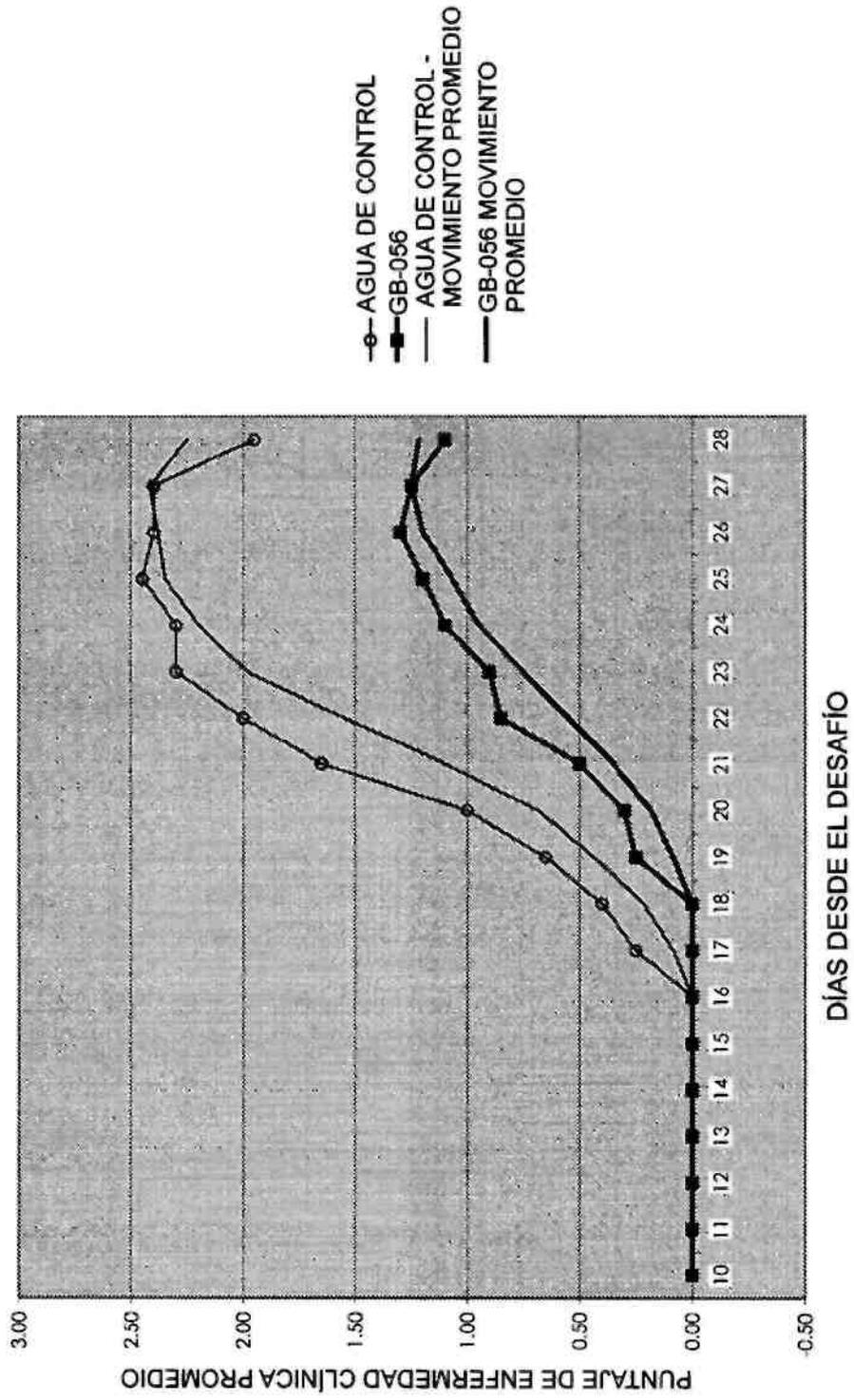


FIG. 99

GB-056:

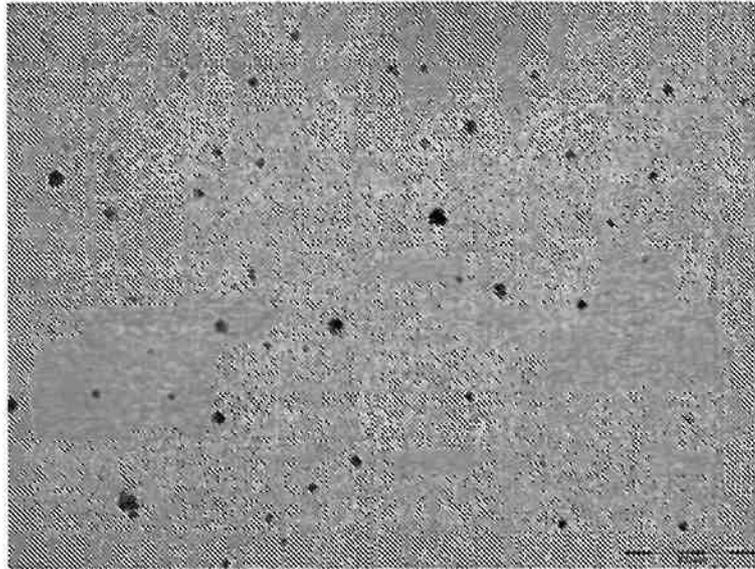


FIG. 100A

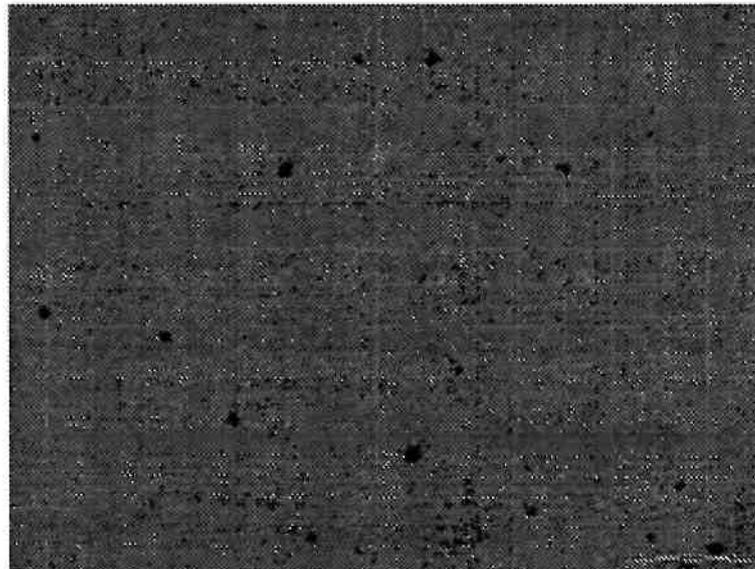


FIG. 100B

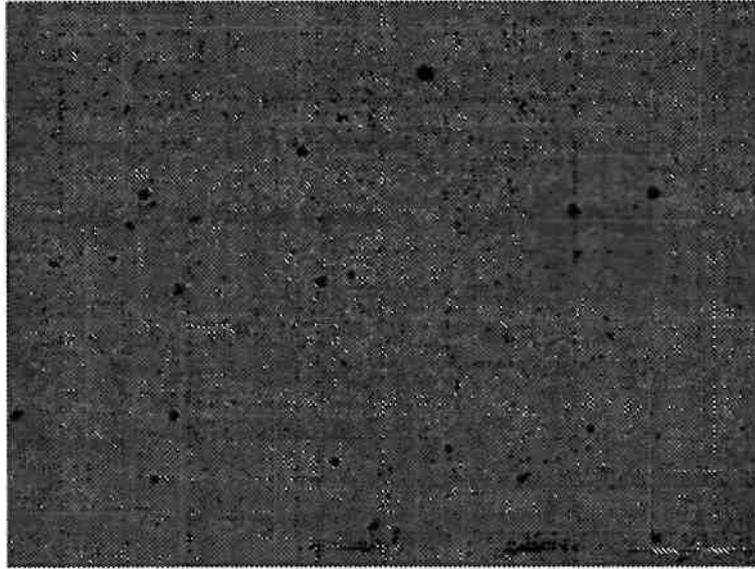


FIG. 100C

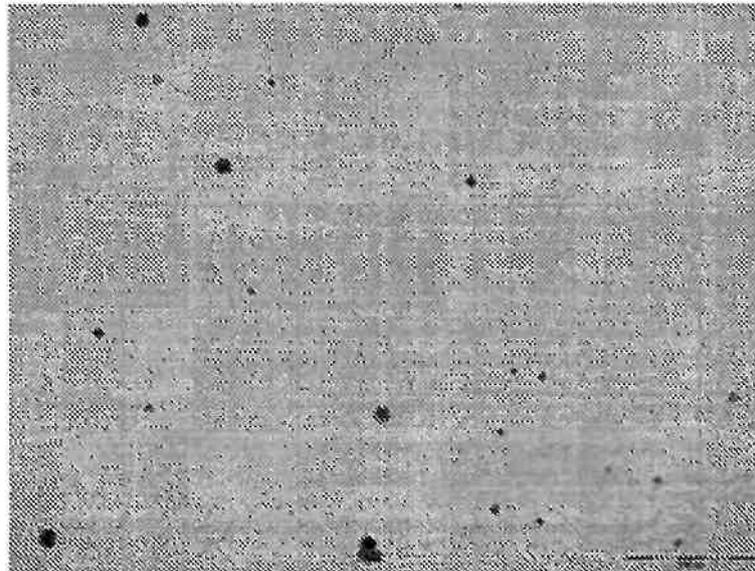


FIG. 100D

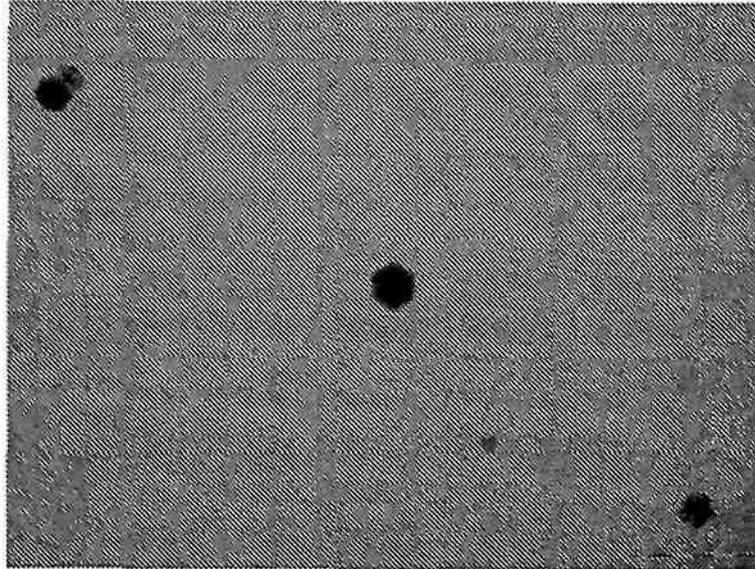


FIG. 100E

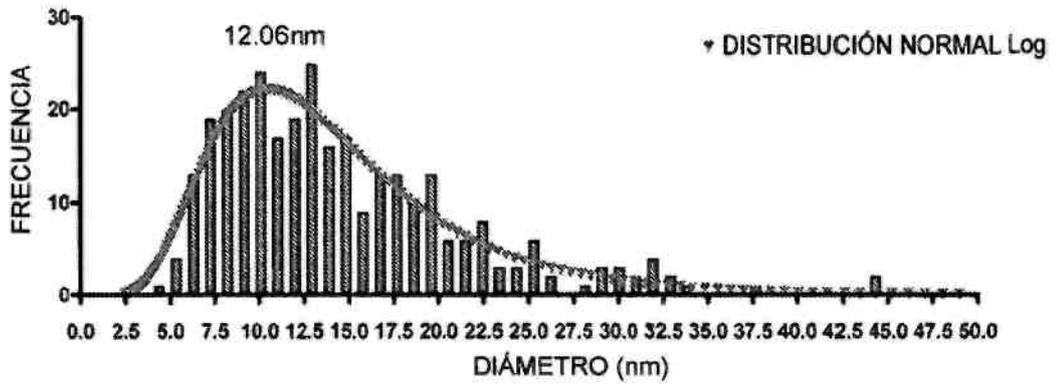


FIG. 101A

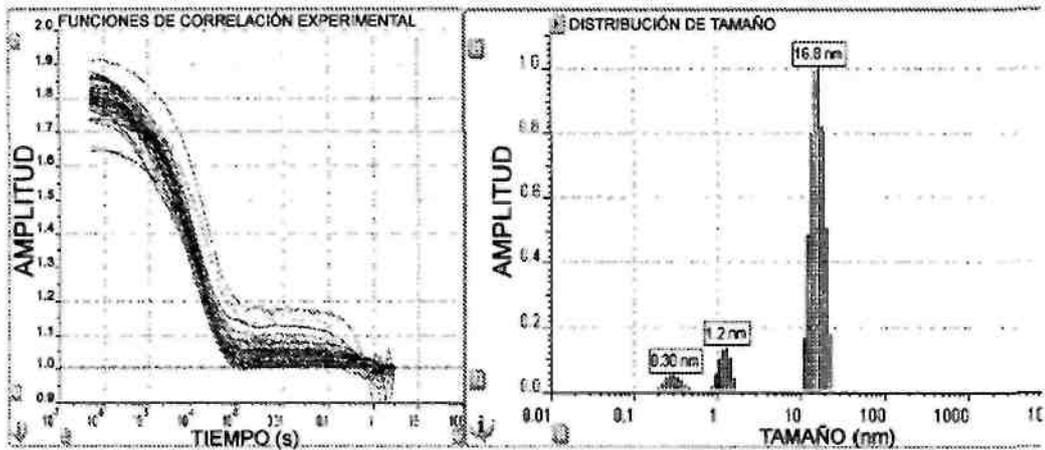


FIG. 101B

GB-056: DÍA 2 - DÍA 3

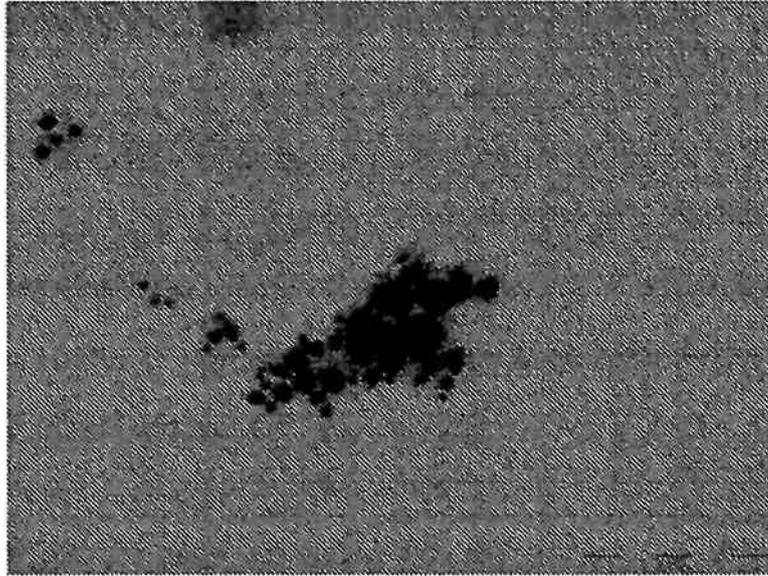


FIG. 102A

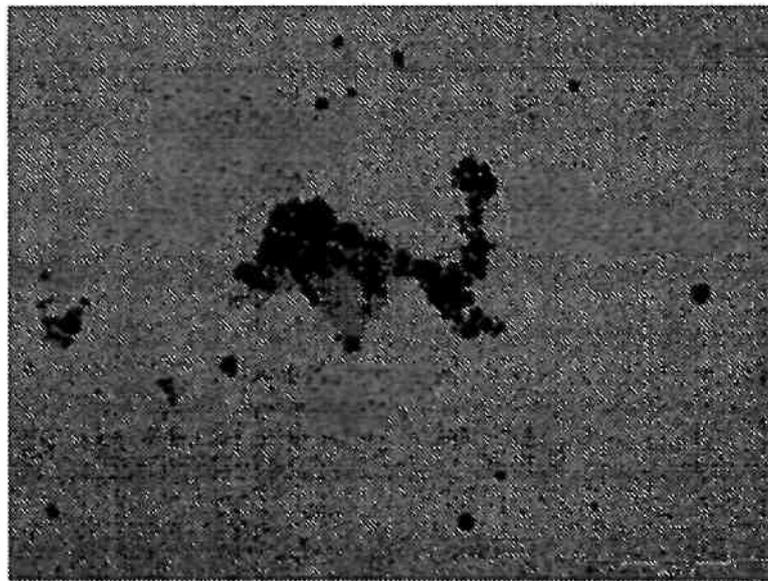


FIG. 102B

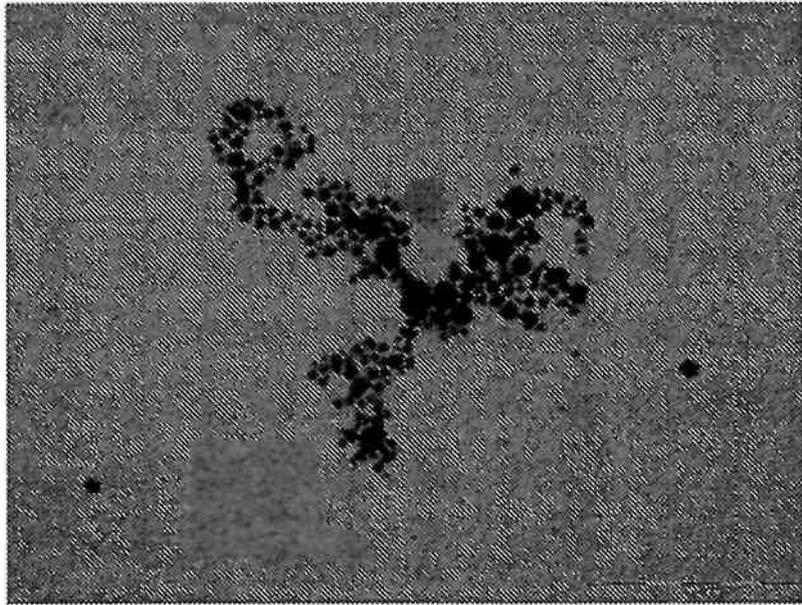


FIG. 102C

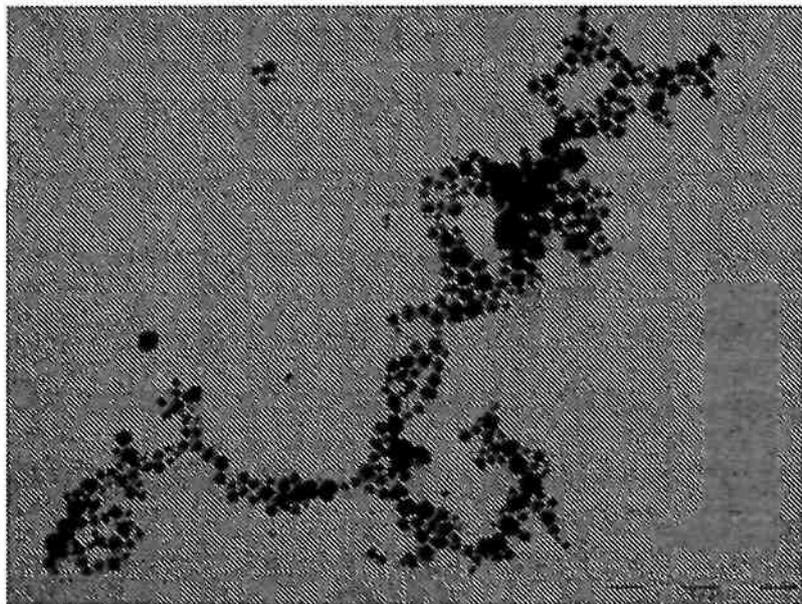


FIG. 102D

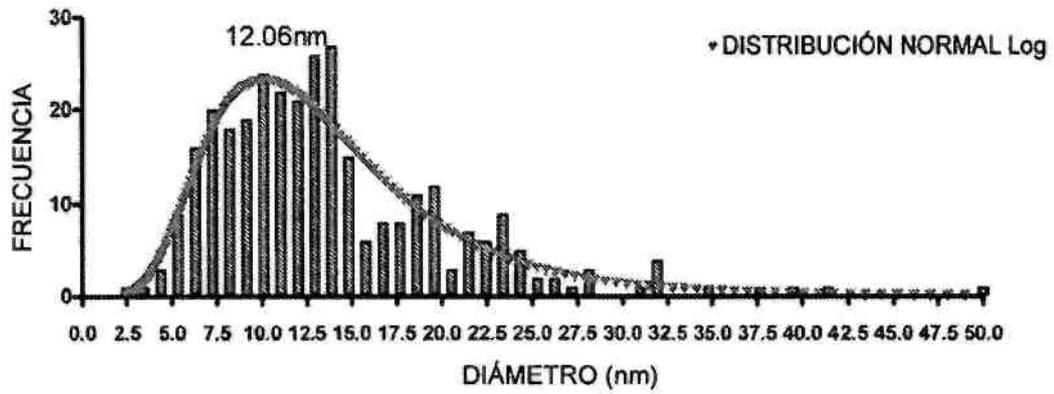


FIG. 103A

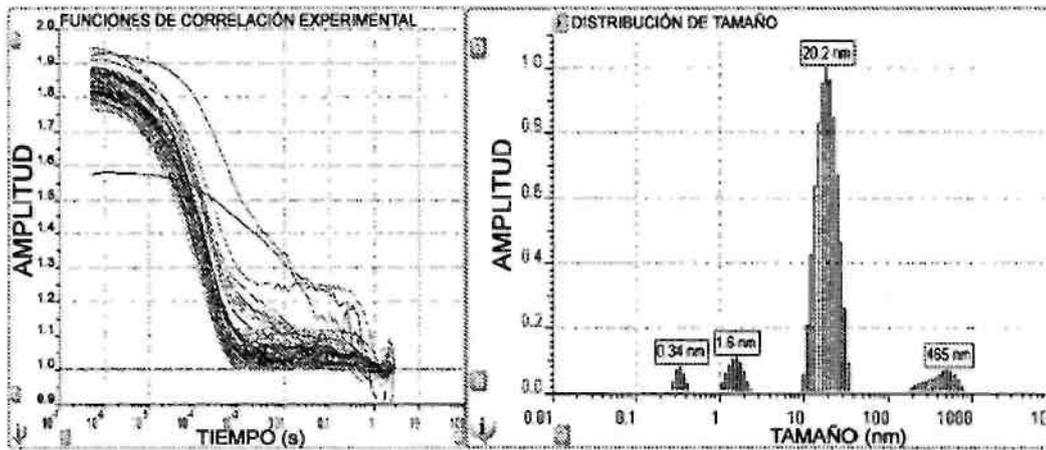


FIG. 103B

GB-056: DÍA 4 - DÍA 5

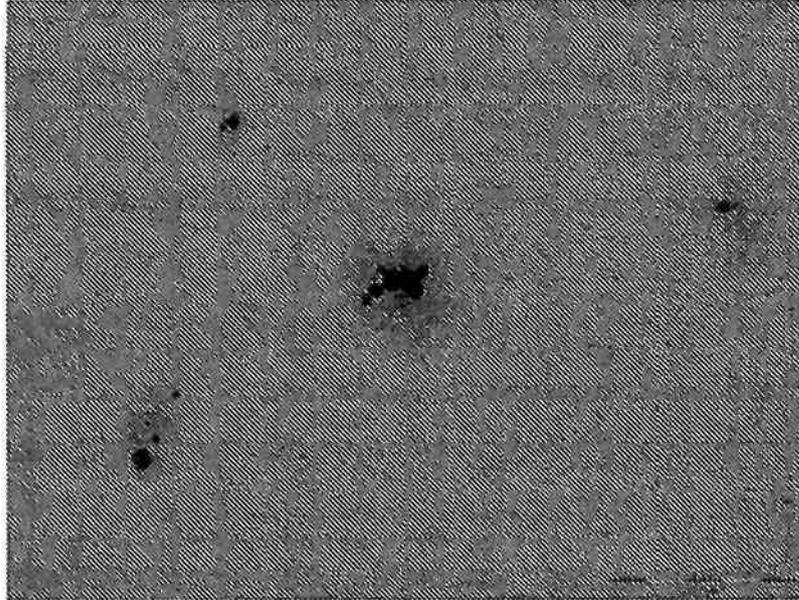


FIG. 104A

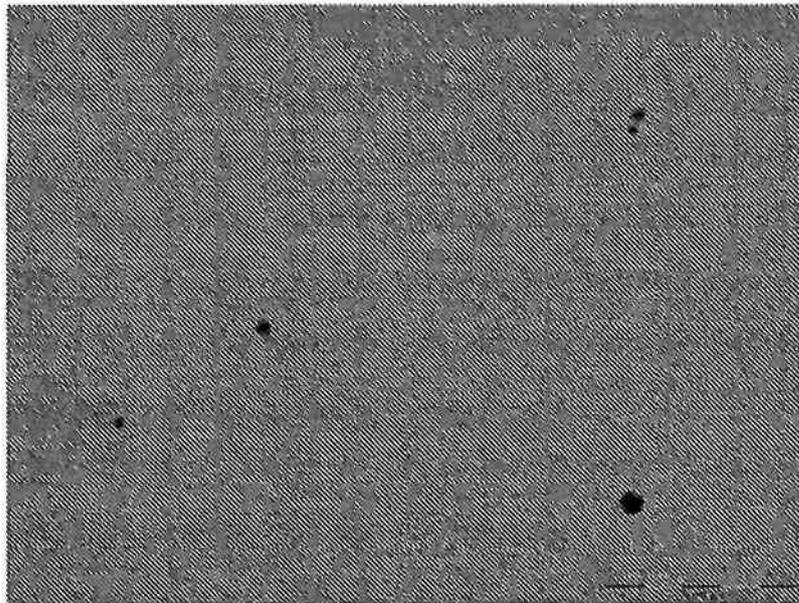


FIG. 104B

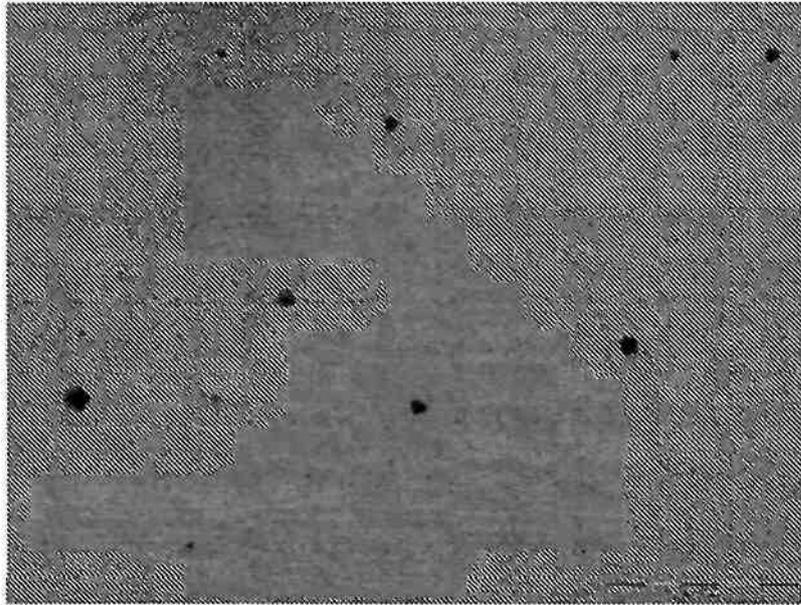


FIG. 104C

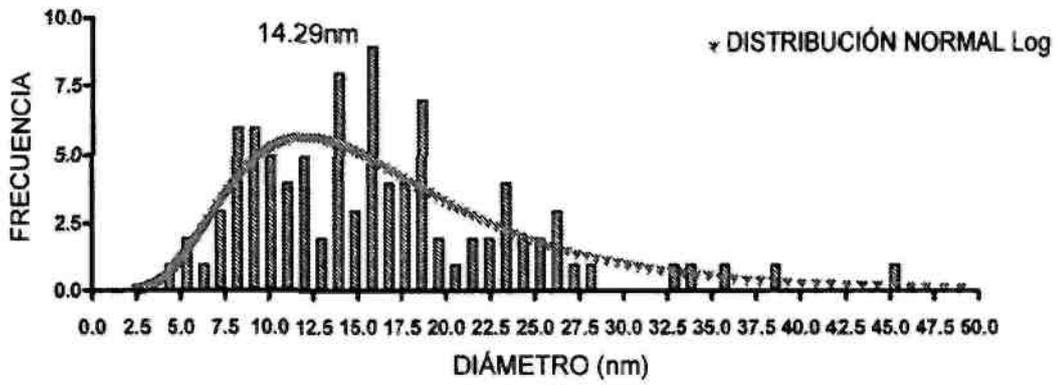


FIG. 105A

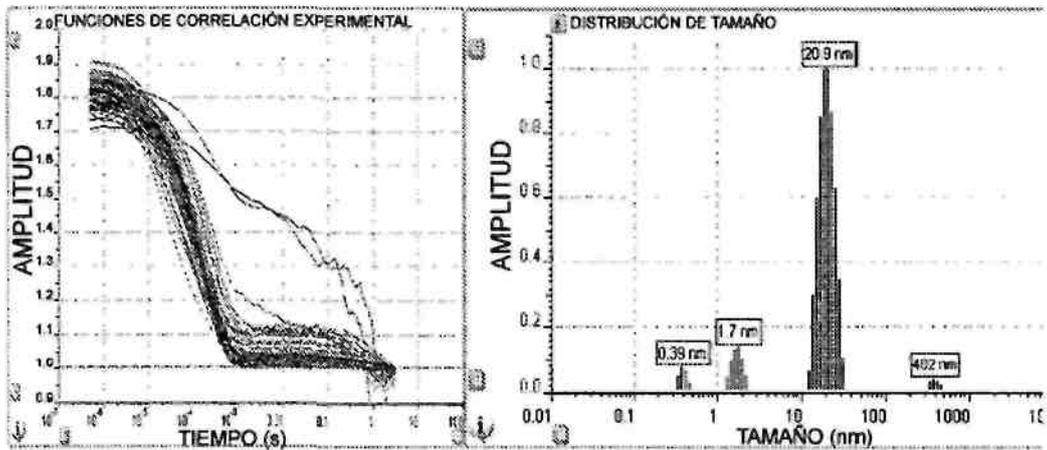


FIG. 105B

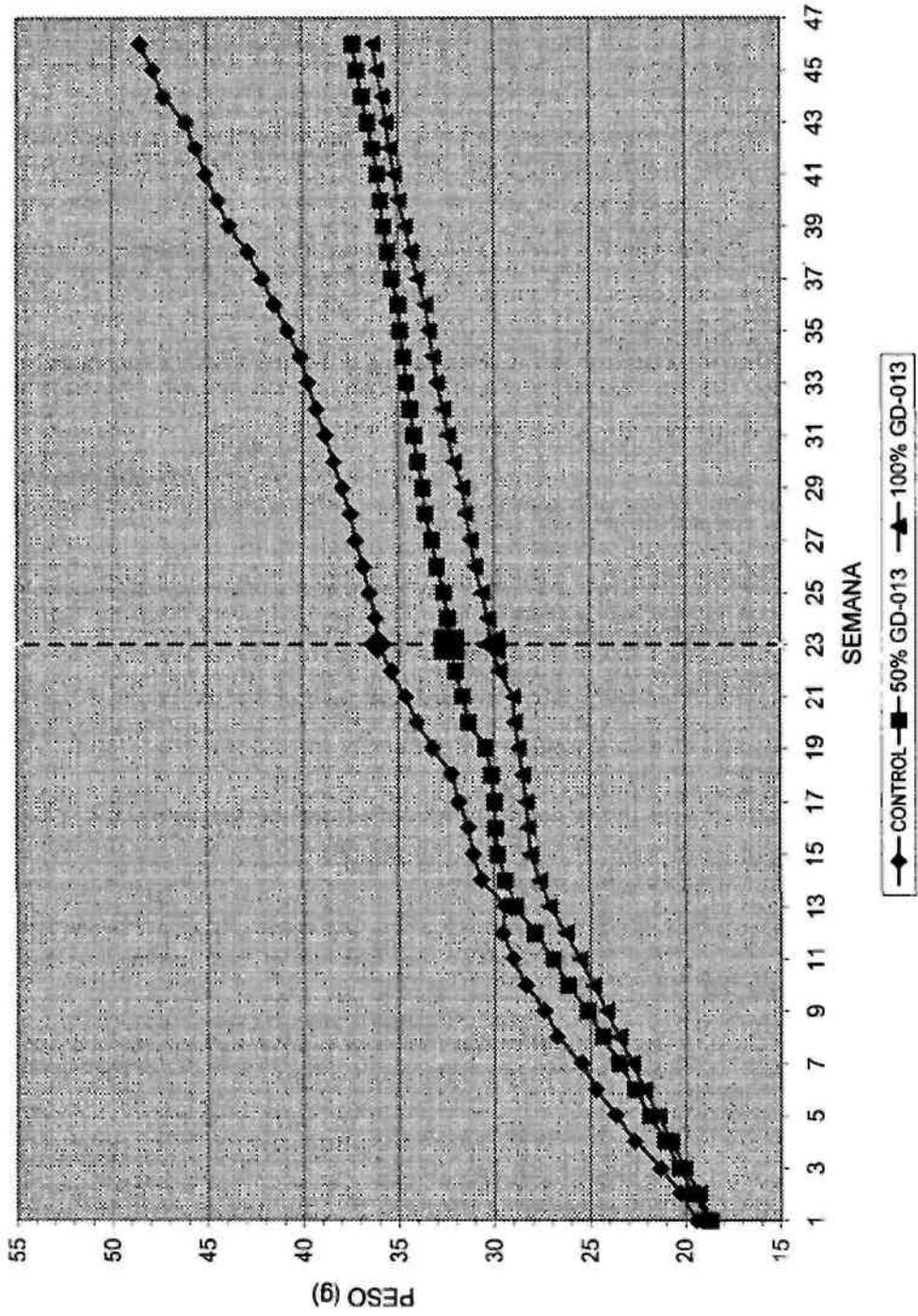


FIG. 106

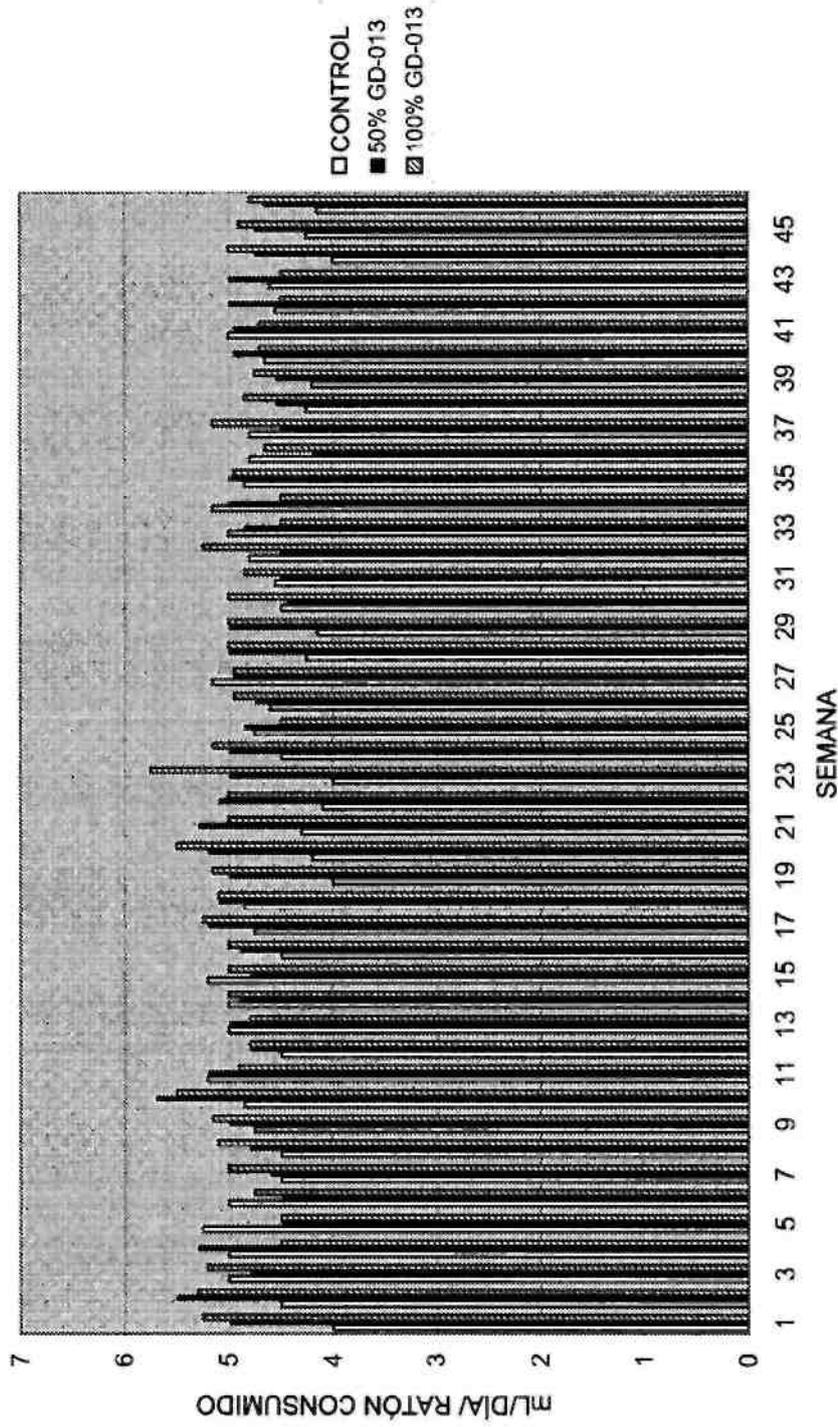


FIG. 107

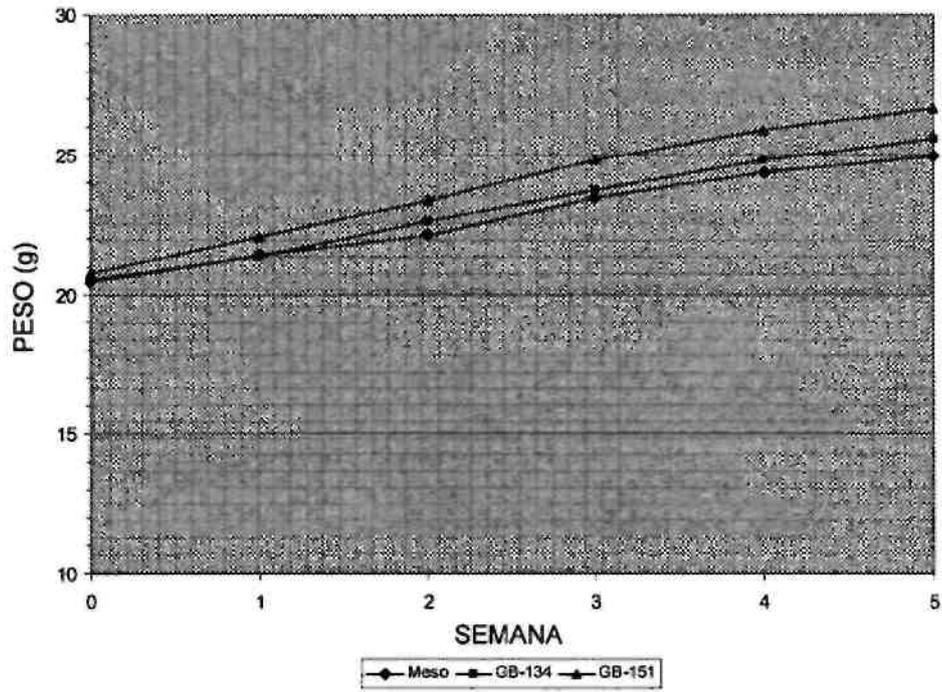


FIG. 108

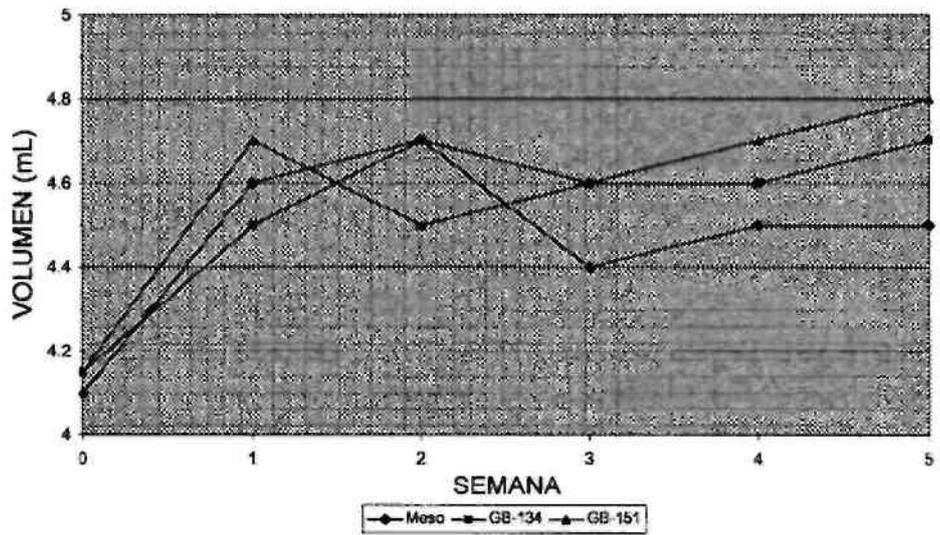


FIG. 109

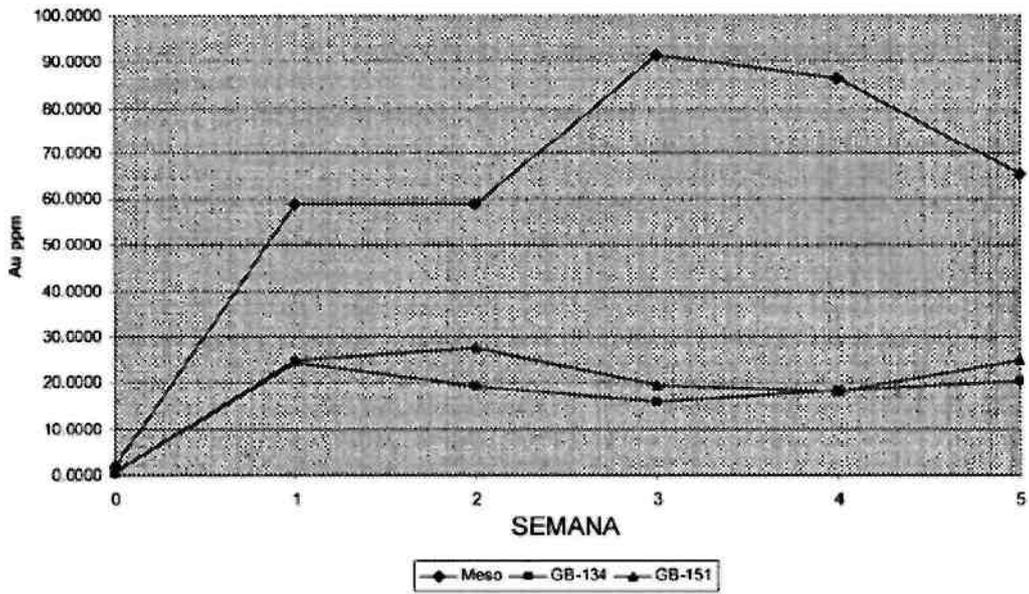


FIG. 110

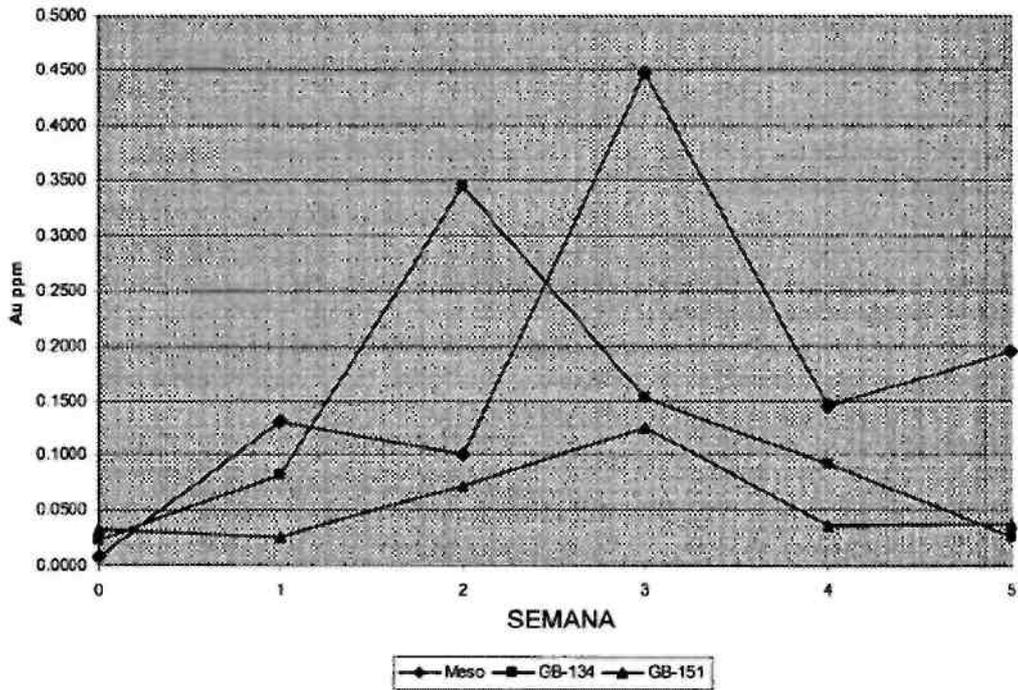


FIG. 111

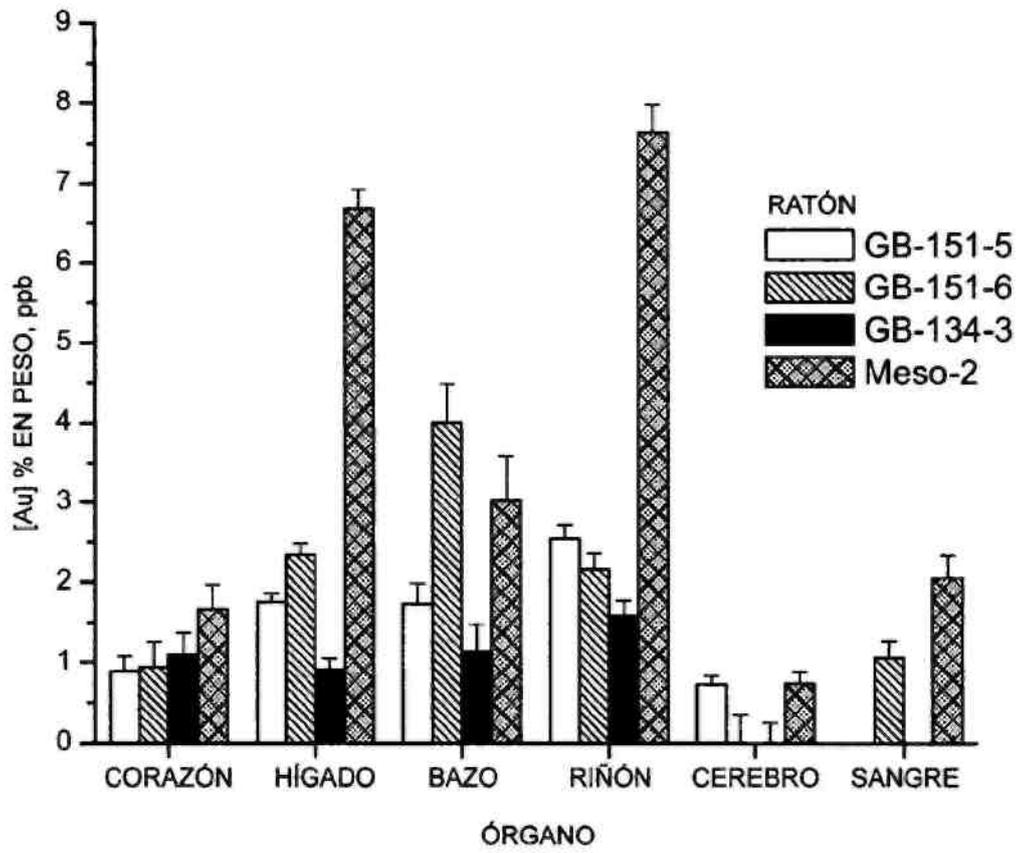


FIG. 112