

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 874**

51 Int. Cl.:

A61K 49/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.06.2014 PCT/EP2014/062976**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.12.2014 WO14202738**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.06.2014 E 14731952 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2019 EP 3010552**

54 Título: **Composiciones para uso en oncología**

30 Prioridad:

20.06.2013 EP 13305830

20.06.2013 US 201361837406 P

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

21.10.2019

73 Titular/es:

NANOBIOTIX (100.0%)

60 rue de Wattignies

75012 Paris, FR

72 Inventor/es:

POUL, LAURENCE;

LEVY, LAURENT;

BERJAUD, CÉLINE;

GERMAIN, MATTHIEU y

POTTIER, AGNÈS

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 727 874 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

Composiciones para uso en oncología

Campo de la invención

- 5 La descripción se refiere a composiciones y métodos para uso en diagnósticos médicos y monitorización de pacientes, típicamente en el ámbito de las terapias, en particular en el ámbito de la oncología para optimizar la cantidad de irradiación local aplicada en el lecho tumoral. Más particularmente, se refiere a un gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, en el que i) la densidad de cada nanopartícula y de cada agregado de nanopartículas es de al menos 7 g/cm^3 , el agregado de nanopartículas o las nanopartículas que comprenden un material inorgánico que comprende al menos un elemento metálico que tiene un número atómico Z
- 10 de al menos 25, más preferiblemente de al menos 40, siendo cubiertas cada una de dichas nanopartículas y dicho agregado de nanopartículas con un recubrimiento biocompatible; ii) la concentración de los agregados de nanopartículas y/o nanopartículas es de al menos aproximadamente el 1% (p/p); y iii) la viscosidad aparente a 2 s^{-1} del gel que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, está entre aproximadamente $0,1 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ y aproximadamente $1000 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ cuando se mide entre 20°C y 37°C .
- 15 La composición de la invención típicamente permite mejorar la delimitación del lecho tumoral después de la cirugía para optimizar su irradiación.

Antecedentes de la invención

- 20 El control local de la recurrencia o recaída del cáncer constituye un paso crucial en el tratamiento contra el cáncer después de la cirugía y la radioterapia. Una vez que se ha realizado la tumorectomía, la radioterapia postoperatoria se usa en varias indicaciones para tratar el lecho tumoral para mejorar las tasas de control local y, por lo tanto, reducir, e idealmente evitar, las recidivas tumorales. Un reciente metaanálisis del Grupo de Colaboración de Investigadores del Cáncer de Mama Prematuro enfatizó la importancia de reducir las recurrencias locales del tumor de mama, ya que puede evitarse una muerte por cada cuatro recidivas locales. De acuerdo con los autores de "Customized computed tomography-based boost volumes in breast-conserving therapy: use of three-dimensional histologic information for clinical target volume margins" [IJROBP 75 (3): 757-763 (2009)], un método para mejorar el control local es aumentar la dosis de irradiación a la que está expuesto el lecho tumoral (es decir, aumentar la irradiación). Los autores agregan que este efecto podría incrementarse aún más al mejorar la delimitación del lecho tumoral (es decir, el volumen objetivo a la que la irradiación de refuerzo debe dirigirse específicamente).

- 30 La Comisión Internacional sobre Unidades y Medidas de Radiación define el Volumen Bruto del Tumor (GTV, por sus siglas en inglés) como la extensión demostrable y la ubicación de un crecimiento maligno. En la radioterapia mamaria adyuvante (el paso quirúrgico que va a continuación de la radioterapia), el GTV se extirpa con un margen variable de tejido, dejando una cavidad. La cavidad no es el GTV, sino que está en relación con éste. Las paredes de la cavidad se denominan, de forma un tanto vaga, lecho tumoral ["Target volume definition for external beam partial breast radiotherapy: clinical, pathological and technical studies informing current approaches" Radiotherapy and Oncology, 94, 255-263 (2010)].

- 35 En la práctica clínica, identificar con precisión el lecho tumoral comporta una situación compleja y, con frecuencia, se habla de una alta tasa de variabilidad interobservador en el contorno del lecho tumoral, especialmente en cavidades de resección poco visualizadas ["Excised and Irradiated Volumes in Relation to the Tumor size in Breast-Conserving Therapy", Breast Cancer Res Treat, 129: 857-865 (2011)]. El volumen postoperatorio irradiado (tal como se describe en la tomografía computarizada de planificación de la radioterapia antes del inicio de la radioterapia), en pacientes tratados con terapia de conservación de la mama no es, para la mayoría de los casos, claramente visible y, con frecuencia, se utiliza una puntuación de visualización de la cavidad para evaluar la calidad de la identificación del volumen posoperatorio irradiado.

- 45 Del mismo modo, para los cánceres de próstata, el Grupo de Oncología de Radiación EORTC ha recomendado la definición del volumen objetivo en la radioterapia postoperatoria, presentando pautas para la estandarización de la definición y delimitación del volumen objetivo, así como la estandarización de los procedimientos de garantía de calidad clínica; los autores de "Guidelines for target volume definition in post-operative radiotherapy for prostate cancer, on behalf of the EORTC Radiation Oncology Group" [Radiotherapy and Oncology, 84, 121-127 (2007)], en particular se refirieron a un estudio en el que se observaba una cierta variabilidad entre observadores de la delimitación del volumen objetivo en la radioterapia postoperatoria para el cáncer de próstata con cinco (5) radioncólogos diferentes en ocho (8) pacientes distintos (el CTV varió entre los médicos de 39 a 53 cm^3 para el paciente correspondiente a la variación más pequeña y de 16 a 69 cm^3 para el paciente correspondiente a la mayor variación). Un estudio para evaluar la precisión de la técnica de refuerzo, publicado en "Improving the definition of the tumor bed boost with the use of surgical clips and image registration in breast cancer patients" [Int. J. Oncology Radiation Biol. Phys., Vol 78 (5); 1352-1355 (2010)], muestra que el uso de clips radiopacos durante la tumorectomía, generalmente el uso de 3 o más clips, aumenta la precisión de la delimitación del lecho tumoral (cf. Figura 1). Sin embargo, las cuestiones sobre la precisión de la delimitación de la TB basada en tomografía computarizada/clip quedan aún por resolver. Los clips solo definen los puntos ubicados en las paredes de la cavidad

de escisión, de modo que la interfaz de la cavidad de escisión del tejido tumoral restante debe derivarse por interpolación, teniendo en cuenta la densidad y la distorsión del tejido.

Curiosamente, un informe sobre la magnitud del cambio volumétrico en el lecho tumoral postlumpectomía ha demostrado cambios significativos en el volumen del lecho tumoral antes y durante la terapia con radiación o radioterapia (RT) ["The dynamic tumor bed: volumetric changes in the lumpectomy cavity during breast conserving therapy" Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. 74(3):695-701 (2009)]. Treinta y seis (36) pacientes se inscribieron en el estudio, con tumores de mama Tis (10), T1 (24) y T2 (2). Treinta (30) pacientes recibieron una irradiación completa en la mama después de una lumpectomía seguida de una dosis de refuerzo de 10 Gy. Seis (6) pacientes fueron tratados con irradiación parcial de la mama. Se obtuvieron tomografías para la planificación del tratamiento de la mama poco después de la cirugía, antes del inicio de la irradiación de la mama total para la planificación del tratamiento y antes de la administración del refuerzo del lecho tumoral. Las pacientes que fueron tratadas con irradiación parcial de la mama se sometieron solo a una exploración después de la operación y a una exploración antes del tratamiento en el lecho tumoral.

Durante el intervalo entre la exploración postoperatoria y la segunda exploración (intervalo medio, 3 semanas), el volumen del lecho tumoral disminuyó en una media del 49,9%. Entre la exploración de planificación y la exploración de refuerzo (intervalo medio, 7 semanas), el volumen mediano del lecho tumoral disminuyó en un 44,6%.

Un subgrupo de ocho (8) pacientes, que experimentaron un retraso (intervalo medio, 23 semanas) entre la cirugía y la RT debido a la quimioterapia planificada, tuvo una reducción media del volumen del lecho tumoral del 60,3% durante el intervalo entre la exploración postoperatoria y la exploración de planificación. Cuando se evaluaron los datos de esta magnitud y la tasa de cambio en el contexto de toda la serie de pacientes, los resultados observados sugirieron que el volumen del lecho tumoral disminuía más rápidamente en las semanas inmediatamente después a la cirugía y luego alcanzaba una meseta relativa.

Según los autores, el impacto de un gran cambio volumétrico en el volumen de planificación, la dosimetría o los parámetros clínicos, como el control local o el resultado cosmético, son importantes áreas para futuras investigaciones teóricas. Si se utiliza una única exploración de planificación para planificar el refuerzo del volumen objetivo clínico (CTV, por sus siglas en inglés) en un paciente con un lecho tumoral que se encoge drásticamente durante el curso de la RT, los tejidos normales circundantes reciben una radiación adicional innecesaria, pudiéndose producir más pobres resultados cosméticos y efectos indeseables con posterioridad. A la inversa, si se realiza una única exploración de planificación mucho después de la cirugía, el volumen reducido del lecho tumoral podría en realidad subestimar el volumen del lecho tumoral verdadero o el área de contaminación del tumor quirúrgico.

El documento WO 2011/084465 se refiere a la estabilización y visualización de los huecos en los tejidos dejados por la extirpación quirúrgica de tejidos cancerosos. Según los inventores, un enfoque de llenado conforme es una mejora considerable respecto al uso de clips, que proporciona pobres resoluciones en los márgenes espaciales. Los implantes descritos pueden formularse para que sean estables hasta que ya no se necesiten y, posteriormente, biodegradarse. Según el documento WO 2011/084465, la implantación de hidrogeles conduce a un aumento del volumen medio de la cavidad. Por lo tanto, cuando se utilizan márgenes estándar, el hidrogel tiende a aumentar las dosis normales de radiación tisular. Por lo tanto, se requiere una expansión del margen menor para disminuir las dosis normales de radiación tisular.

Como es fácilmente comprensible por lo anterior, sigue existiendo una clara necesidad de mejorar la delimitación postquirúrgica del lecho tumoral para optimizar la irradiación solo en el lecho tumoral.

Descripción detallada de la invención

Los inventores proporcionan en este documento una composición ventajosa que mejora considerablemente la delimitación del tejido diana, en particular la delimitación del lecho tumoral, sin afectar a los cambios del volumen del tejido diana, típicamente cuando se considera un lecho tumoral, en los cambios en el volumen del lecho tumoral o en la remodelación de los tejidos post-lumpectomía. En el contexto de la invención, el lecho tumoral es un tejido que cubre la cavidad obtenida después de una resección tumoral.

La composición de la invención permite además, ventajosamente, al menos un 10% de incremento del depósito de dosis de energía (radiación) en el lecho tumoral; es decir, sin aumentar la deposición de dosis de energía en los tejidos sanos circundantes.

Un primer objeto se refiere a un gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, en donde i) la densidad de cada nanopartícula y de cada agregado de nanopartículas es de al menos 7 g/cm³, comprendiendo el agregado de nanopartículas o las nanopartículas un material inorgánico que comprende al menos un elemento metálico que tiene un número atómico Z de al menos 25, más preferiblemente de al menos 40, estando cubierta cada una de dichas nanopartículas y dicho agregado de nanopartículas con un recubrimiento biocompatible; ii) la concentración de los agregados de nanopartículas y/o las nanopartículas es, al menos, aproximadamente un 1% (p/p); y iii) la viscosidad aparente a 2s⁻¹ del gel que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas está entre aproximadamente 0,1 Pa.s y aproximadamente 1000 Pa.s cuando se mide entre 20°C y 37°C.

Las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas están típicamente incrustados en el gel de la invención.

5 El gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas de acuerdo con la invención permite ventajosamente la delimitación y visualización de al menos el 40%, preferiblemente al menos el 50%, incluso más preferiblemente más del 50% de un tejido biológico objetivo cuando el tejido biológico objetivo se observa utilizando equipos de imágenes de rayos X.

El tejido biológico objetivo es típicamente un lecho tumoral.

10 En una realización preferida, cuando el gel se aplica sobre el tejido biológico objetivo, las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas del gel biocompatible permiten un aumento de al menos aproximadamente el 10% del depósito de dosis de radiación en dicho tejido biológico objetivo cuando se exponen a radiaciones ionizantes, en comparación con el depósito de dosis en el mismo tejido biológico en ausencia de dicho gel.

Nanopartículas inorgánicas

En la presente descripción, los términos "nanopartículas(s)", "agregados(s) de nanopartículas" y "partículas(s)" se usan indistintamente.

15 En el contexto de la presente invención, los términos "nanopartícula" o "agregado de nanopartículas" se refieren a un producto, en particular un producto sintético, con un tamaño en el intervalo nanométrico, típicamente entre 1 nm y 500 nm.

El tamaño de las nanopartículas y su estructura y composición se pueden analizar con el difractograma de rayos X. La expresión "agregado de nanopartículas" se refiere a un conjunto de nanopartículas fuertemente unidas entre sí, típicamente covalentemente.

20 Las expresiones "tamaño de la nanopartícula" o "tamaño del agregado de nanopartículas" y "tamaño más grande de la nanopartícula" o "tamaño más grande del agregado de nanopartículas" en este documento se refieren a la "dimensión más grande de la nanopartícula" o "dimensión más grande del agregado de nanopartículas" o "diámetro de la nanopartícula" o "diámetro de la agregación de nanopartículas". La microscopía electrónica de transmisión (TEM) se puede usar para medir el tamaño de la nanopartícula o el agregado de nanopartículas. Además, la dispersión de luz dinámica (DLS) se puede usar para medir el diámetro hidrodinámico de nanopartículas o agregados de nanopartículas en solución. Estos dos métodos pueden usarse adicionalmente uno después de otro para comparar medidas de tamaño y confirmar dicho tamaño.

30 La dimensión más grande de un agregado de nanopartículas o nanopartículas como se define en este documento está típicamente entre aproximadamente 5 nm y aproximadamente 250 nm, preferiblemente entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 100 nm o aproximadamente 200 nm, incluso, más preferiblemente, entre aproximadamente 20 nm y aproximadamente 150 nm.

35 Como la forma de la partícula puede influir en su "biocompatibilidad", se prefiere una partícula que tenga una forma bastante homogénea. Por razones farmacocinéticas, se prefieren las nanopartículas o los agregados de nanopartículas que tienen una forma esencialmente esférica, redonda u ovoide. Dicha forma también favorece la interacción de las nanopartículas o de las nanopartículas o la captación por las células. La forma esférica o redonda es particularmente preferida.

Típicamente, la dimensión más grande es el diámetro de un agregado de nanopartículas o nanopartículas de forma redonda o esférica, o la longitud más larga de un agregado de nanopartículas o nanopartículas de forma ovoide u ovalada.

40 De acuerdo con la invención, el material inorgánico con el que se prepara la nanopartícula o el agregado de nanopartículas comprende típicamente al menos un elemento metálico, típicamente un elemento metálico que tiene un número atómico Z de al menos 25, preferiblemente de al menos 40, incluso más preferiblemente por encima de 40. El material inorgánico también puede comprender varios elementos metálicos, típicamente dos elementos metálicos.

45 En la invención reivindicada, el agregado de nanopartículas o las nanopartículas consisten en un material inorgánico, comprendiendo dicho material inorgánico un único elemento metálico o una mezcla de elementos metálicos.

50 De acuerdo con la descripción, el material inorgánico es preferiblemente un material que tiene un número atómico efectivo (Z_{eff}) de al menos 25, preferiblemente al menos 40 ó 41, más preferiblemente al menos 50 ó 51, más preferiblemente al menos 60, 61, 62, o incluso, 63.

El número atómico efectivo es un término que es similar al número atómico pero que se usa para compuestos (por ejemplo, agua) y mezclas de diferentes materiales (como tejidos y huesos) en lugar de para átomos. El número atómico efectivo calcula el número atómico promedio para un compuesto o mezcla de materiales. Se abrevia Z_{eff} .

El número atómico efectivo se calcula tomando la proporción fraccionaria de cada átomo en el compuesto y multiplicándola por el número atómico del átomo. La fórmula para el número atómico efectivo, Z_{eff} , es la siguiente:

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

dónde

5 f_n es la fracción del número total de electrones asociados con cada elemento, y

Z_n es el número atómico de cada elemento.

El número atómico (también conocido como número de protones) es el número de protones que se encuentran en el núcleo de un átomo. Tradicionalmente está representado por el símbolo Z (y en este documento también se identifica como Z_n). El número atómico identifica de forma única un elemento químico. En un átomo de carga neutra, el número atómico es igual al número de electrones.

Un ejemplo es el del agua (H_2O) que se compone de dos átomos de hidrógeno ($Z = 1$) y un átomo de oxígeno ($Z = 8$). El número total de electrones es $1 + 1 + 8 = 10$. La fracción de electrones correspondiente a los dos hidrógenos es $2/10$ y la fracción de electrones correspondiente al oxígeno único es $(8/10)$. Z_{eff} de agua es por lo tanto:

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

15 Z_{eff} participa de la capacidad de absorción de las radiaciones entrantes de las nanopartículas.

El material inorgánico que constituye la nanopartícula y/o el agregado de nanopartículas se selecciona típicamente de un metal, un óxido, un sulfuro y cualquier mezcla de los mismos. Como se describe en este documento, este material inorgánico comprende al menos un elemento metálico que tiene un número atómico Z de al menos 25, preferiblemente de al menos 40, incluso más preferiblemente por encima de 40.

20 El agregado de nanopartículas o las nanopartículas usados en el gel de la invención consisten en un material inorgánico, en el que la densidad de dicho agregado de nanopartículas y las nanopartículas tienen al menos 7 g/cm^3 .

25 Cuando el material inorgánico, que constituye la nanopartícula y/o el agregado de nanopartículas, es un óxido, este óxido puede seleccionarse, por ejemplo, entre óxido de cerio (IV) (CeO_2), óxido de neodimio (III) (Nd_2O_3), óxido de samario (III) (Sm_2O_3), óxido de europio (III) (Eu_2O_3), óxido de gadolinio (III) (Gd_2O_3), óxido de terbio (III) (Tb_2O_3), óxido de disprosio (III) (Dy_2O_3), óxido de holmio (Ho_2O_3), óxido de erbio (Er_2O_3), óxido de tulio (III) (Tm_2O_3), óxido de iterbio (Yb_2O_3), óxido de lutecio (Lu_2O_3), óxido de hafnio (IV) (HfO_2), óxido de tantalio (V) (Ta_2O_5), óxido de renio (IV) (ReO_2), óxido de bismuto (III) (Bi_2O_3).

30 En una realización particular, también se puede usar una mezcla de óxidos como material inorgánico para preparar el agregado de nanopartículas y/o nanopartículas de la invención. Las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas de la invención pueden así comprender o consistir en una mezcla de óxidos.

35 Cuando el material inorgánico que constituye la nanopartícula y/o el agregado de nanopartículas es un metal, este metal puede seleccionarse, por ejemplo, entre oro metálico (Au), plata metálica (Ag), platino metálico (Pt), paladio metálico (Pd), estaño metálico (Sn), tantalio metálico (Ta), hafnio metálico (Hf), terbio metálico (Tb), tulio metálico (Tm), disprosio metálico (Dy), erbio metálico (Er), holmio metálico (Ho), hierro metálico (Fe), neodimio metálico (Nd) y lutecio metálico (Lu). Como se indicó anteriormente, en una realización particular, también se puede usar una mezcla de metales como material inorgánico para preparar el agregado de nanopartículas y/o las nanopartículas de la invención.

Las nanopartículas y/o los agregados de las nanopartículas de la invención pueden así comprender o consistir en una mezcla de metales.

40 Cuando el material inorgánico que constituye la nanopartícula y/o el agregado de nanopartículas es un sulfuro, este sulfuro es preferiblemente sulfuro de plata (Ag_2S).

También se puede usar una mezcla de un óxido, de un metal y/o de un sulfuro para preparar las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas de la invención. Las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas descritos en este documento pueden así comprender o consistir en una mezcla de un óxido, un metal y/o un sulfuro.

45 Un ejemplo de nanopartícula que puede usarse ventajosamente en el contexto de la presente invención es una nanopartícula metálica de oro cubierta con material de óxido de hafnio.

En una realización preferida, la nanopartícula y/o el agregado de nanopartículas utilizadas en el contexto de la presente invención pueden recubrirse con un material biocompatible seleccionado de un agente que presenta un grupo estérico. Dicho grupo puede seleccionarse, por ejemplo, de polietilenglicol (PEG); poli(óxido de etileno); alcohol de polivinilo; poliacrilato; poli(acrilamida (poli(N-isopropilacrilamida))); policarbamida; un biopolímero; un polisacárido tal como dextrano, xilano y celulosa; colágeno y un compuesto zwitteriónico tal como la polisulfobetaina; etc.

En otra realización preferida, las nanopartículas y/o el agregado de nanopartículas usado en el contexto de la invención se pueden recubrir con un material biocompatible seleccionado de un agente que permita la interacción con una diana biológica. Un agente de este tipo generalmente puede generar una carga positiva o negativa en la superficie de la nanopartícula. Esta carga puede determinarse mediante mediciones de potencial zeta, que se realizan típicamente en nanopartículas y/o suspensiones de agregados de nanopartículas cuya concentración varía entre 0,2 y 10 g/L, siendo suspendidos los agregados de nanopartículas y/o las nanopartículas en un medio acuoso con un pH comprendido entre 6 y 8.

Un agente que forma una carga positiva en la superficie de la nanopartícula puede ser, por ejemplo, el aminopropiltriétoxissilano o la polilisina. Un agente formador de una carga negativa en la superficie de la nanopartícula puede ser, por ejemplo, un fosfato (por ejemplo, un polifosfato, un metafosfato, un pirofosfato, etc.), un carboxilato (por ejemplo, citrato o ácido dicarboxílico, en particular el ácido succínico) o un sulfato.

Ventajosamente, el recubrimiento conserva la integridad del agregado de nanopartículas y/o las nanopartículas in vivo, garantiza o mejora la biocompatibilidad de estos y facilita su funcionalización opcional (por ejemplo, con moléculas espaciadoras, polímeros biocompatibles, agentes de reconocimiento, proteínas, etc.). Además, el recubrimiento se usa ventajosamente en el contexto de la presente invención para facilitar la unión de la partícula con el tejido o la célula biológica diana.

Una nanopartícula particular y/o un agregado de nanopartículas de acuerdo con la presente invención puede comprender además al menos un agente de reconocimiento que permita su interacción con un elemento de reconocimiento presente en la célula diana. Dicho agente de reconocimiento actúa típicamente una vez que las nanopartículas y/o los agregados de las nanopartículas limitan el sitio diana. El agente de reconocimiento puede ser cualquier estructura biológica o química que muestre afinidad por las moléculas presentes en el cuerpo humano o animal. Por ejemplo, puede ser un péptido, oligopéptido o polipéptido, una proteína, un ácido nucleico (ADN, ARN, ARNsi, ARNt, ARNhc, etc.), una hormona, una vitamina, una enzima, el ligando de una molécula expresada por una célula patológica, en particular el ligando de un antígeno tumoral, un receptor de hormonas, receptor de citoquinas o receptor del factor de crecimiento. Dichos agentes de reconocimiento pueden seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste en LHRH, EGF, un folato, anticuerpo anti-B-FN, E-selectina/P-selectina, anticuerpo anti-IL-2R α , GHRH, etc.

Gel biocompatible

Un gel polimérico natural se obtiene principalmente mediante la formación de límites intermoleculares como resultado i) de los cambios de temperatura y pH y ii) de la presencia de iones metálicos. De este modo, durante la formación del gel, tiene lugar una transición de gel-solución reversible.

Por otro lado, los geles sintéticos consisten en cadenas de polímero conectadas por enlaces covalentes u otros enlaces físicos. Estas estructuras conducen típicamente a la formación de un gel irreversible.

Las propiedades de los geles están influidas tanto por las redes como por los disolventes. Un gel se hincha cuando se sumerge en un buen disolvente. Los hidrogeles son geles que típicamente se hinchan en ambientes acuosos.

Un gel biocompatible preferido según la invención es un hidrogel biocompatible.

Los polímeros utilizados para aplicaciones médicas deben ser biocompatibles; es decir, al entrar en contacto con un cuerpo, por ejemplo con órganos internos o con cualquier otro sistema biológico, no deben causar inflamación y/o reacciones adversas.

Los polímeros típicos que pueden usarse para formar el gel biocompatible se pueden seleccionar de polietilenimina (PEI); polietilenglicol (PEG); polipropilenglicol (PPG); polisacáridos, incluidos, por ejemplo, derivados de celulosa (por ejemplo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa), derivados de ácido hialurónico, quitosán, dextrano, etc.; derivados de poli(acrilamida); derivados de poli(ácido láctico) (PLA); derivados de poli(ácido acrílico) (PAA); derivados del ácido poli(lactida-co-glicólico) (PLGA); alcohol polivinílico (PVA); poli(vinilpirrolidona); derivados de polialquilmacrilato; derivados del colágeno; poli(ácido glutámico) (PGA); y gelatina. El gel biocompatible también puede estar compuesto por cualquier mezcla de los polímeros identificados en este documento. Los polímeros preferidos que pueden usarse ventajosamente para preparar hidrogeles biocompatibles pueden seleccionarse en la familia de polisacáridos que incluye i) derivados de celulosa, típicamente metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, y ii) miembros de la familia del ácido hialurónico o sus derivados, típicamente obtenidos por introducción de un grupo funcional sobre el ácido hialurónico.

Esto se puede lograr mediante la formación de un éster activo en el carboxilato del resto del ácido glucurónico del ácido hialurónico y mediante la subsiguiente sustitución del mismo con un grupo amino o aldehído.

5 Para modular la viscosidad del gel, estos polisacáridos se pueden reticular típicamente con reticuladores de bajo o alto peso molecular o se pueden reticular por sí mismos (usando medios físicos como el calor o las radiaciones y en ausencia de cualquier molécula extraña).

La cantidad de polímero a dispersar en un disolvente para formar un gel biocompatible de acuerdo con la invención está típicamente entre 0,1% y 50% (peso en peso, p/p), más preferiblemente entre 0,5% y 40%, típicamente entre 0,5 % y 35%, o entre 0,5% y 25%, e incluso más preferiblemente entre aproximadamente 1%, aproximadamente 2%, o aproximadamente 3% y aproximadamente 15% o aproximadamente 20% (p/p).

10 Cuando el gel biocompatible es un hidrogel, el solvente es típicamente un medio acuoso.

15 La viscosidad aparente en $2s^{-1}$ del gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas para una temperatura entre 20°C y 37°C está entre aproximadamente 0,1 Pa.s y aproximadamente 1000 Pa.s, preferiblemente entre 1 Pa.s y 750 Pa.s, típicamente entre 5 Pa.s y 500 Pa.s o 5 Pa.s y 300 Pa.s. La medición de la viscosidad se realiza normalmente, a 20°C y 37°C, utilizando un reómetro Couette (MODEL RM200, LAMY Rheology) en un intervalo dado de velocidad de corte, que se encuentra entre $0,1 s^{-1}$ y $300 s^{-1}$. La viscosidad aparente se reporta en $2s^{-1}$.

Para cada muestra, la medición se realiza en un volumen de al menos 25 ml con el husillo adecuado, siguiendo las recomendaciones de la norma DIN ISO 3219.

Interacción partícula-gel

20 En el gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas de acuerdo con la invención, cada nanopartícula o agregado de nanopartículas comprende o consiste en un material inorgánico, típicamente en un material inorgánico que comprende al menos un elemento metálico que tiene un número atómico Z de al menos 25, preferiblemente de al menos 40, y la densidad de cada nanopartícula y el agregado de nanopartículas es de al menos $7 g/cm^3$. Cada nanopartícula o agregado de nanopartículas se cubre ventajosamente con un recubrimiento biocompatible.

25 La concentración de nanopartículas y/o agregados de nanopartículas dentro del gel es de al menos aproximadamente el 1% (p/p). En una realización preferida, la concentración de nanopartículas y/o agregados de nanopartículas dentro del gel está entre aproximadamente el 1,5% y el 50% (p/p), preferiblemente entre el 1,5% y el 25% (p/p), incluso más preferiblemente entre el 1,5% y 10% (p/p) o 1,5% y 5% (p/p), típicamente entre 2% y 4% (p/p). Por ejemplo, la concentración de agregados de nanopartículas y/o nanopartículas dentro del gel es igual a aproximadamente 1,5%, 2%, 3,5%, 4% o 5% (p/p).

30 La ausencia de cualquier interacción fuerte (una interacción fuerte suele ser una interacción covalente) entre las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas y el polímero que forma el gel biocompatible es una característica importante para asegurar que dichas nanopartículas y/o agregados de nanopartículas se liberen realmente del gel para que delimiten correctamente el lecho tumoral.

35 La ausencia de una interacción fuerte entre la partícula y el polímero que forma el gel biocompatible se puede verificar típicamente midiendo la viscosidad del gel que comprende las nanopartículas y/o agregados de nanopartículas a 20°C y 37°C, como se describe anteriormente, y comparando la curva de viscosidad obtenida con la de un gel que no comprende nanopartículas ni agregados de nanopartículas. Las curvas de viscosidad similares (es decir, los valores que difieren entre sí en no más del 20%, típicamente en no más del 15%) confirman la ausencia de una interacción fuerte entre las nanopartículas y/o los agregados de las nanopartículas y el gel.

40 La ausencia de una interacción fuerte entre la partícula y el polímero que forma el gel biocompatible también puede verificarse típicamente mediante la transformación infrarroja de Fourier (FTIR), midiendo el espectro de transmitancia (en función del número de onda) del gel que comprende las nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, y comparando el espectro obtenido con el de un gel que no comprende agregados de nanopartículas ni de nanopartículas y también con el de las nanopartículas o agregados de nanopartículas. El espectro de transmitancia del gel que comprende las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas corresponde estrictamente a la adición del espectro de transmitancia del gel más el espectro de transmitancia de las nanopartículas o agregados de nanopartículas. Este espectro de transmitancia no revela ninguna banda adicional. Esto confirma la ausencia de interacciones fuertes entre el gel de acuerdo con la invención y las nanopartículas o agregados de nanopartículas (véanse los ejemplos 10 y 11 y la Figura 6).

Delimitación y visualización de tejidos biológicos y lechos tumorales

45 Los métodos utilizados clásicamente para la visualización del lecho tumoral y la planificación del tratamiento (es decir, la planificación de una radioterapia adecuada) incluyen métodos clínicos como i) la planificación mediante la palpación y/o la cicatriz quirúrgica; ii) planificación teniendo en cuenta los hallazgos de visualización prequirúrgica

(típicamente mamografía), historia clínica y/o informe operatorio; iii) la planificación que incluye típicamente radiografía, tomografía computerizada (TC), tomografía por emisión de positrones (PET) o imágenes de resonancia magnética (IRM), como lo sabe el experto. Las tecnologías de imágenes médicas que utilizan rayos X, como el escáner CT, son tecnologías de uso común para determinar la planificación del tratamiento en el lecho tumoral.

- 5 La tomografía computerizada (TC) se basa en la absorción variable de rayos X por diferentes tejidos y proporciona una imagen transversal. El término "tomografía" deriva del término griego "tomos" que significa "corte" o "sección" y "graphe" que significa "imagen". Un sistema de imágenes TC produce imágenes de corte transversal de los huesos y tejidos blandos dentro del cuerpo. Las imágenes TC se pueden combinar para crear imágenes en 3D.

- 10 Los agregados de nanopartículas y/o nanopartículas utilizados en el contexto de la presente invención comprenden o consisten en un material inorgánico que comprende preferiblemente al menos un elemento metálico con un número atómico de al menos 25, preferiblemente de al menos 40, incluso más preferiblemente por encima de 40. Las nanopartículas son intrínsecamente radiopacas (es decir, absorben los rayos X) y pueden visualizarse fácilmente, por lo general, mediante radiografía o tomografía computerizada. Cuando se exponen a los rayos X, típicamente administrados por un escáner TC, los agregados de nanopartículas y/o nanopartículas crean un marcado contraste en las imágenes TC debido a la diferencia de densidad electrónica de los tejidos biológicos diana y de las partículas.

- 15 El número de Hounsfield es un valor normalizado del coeficiente de absorción de rayos X calculado de un píxel (elemento de imagen) en un tomograma computerizado. Este número se expresa en unidades de Hounsfield (HU). El número CT de aire es -1000 (HU = -1000) y el del agua es 0 (HU = 0). Para las partículas inorgánicas con un alto Z_{eff} , la separación entre tejidos y partículas ocurre típicamente alrededor de valores HU de 150. Por encima de los valores de HU de típicamente 120 hasta 200, no se pueden medir más densidades de tejidos blandos.

El gel biocompatible que comprende las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas de la invención puede administrarse al sujeto i) por deposición en el tejido biológico de interés (tejido diana) o ii) rellenando la cavidad que queda típicamente después de una tumorectomía, preferiblemente en el momento de la cirugía (resección tumoral).

- 25 Las nanopartículas o agregados de nanopartículas se liberan del gel y luego se depositan en el tejido seleccionado, preferiblemente en un lecho tumoral.

- 30 Preferiblemente, las nanopartículas o los agregados de las nanopartículas se depositan en el tejido diana, típicamente entre 24 horas y menos de 1 mes, preferiblemente entre 24 horas y 3 semanas, más preferiblemente entre 24 horas y 2 semanas, para permitir una delimitación del tejido diana perfecta y persistente. Dicha delimitación será de gran valor, generalmente en el contexto de cualquier planificación de tratamiento adicional. En una realización particular, la liberación y deposición de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas en el tejido diana varían dependiendo de la viscosidad del gel (véanse los ejemplos 3, 4 y 7).

En una realización particular, el gel biocompatible de la invención es para usar en la delimitación de tejidos específicos.

- 35 Cuando se tiene que rellenar una cavidad con un gel de acuerdo con la invención, el gel puede llenar al menos el 10% del volumen de la cavidad, preferiblemente al menos el 20% del volumen de la cavidad, incluso más preferiblemente más del 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% del volumen de la cavidad. El 100% del volumen de la cavidad también se puede llenar con dicho gel. Se pueden realizar administraciones repetidas del gel, cuando sea apropiado.

- 40 La delimitación del tejido diana permitida por el gel de acuerdo con la presente invención que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas puede visualizarse usando típicamente un equipo de imágenes médicas de rayos X y, más preferiblemente, un escáner CT. El término "limitar" significa que las nanopartículas o agregados de las nanopartículas i) cubren al menos aproximadamente el 40%, preferiblemente al menos aproximadamente el 50%, e incluso más preferiblemente más de aproximadamente el 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, o aproximadamente el 95% del tejido diana; y preferiblemente ii) forman en la superficie de los tejidos diana una capa con un espesor comprendido entre 100 μm y 0,5 cm, por ejemplo entre 500 μm y 0,5 cm. El número de Hounsfield (HU) dentro de la capa tiene al menos 120 HU. Idealmente, las nanopartículas o agregados de nanopartículas cubren el 99%, o incluso el 100%, de los tejidos diana.

- 50 Se describe también en este documento un método para limitar un lecho tumoral en un sujeto, permitiendo tal delimitación la visualización posterior de dicho lecho tumoral usando un equipo de formación de imágenes de rayos X, en el que dicho método comprende exponer el lecho tumoral de un sujeto a un gel biocompatible que comprende las nanopartículas o los agregados de nanopartículas (como se describe en este documento), típicamente a través de la deposición del gel en el lecho tumoral, preferiblemente en el momento de la cirugía (resección tumoral), para obtener la delimitación del lecho tumoral con un retraso comprendido entre 24 horas y menos de 1 mes, preferiblemente entre 24 horas y 3 semanas, más preferiblemente entre 24 horas y 2 semanas después de la deposición. La delimitación del lecho tumoral puede visualizarse entonces utilizando un equipo de imágenes de rayos X.

La invención se puede usar para limitar cualquier lecho tumoral de cualquier tipo de tumores sólidos malignos, en particular de origen epitelial, neuroectodérmico o mesenquimático, así como cánceres linfáticos, siempre que se trate de ganglios linfáticos.

5 El gel biocompatible que comprende las nanopartículas y/o los agregados de las nanopartículas en este documento descritas se destina en particular a su uso en el contexto de un protocolo de tratamiento del cáncer donde la radioterapia es un tratamiento adyuvante clásico o es el tratamiento adyuvante más apropiado para un sujeto en particular, o donde la radioterapia podría estar indicada como tratamiento adyuvante. Dicho cáncer puede seleccionarse en particular del grupo que consiste en cáncer de piel, que incluye neoplasias malignas asociadas al SIDA, melanomas; cáncer escamoso; tumores del sistema nervioso central incluyendo cerebro, cerebelo, pituitaria, 10 médula espinal, tronco cerebral, ojo y órbita; tumores de cabeza y cuello; cánceres de pulmón; cáncer de mama; tumores gastrointestinales tales como cánceres de hígado y tracto hepatobiliar, cánceres de colon, recto y anal, cáncer de estómago, páncreas, esófago; tumores genitourinarios masculinos como cánceres de próstata, testículos, pene y uretra; tumores ginecológicos como el cuello uterino, el endometrio, el ovario, las trompas de Falopio, la vagina y el cáncer de vulva; tumores suprarrenales y retroperitoneales; sarcomas de hueso y tejidos blandos independientemente de la localización; y tumores pediátricos como el tumor de Wilm, el neuroblastoma, los tumores del sistema nervioso central, el sarcoma de Ewing, etc.

Irradiación de tejidos biológicos y lechos tumorales

20 El gel biocompatible de la invención se puede usar en muchos campos, particularmente en medicina humana o veterinaria. El gel biocompatible según la invención, como se describe en este documento, se usa preferiblemente en mamíferos, incluso más preferiblemente en un ser humano, como agente terapéutico en oncología, particularmente cuando las nanopartículas o agregados de nanopartículas están expuestos a radiaciones ionizantes. La radiación ionizante se selecciona preferiblemente entre rayos X, rayos gamma y haces de electrones.

25 En una realización preferida, cuando el gel se aplica sobre un tejido biológico diana, las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas del gel biocompatible permiten un aumento de al menos aproximadamente el 10% del depósito de dosis de radiación en dicho tejido biológico diana cuando se exponen a radiaciones ionizantes, en comparación con el depósito de dosis en el mismo tejido biológico en ausencia de dicho gel.

Típicamente, la presente invención se refiere a un método de tratamiento que permite un aumento del depósito de dosis de radiación de al menos el 10% en un tejido diana de un sujeto, preferiblemente en un lecho tumoral de un sujeto, que comprende los siguientes pasos en el orden de:

30 i) exponer el lecho tumoral de un sujeto a un gel biocompatible que comprende las nanopartículas o agregados de nanopartículas de acuerdo con la invención (como se describe en este documento), típicamente a través de la deposición del gel en el lecho tumoral, preferiblemente en el momento de la cirugía (resección del tumor), para obtener la delimitación del lecho tumoral, e

35 ii) irradiar dichas nanopartículas o agregados de nanopartículas utilizando un haz o haces de radiación ionizante, tratando así al sujeto.

Típicamente, el sujeto es un paciente con cáncer.

40 Bajo el efecto de las radiaciones ionizantes, en particular los rayos X, los rayos gamma, los isótopos radiactivos y/o los haces de electrones, los agregados de nanopartículas y/o las nanopartículas generan electrones y/o fotones de alta energía. Esos electrones y/o fotones de alta energía emitidos después de la ionización serán responsables de los daños directos y/o indirectos de las células, a través de la generación de radicales libres y, en última instancia, de la destrucción de las células, lo que dará como resultado mejores logros para el paciente.

Las partículas pueden estar expuestas a un amplio intervalo de dosis totales de radiaciones.

45 Las cantidades y los cronogramas (planificación y administración de irradiaciones en una sola dosis, o en el contexto de un protocolo fraccionado o hiperfraccionado, etc.) se definen para cualquier enfermedad/sitio anatómico/estadio de la enfermedad/ajustes en el paciente/edad del paciente (pacientes niños, adultos, ancianos), y constituye el estándar de los cuidados para cualquier situación específica.

50 Como se indicó anteriormente, las radiaciones o fuentes de excitación apropiadas son preferiblemente radiaciones ionizantes y pueden seleccionarse ventajosamente del grupo que consiste en rayos X, rayos gamma, haces de electrones, haces de iones e isótopos radiactivos o emisiones de radioisótopos. Los rayos X y los haces de electrones son fuentes de excitación particularmente preferidas.

Las radiaciones ionizantes están típicamente entre aproximadamente 2 keV a aproximadamente 25.000 keV (o 25 MeV), en particular de aproximadamente 2 keV a aproximadamente 6000 keV (es decir, 6 MeV) (fuente LINAC), o de aproximadamente 50 keV a aproximadamente 25.000 keV.

En general y de manera no restrictiva, los siguientes rayos X pueden aplicarse a diferentes casos para excitar las partículas:

- Rayos X superficiales de 2 a 50 keV: para excitar las nanopartículas cerca de la superficie (penetración de unos pocos milímetros);
- 5 - Rayos X de 50 a 150 keV: en diagnóstico pero también en terapia;
- Rayos X (voltaje orto) de 200 a 500 keV que pueden penetrar en un espesor de tejido de 6 cm;
- Rayos X (mega voltaje) de 1000 keV a 25.000 keV.

Los isótopos radioactivos pueden usarse alternativamente como una fuente de radiación ionizante (denominada curieterapia o braquiterapia). En particular, se pueden usar ventajosamente el yodo I^{125} ($t_{1/2} = 60,1$ días), paladio Pd^{103} ($t_{1/2} = 17$ días), Cesio Cs^{137} e Iridio Ir^{192} .

Las partículas cargadas, como haces de protones, haces de iones como el carbono, en particular haces de iones de alta energía, también pueden usarse como una fuente de radiación ionizante y/o haces de neutrones.

Los haces de electrones también se pueden usar como una fuente de radiación ionizante con energía comprendida entre 4 MeV y 25 MeV.

15 Una fuente de irradiación monocromática específica podría usarse para generar selectivamente radiación de rayos X a una energía cercana o correspondiente al límite de absorción de los rayos X deseado de los átomos ("elemento metálico") que constituyen las nanopartículas inorgánicas o agregados de nanopartículas.

Una fuente preferida de radiaciones ionizantes es el acelerador lineal (LINAC). Un objeto adicional de la invención se refiere a un kit que comprende un gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas (como se describe en este documento), opcionalmente junto con un agente terapéutico. En una realización particular, el kit comprende, en recipientes distintos, un gel biocompatible como se describe en este documento y una suspensión de nanopartículas o agregados de nanopartículas como se describe en este documento (que están destinados a ponerse en contacto, típicamente mezclados, ya sea in situ, es decir, en el sitio diana, o ex vivo antes de la deposición de la mezcla en el sitio diana).

25 Un kit que comprende un gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas como se describe en el presente documento, en el que el gel biocompatible y las nanopartículas y/o agregados de nanopartículas están en recipientes distintos, se describe de esta forma en este documento a continuación.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitar su alcance.

Breve descripción de las figuras.

30 FIGURA 1: Delimitación del tejido tumoral con clips

A partir de "Improving the definition of the tumor bed boost with the use of surgical clips and image registration in breast cancer patients" [Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. Vol 78 (5); 1352-1355 (2010)]. Delimitación del volumen del lecho tumoral: volumen grueso del tumor (GTV) (rojo); clips de volumen objetivo clínico (CTV) = todos los clips con márgenes de 0,5 cm; volumen objetivo de planificación (PTV) (verde) = GTV + CTV clips + margen lateral de 0,5 cm y margen superior-inferior de 1 cm.

40 FIGURA 2: Imágenes de Micro-CT (μ CT), capturadas 2 días, 8 días y 20 días después del depósito del gel en la cavidad obtenida después de la tumorectomía, que muestran la delimitación del lecho tumoral utilizando un hidrogel biocompatible según la invención, compuesto de metilcelulosa (5% p/p) que comprenden nanopartículas biocompatibles y/o agregados de nanopartículas (3,5% p/p) consistentes en óxido de hafnio. Las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas se han mezclado con el gel antes de la deposición del gel en el lecho tumoral.

45 FIGURA 3: Imágenes de TC, capturadas 2 días, 9 días y 20 días después del depósito del gel en la cavidad obtenida después de la tumorectomía, que muestran la delimitación del lecho tumoral utilizando un hidrogel biocompatible de acuerdo con la invención, compuesto de metilcelulosa (9% p/p) que comprende nanopartículas biocompatibles y/o agregados de nanopartículas (3,5% p/p) consistentes en óxido de hafnio. Las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas se han mezclado con el gel antes de la deposición del gel en el lecho tumoral.

FIGURA 4: Efecto de la concentración de partículas en el aumento de la dosis de radiación utilizando el cálculo de Monte Carlo.

50 FIGURA 5: Medición de la viscosidad (A a 20°C y B a 37°C) de un gel compuesto de ácido hialurónico (3% p/p) y un gel compuesto de ácido hialurónico (3% p/p) que comprende nanopartículas biocompatibles y/o agregados de nanopartículas (5% p/p) consistentes en óxido de hafnio.

FIGURA 6: Espectro de FTIR de un gel compuesto de ácido hialurónico (0,1% p/p) que comprende nanopartículas biocompatibles y/o agregados de nanopartículas (0,26% p/p) que consiste en óxido de hafnio. Comparación con el espectro del gel compuesto de ácido hialurónico y también con el espectro de nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas que consisten en óxido de hafnio.

5 FIGURA 7: Imágenes de TC, capturadas 30 minutos (D01), 1 día (D02), 3 días (D04), 8 días (D09) y 22 días (D23) después de la deposición del gel en la cavidad obtenida después de una tumorectomía, que muestran la delimitación del lecho tumoral usando un hidrogel biocompatible según la invención. El gel está compuesto de ácido hialurónico (3,8% p/p), ácido hialurónico (2,5% p/p) y ácido hialurónico auto-reticulado (3% p/p) que contiene nanopartículas y/o agregados de nanopartículas biocompatibles (5% p/p) consistente en óxido de hafnio. Las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas se han mezclado con el gel antes de la deposición del gel en el lecho tumoral.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Nanopartículas o agregados de nanopartículas de óxido de hafnio biocompatible (HfO_2), utilizando hexametáfosfato de sodio como agente de recubrimiento.

15 Se añade una solución de hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH) a la solución de HfCl_4 . La adición de la solución de TMAOH se realiza hasta que el pH de la suspensión final alcance un pH comprendido entre 7 y 13. Se obtiene un precipitado blanco.

El precipitado se transfiere adicionalmente en un autoclave y se calienta a una temperatura comprendida entre 120°C y 300°C para realizar la cristalización. Después de enfriar, la suspensión se lava con agua desionizada.

20 Luego se agrega solución de hexametáfosfato de sodio a la suspensión lavada y el pH se ajusta a un pH comprendido entre 6 y 8.

La esterilización de las nanopartículas o la suspensión de agregados de nanopartículas se realiza con anterioridad en experimentos in vitro o in vivo.

Ejemplo 2: Síntesis y caracterización físico-química de nanopartículas de oro con diferentes tamaños.

25 Las nanopartículas de oro se obtienen por reducción de cloruro de oro con citrato de sodio en solución acuosa. El protocolo fue adaptado de G. Frens, Nature Physical Science, 241 (1973) 21.

En un experimento típico, la solución de HAuCl_4 se calienta hasta su ebullición. Posteriormente, se añade solución de citrato de sodio. La solución resultante se mantiene bajo ebullición durante un período adicional de 5 minutos.

El tamaño de la nanopartícula se ajusta desde 15 nm hasta 105 nm modificando cuidadosamente la proporción del precursor de citrato y el oro (cf. Tabla 1).

30 Las suspensiones de las nanopartículas de oro preparadas se concentran luego utilizando un dispositivo de ultrafiltración con una membrana de celulosa de 30 kDa.

Las suspensiones resultantes se filtran finalmente a través de un filtro de membrana de corte de 0,22 μm bajo una campana de flujo laminar y se almacenan a 4°C.

35 El tamaño de partículas se determina utilizando más de 200 partículas mediante el uso de microscopía electrónica de transmisión (TEM) y considerando la dimensión de las nanopartículas más larga de cada partícula.

Tabla 1:

Muestras	Tamaño de partícula (nm)	Síntesis	
		Citrato	HAuCl_4
Oro-15	15 ± 2 (1σ)	20 ml 30 mM	500 ml 0,25 mM
Oro-30	32 ± 10 (1σ)	7,5 mL 40 mM	500 mL 0,25 mM
Oro-60	60 ± 10 (1σ)	2 ml 85 mM	500 ml 0,25 mM
Oro-80	80 ± 10 (1σ)	1,2 mL 43 mM	200 mL 0,30 mM
Oro-105	105 ± 25 (1σ)	1,2 ml 39 mM	200 ml 0,33 mM

Ejemplo 3: Incorporación de nanopartículas de óxido de hafnio biocompatible y/o nanopartículas (3,5% p/p) en el gel (metilcelulosa 5% p/p) previa a la deposición del gel en el lecho tumoral.

- 5 Se añade un volumen de una suspensión acuosa de nanopartículas de HfO_2 biocompatibles del ejemplo 1 a un volumen de gel, típicamente con una concentración de polímero (metilcelulosa) que se encuentra entre el 4,5% p/p y el 5,5% p/p. La relación de los volúmenes entre la suspensión de nanopartículas de HfO_2 y el gel se ajusta para alcanzar una concentración final de nanopartículas de HfO_2 dentro del gel de 3,5% (p/p). La preparación así obtenida se mezcla típicamente con un agitador magnético o una espátula.
- Ejemplo 4: Incorporación de agregados de nanopartículas y/o nanopartículas de óxido de hafnio biocompatibles (3,5% p/p) dentro del gel (metilcelulosa 9% p/p) previa a la deposición del gel sobre el lecho tumoral.
- 10 Se agrega un volumen de una suspensión acuosa de nanopartículas de HfO_2 biocompatibles del ejemplo 1 a un volumen de gel, típicamente con una concentración de polímero (metilcelulosa) que se encuentra entre el 8,5% p/p y el 9,5% p/p. La relación de los volúmenes entre la suspensión de nanopartículas de HfO_2 y el gel se ajusta para alcanzar una concentración final de nanopartículas de HfO_2 dentro del gel de 3,5% (p/p).
- Ejemplo 5: Evaluación mediante tomografía micro-computerizada (μCT) de la calidad de la delimitación del "lecho tumoral" obtenida cuando se usan nanopartículas incrustadas en el hidrogel del ejemplo 3.
- 15 El objetivo de este experimento fue evaluar, mediante μCT (tomografía computerizada), la calidad de la delimitación del "lecho tumoral" mediante nanopartículas (NP).
- 20 El gel de prueba del ejemplo 3 se implantó (se depositó) en la cavidad dejada por la resección del tumor xenoinjertado con HCT 116 (células cancerígenas de carcinoma colorrectal humano) en ratones atómicos. El análisis μCT se realizó 2 días, 8 días y 20 días después de la implantación del gel en la cavidad dejada por la resección del tumor para evaluar el volumen ocupado por las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas en el lecho tumoral a lo largo del tiempo. Para ello, se realizó una segmentación manual (región de interés (ROI)) alrededor de la cavidad quirúrgica. Luego, se realizó un umbral por encima de 120 HU dentro de la cavidad quirúrgica para evaluar la presencia de nanopartículas o agregados de nanopartículas y evaluar tanto la ubicación como el volumen ocupado por esas nanopartículas o agregados de nanopartículas para todos los ratones. La Figura 2 presenta las imágenes μCT que muestran más del 80% de la delimitación de la cavidad apenas 2 días después de la cirugía y la implantación del gel.
- 25 El objetivo de este experimento fue evaluar, mediante TC (tomografía computerizada), la calidad de la delimitación del "lecho tumoral" obtenida cuando se usaban las nanopartículas incrustadas en el hidrogel del ejemplo 4.
- 30 El objetivo de este experimento fue evaluar, mediante TC (tomografía computerizada), la calidad de la delimitación del "lecho tumoral" mediante nanopartículas (NP).
- 35 El gel de prueba del ejemplo 4 se implantó (se depositó) en la cavidad dejada por la resección del tumor xenoinjertado con HCT 116 (células cancerígenas de carcinoma colorrectal humano) en ratones atómicos. El análisis por TC se realizó 2 días, 9 días y 20 días después de la implantación del gel en la cavidad dejada por la resección del tumor para evaluar el volumen ocupado por las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas en el lecho tumoral a lo largo del tiempo. Para ello, se realizó una segmentación manual (región de interés (ROI)) alrededor de la cavidad quirúrgica. Luego, se realizó un umbral por encima de 120 HU dentro de la cavidad quirúrgica para evaluar la presencia de nanopartículas o agregados de nanopartículas y evaluar tanto la ubicación como el volumen ocupado por esas nanopartículas o agregados de nanopartículas para todos los ratones. La Figura 3 presenta las imágenes de TC que muestran más del 80% de la delimitación de la cavidad apenas 9 días después de la cirugía y la implantación del gel.
- 40 Es de destacar que los geles que comprenden nanopartículas o agregados de nanopartículas preparados de acuerdo con los protocolos que aparecen en los ejemplos 3 y 4 tienen valores de viscosidad a 2 s^{-1} que son respectivamente iguales a 190 Pa.s y 720 Pa.s a 37°C . Después de su liberación a partir de los geles, la deposición de las nanopartículas y/o los agregados de las nanopartículas en el lecho tumoral típicamente ocurre a los 2 días y 9 días siguientes, respectivamente (ver Figuras 2 y 3).
- 45 Ejemplo 7: Cálculo del aumento del depósito de dosis de radiación cuando las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas están presentes en el lecho tumoral a partir de la estimación de la concentración media de las nanopartículas o de los agregados de nanopartículas en el lecho tumoral.
- 50 La Tabla 2 presenta las concentraciones calculadas de cualesquiera nanopartículas o agregados de nanopartículas como se menciona en la reivindicación 1 cuando las partículas delimitan el lecho tumoral. Se eligieron como las concentraciones iniciales de las nanopartículas o los agregados de nanopartículas dentro del gel el 1% (p/p) y el 3,5% (p/p). El volumen del lecho tumoral se calculó asumiendo diferentes diámetros del lecho tumoral, estando dichos diámetros entre 1 cm y 9 cm, teniendo en cuenta el diámetro del tumor escindido así como los márgenes macroscópicos. Se suponía que el espesor de la capa formada por la deposición de las nanopartículas sobre el lecho tumoral era, respectivamente, igual a 0,1, 0,5, 1 y 2 mm. Las nanopartículas calculadas o las concentraciones de nanopartículas en esas capas (concentración de nanopartículas en el borde - ver tabla 2) por encima de 100 g/l están subrayadas en negrita.
- 55

La Figura 4 muestra el efecto de la concentración de partículas en el aumento de la dosis de radiación utilizando el cálculo de Monte Carlo.

5 La mejora de la dosis de radiación se realizó utilizando un cálculo de "modelo global" y un haz de fotones de 6 MeV para ambos tumores con localización anatómica profunda (con las nanopartículas que se mencionan en la reivindicación 1 compuestas de óxido de hafnio y denominadas en este documento como "nanopartículas NBTXR3") y tejidos normales (sin nanopartículas). Se usó un Z_{global} para el cálculo.

En el cálculo del modelo global, la mejora de la dosis de radiación (definida como la dosis de deposición en el tumor con las nanopartículas de Z alta dividida por la dosis de deposición en el tumor sin nanopartículas) se debe a la energía de deposición cuando se considera un valor Z promedio (Z_{global}) igual a

$$10 \quad Z_{\text{global}} = (100-x) \times Z_{\text{agua}} + x \times Z_{\text{nanopartículas}},$$

15 donde "x" representa la concentración de nanopartículas dentro del tumor (masa de las nanopartículas dividida por la masa del tumor), Z_{agua} representa el número atómico efectivo del agua y $Z_{\text{nanopartículas}}$ el número atómico efectivo de las nanopartículas (es decir, las nanopartículas de óxido de hafnio). En el cálculo, se consideró que el tumor tenía un número atómico efectivo igual al del agua. Las nanopartículas aumentaron la eficacia promedio de la absorción de rayos X de forma isotrópica.

Los resultados de la figura 4 muestran que se obtiene un aumento del 10% del depósito de dosis de radiación para una concentración de nanopartículas dentro del tumor igual o superior al 10% (% en peso).

20 Basado en los resultados de la figura 4 de "Nanoscale Radiotherapy with Hafnium Oxide Nanoparticles" [Future Oncology 8 (9), 1167-1181 (2012)], y de acuerdo con las tablas 2A y 2B, se obtuvo un depósito de dosis de radiación de al menos el 10% a partir de la delimitación con nanopartículas y/o agregados de nanopartículas del lecho tumoral y la posterior irradiación de dichas nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, cuando se usaba un gel biocompatible de acuerdo con la invención, es decir, un gel biocompatible que comprendía nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, en el que i) la densidad de cada nanopartícula y agregado de nanopartículas es de al menos 7 g/cm³, comprendiendo el agregado de nanopartículas o las nanopartículas un material inorgánico con al menos un elemento metálico que tiene un número atómico Z de al menos 25, preferiblemente de al menos 40, cubriéndose cada una de dichas nanopartículas y dicho agregado de nanopartículas con un recubrimiento biocompatible; ii) la concentración de los agregados de nanopartículas y/o nanopartículas es de al menos aproximadamente el 1% (p/p); y iii) la viscosidad aparente a 2 s⁻¹ del gel que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas está entre aproximadamente 0,1 Pa.s y aproximadamente 1000 Pa.s cuando se mide entre 20°C y 37°C.

30

Tabla 2 A: Concentración de nanopartículas en el borde, suponiendo una concentración inicial de nanopartículas dentro del gel de 10 g/L.

Diámetro tumoral y margen (es decir, escisión tumoral incluyendo típicamente entre 0,5 y 2 cm de margen macroscópico) (m)	Radio del lecho tumoral (m)	Volumen del lecho tumoral (m ³)	Concentración de nanopartículas dentro del gel (g/m ³)	Cantidad de nanopartículas dentro del lecho tumoral (g)	Delimitación de las nanopartículas después de la deposición en el lecho tumoral: Cálculo del volumen del borde (m ³)			
					Borde = 0,1 mm	Borde = 0,5 mm	Borde = 1 mm	Borde = 2 mm
0,010	0,005	5,24E-07	10000	0,0052	3,08E-08	1,42E-07	2,56E-07	4,11E-07
0,020	0,010	4,19E-06	10000	0,0419	1,24E-07	5,98E-07	1,14E-06	2,04E-06
0,030	0,015	1,41E-05	10000	0,1414	2,81E-07	1,37E-06	2,64E-06	4,94E-06
0,040	0,020	3,35E-05	10000	0,3351	5,00E-07	2,45E-06	4,78E-06	9,08E-06
0,050	0,025	6,55E-05	10000	0,6546	7,82E-07	3,85E-06	7,54E-06	1,45E-05
0,060	0,030	1,13E-04	10000	1,1311	1,13E-06	5,56E-06	1,09E-05	2,11E-05
0,070	0,035	1,80E-04	10000	1,7962	1,54E-06	7,59E-06	1,50E-05	2,91E-05
0,080	0,040	2,68E-04	10000	2,6812	2,01E-06	9,93E-06	1,96E-05	3,82E-05
0,090	0,045	3,82E-04	10000	3,8175	2,54E-06	1,26E-05	2,49E-05	4,87E-05

ES 2 727 874 T3

Concentración de nanopartículas en el borde (g/l)			
Borde = 0,1 mm	Borde = 0,5 mm	Borde = 1 mm	Borde = 2 mm
170	37	20	13
337	70	37	20
503	103	53	29
670	137	70	37
837	170	87	45
1003	203	103	53
1170	237	120	62
1337	270	137	70
1503	303	153	78

Tabla 2 B: concentración de nanopartículas en el borde, suponiendo una concentración inicial de nanopartículas dentro del gel de 35 g/L.

Diámetro tumoral y margen (es decir, escisión tumoral incluyendo típicamente entre 0,5 y 2 cm de margen macroscópico) (m)	Radio del lecho tumoral (m)	Volumen del lecho tumoral (m ³)	Concentración de nanopartículas dentro del gel (g/m ³)	Cantidad de nanopartículas dentro del lecho tumoral (g)	Delimitación de las nanopartículas después de la deposición en el lecho tumoral: Cálculo del volumen del borde (m ³)			
					Borde = 0,1 mm	Borde = 0,5 mm	Borde = 1 mm	Borde = 2 mm
0,01	0,005	5,24E-07	35000	0,0183	3,08E-08	1,42E-07	2,56E-07	4,11E-07
0,02	0,010	4,19E-06	35000	0,1466	1,24E-07	5,98E-07	1,14E-06	2,04E-06
0,03	0,015	1,41E-05	35000	0,4949	2,81E-07	1,37E-06	2,64E-06	4,94E-06
0,04	0,020	3,35E-05	35000	1,1730	5,00E-07	2,45E-06	4,78E-06	9,08E-06
0,05	0,025	6,55E-05	35000	2,2910	7,82E-07	3,85E-06	7,54E-06	1,45E-05
0,06	0,030	1,13E-04	35000	3,9589	1,13E-06	5,56E-06	1,09E-05	2,11E-05
0,07	0,035	1,80E-04	35000	6,2866	1,54E-06	7,59E-06	1,50E-05	2,91E-05
0,08	0,040	2,68E-04	35000	9,3841	2,01E-06	9,93E-06	1,96E-05	3,82E-05
0,09	0,045	3,82E-04	35000	13,3614	2,54E-06	1,26E-05	2,49E-05	4,87E-05

Concentración de nanopartículas en el borde (g/l)			
Borde = 0, 1 mm	Borde = 0,5 mm	Borde = 1 mm	Borde = 2 mm
595	129	72	45
1178	245	129	72
1762	362	187	100
2345	479	245	129
2928	595	304	158
3512	712	362	187
4095	828	420	216
4678	945	479	245
5262	1062	537	275

Ejemplo 8: Incorporación de nanopartículas de óxido de hafnio biocompatibles y/o agregados de nanopartículas (5% p/p) dentro de un gel de ácido hialurónico (3% p/p).

5 Se agrega un volumen de una suspensión acuosa de nanopartículas de HfO₂ biocompatibles del ejemplo 1 a un volumen de gel, típicamente con una concentración de polímero (ácido hialurónico) que se encuentra entre el 2,5% p/p y el 4% p/p. La relación de los volúmenes entre la suspensión de nanopartículas de HfO₂ y el gel se ajusta para alcanzar una concentración final de nanopartículas de HfO₂ en el gel del 5% (p/p). La preparación así obtenida se mezcla típicamente con un agitador magnético o una espátula.

10 Ejemplo 9: Medición de la viscosidad de un gel compuesto de ácido hialurónico (3% p/p) y un gel del ejemplo 8 compuesto de ácido hialurónico (3% p/p) que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas (5% p/p) que consiste en óxido de hafnio.

15 La medición de la viscosidad se realiza normalmente a 20°C y 37°C utilizando un reómetro de Couette y siguiendo las recomendaciones estándar DIN ISO 3219 (MODELO RM200, reología LAMY) en un intervalo dado de velocidad de corte que se encuentra entre 0,1 s⁻¹ y 20 s⁻¹. La viscosidad aparente se reporta en 2s⁻¹. La ausencia de una interacción fuerte entre la partícula y el polímero que forma el gel biocompatible se puede verificar típicamente midiendo la viscosidad del gel que comprende las nanopartículas y/o los agregados de nanopartículas a 20°C y 37°C, como se describe anteriormente, y comparando la curva de viscosidad obtenida con la de un gel que no comprende nanopartículas ni agregados de nanopartículas. La viscosidad aparente en 2s⁻¹ para ambos geles es superior a 150 Pa.s a 20°C y superior a 100 Pa.s a 37°C. Las curvas de viscosidad similares observadas (es decir, valores que difieren entre sí en no más del 20%, generalmente no más del 15%) confirman la ausencia de una interacción fuerte entre las nanopartículas y/o los agregados de las nanopartículas y el gel (véanse las figuras 5A y 5B).

20 Ejemplo 10: Incorporación de nanopartículas de óxido de hafnio y/o agregados de nanopartículas biocompatibles (0,26% p/p) dentro del gel de ácido hialurónico (0,1% p/p).

25 Se agrega un volumen de una suspensión acuosa de nanopartículas de HfO₂ biocompatibles del ejemplo 1 a un volumen de gel típicamente con una concentración de polímero (ácido hialurónico) que se encuentra entre el 0,05% p/p y el 0,25% p/p. La proporción de los volúmenes entre la suspensión de nanopartículas de HfO₂ y el gel se ajusta para alcanzar una concentración final de nanopartículas de HfO₂ dentro del gel de 0,26% (p/p). La preparación así obtenida se mezcla típicamente con un agitador magnético o una espátula.

30 Ejemplo 11: Espectroscopía FTIR (espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier) del gel del Ejemplo 10 y comparación con un gel compuesto de ácido hialurónico y también con nanopartículas y/o agregados de nanopartículas.

35 Las bandas observadas en el gel que contienen nanopartículas de óxido de hafnio y/o agregados de nanopartículas biocompatibles corresponden a las bandas características del gel compuesto de ácido hialurónico y a las bandas de nanopartículas y/o agregados de nanopartículas que consisten en óxido de hafnio. No faltan bandas características de uno u otro de los componentes y no aparecen nuevas bandas. Los espectros FTIR no muestran ninguna banda que revele ninguna interacción entre las nanopartículas y/o los agregados de las nanopartículas y el gel (cf. Figura 6 y las tablas 3 y 4 a continuación).

Tabla 3: Asignación de bandas FTIR para el ácido hialurónico (de Pasqui D. et al., Polysaccharide - based hydrogels: the key role of water in affecting mechanical properties. Polymers, Vol. 4, p. 1517-1534, 2012).

Ácido hialurónico	
número de onda (cm ⁻¹)	asignación
3310	moléculas de agua - OH
2930	tensión -C-C-C-H
2875	tensión -C-C-C-H
1640	tensión amida-C=O
1610	tensión asimétrica de carboxilato
1560	flexión amida N-H
1410	tensión asimétrica de carboxilato
1375	tensión C-CH y O-CH
1281	tensión -C-O
1146	tensión -C-C C-O
1046	tensión C-O-C

5 Tabla 4: Asignación de bandas de FTIR para el óxido de hafnio (de Ramadoss A. et al. Synthesis and characterization of HfO₂ nanoparticles by sonochemical approach. Journal of Alloys and Compounds, Vol. 544, p. 115-119, 2012).

HfO ₂	
número de onda (cm ⁻¹)	asignación
3417	tensión O-H
1628	flexión H-O-H
1011	recubrimiento
755	m-HfO ₂
675	m-HfO ₂
523	m-HfO ₂
419	m-HfO ₂

Ejemplo 12: Incorporación de nanopartículas y/o nanopartículas agregados de óxido de hafnio biocompatibles (5% p/p) dentro del gel (ácido hialurónico 3,8% p/p) previa a la deposición del gel sobre el lecho tumoral.

10 Se agrega un volumen de suspensión acuosa de las nanopartículas de HfO₂ biocompatibles del ejemplo 1 a un volumen de gel, típicamente con una concentración de polímero (ácido hialurónico) entre 3,3% p/p y 4,3% p/p. La relación de los volúmenes entre la suspensión de nanopartículas de HfO₂ y el gel se ajusta para alcanzar una concentración final de nanopartículas de HfO₂ dentro del gel del 5% (p/p).

15 Ejemplo 13: Incorporación de agregados de nanopartículas y/o nanopartículas de óxido de hafnio biocompatibles (5% p/p) dentro del gel (ácido hialurónico 2,5% p/p) previa a la deposición del gel sobre el lecho tumoral.

Se agrega un volumen de una suspensión acuosa de nanopartículas de HfO₂ biocompatibles del ejemplo 1 a un volumen de gel, típicamente con una concentración de polímero (ácido hialurónico) que se encuentra entre el 2% p/p y el 3% p/p. La relación de los volúmenes entre la suspensión de nanopartículas de HfO₂ y el gel se ajusta para alcanzar una concentración final de nanopartículas de HfO₂ dentro del gel del 5% (p/p).

Ejemplo 14: Incorporación de nanopartículas y/o agregados de nanopartículas de óxido de hafnio biocompatibles (5% p/p) dentro del gel (ácido hialurónico auto-reticulado 3% p/p) previa a la deposición del gel sobre el lecho tumoral.

5 Se agrega un volumen de suspensión acuosa de nanopartículas de HfO₂ biocompatibles del ejemplo 1 a un volumen de gel, generalmente con una concentración de polímero (ácido hialurónico reticulado automáticamente) que se encuentra entre el 2,5% p/p y el 3,5% p/p. La relación de los volúmenes entre la suspensión de nanopartículas de HfO₂ y el gel se ajusta para alcanzar una concentración final de nanopartículas de HfO₂ dentro del gel del 5% (p/p).

Ejemplo 15: Evaluación mediante tomografía computerizada (TC) de la calidad de la delimitación del "lecho tumoral" obtenida cuando se usan nanopartículas incrustadas respectivamente en los hidrogeles de los ejemplos 12, 13 y 14.

10 El objetivo de este experimento fue evaluar, mediante TC (tomografía computerizada), la calidad de la delimitación del "lecho tumoral" mediante nanopartículas (NP). Los geles de prueba de los ejemplos 12 (Figura 7, panel superior), Ejemplo 13 (Figura 7, panel central) y Ejemplo 14 (Figura 7, panel inferior) se implantaron (depositaron) en la cavidad dejada por la resección del ortotópico EMT-6. Tumor injertado (células cancerosas de carcinoma de mama murino) en ratones BALB/cJRj. El análisis por TAC se realizó 30 minutos, 1 día, 2 días, 8 días y 22 días después de la implantación del gel en la cavidad dejada por la resección del tumor para evaluar el volumen ocupado por las nanopartículas y/o agregados de nanopartículas en el tumor. *cama* con el tiempo. Para ello, se realizó una segmentación manual (región de interés (ROI)) alrededor de la cavidad quirúrgica. Luego, se realizó un umbral por encima de 120 HU dentro de la cavidad quirúrgica para evaluar la presencia de nanopartículas o agregados de nanopartículas y evaluar tanto la ubicación como el volumen ocupado por esas nanopartículas o agregados de nanopartículas para todos los ratones.

La Figura 7 presenta las imágenes de TC que muestran más del 80% de la delimitación de la cavidad apenas 3 días después de la cirugía y la implantación del gel. Después de su liberación de geles, la deposición de nanopartículas y/o agregados de nanopartículas en el lecho tumoral ocurre típicamente dentro de los 3 días (ver Figura 7).

Referencias

- 25 - Customized Computed Tomography-Based Boost Volumes in Breast-Conserving Therapy: Use of Three-Dimensional Histologic Information for Clinical Target Volume Margins. *IJROB* 75(3) 757-763 (2009)
- Target volume definition for external beam partial breast radiotherapy: clinical, pathological and technical studies informing current approaches. *Radiotherapy and Oncology* 94 255-263 (2010)
- 30 - Excised and Irradiated Volumes in Relation to the Tumor size in Breast-Conserving Therapy. *Breast Cancer Res Treat* 129:857-865 (2011)
- Guidelines for target volume definition in post-operative radiotherapy for prostate cancer, on behalf of the EORTC Radiation Oncology Group. *Radiotherapy & Oncology* 84 121-127 (2007)
- Improving the definition of the tumor bed boost with the use of surgical clips and image registration in breast cancer patients. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* Vol 78(5) ;
- 35 1352-1355 (2010)
- The dynamic tumor bed: volumetric changes in the lumpectomy cavity during breast conserving therapy. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 74(3):695-701 (2009).
- Nanoscale Radiotherapy with Hafnium Oxide Nanoparticles. *Future Oncology* 8(9): 1167-1181 (2012).
- 40 - Polysaccharide -based hydrogels: the key role of water in affecting mechanical properties. *Polymers.* 4: 1517-1534, 2(2012).
- Ramadoss A. et al. Synthesis and characterization of HfO₂ nanoparticles by sonochemical approach. *Journal of Alloys and Compounds.* 544: 115-119 (2012).

45

REIVINDICACIONES

1. Un gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, en donde i) la densidad de cada nanopartícula y el agregado de nanopartículas es de al menos 7 g/cm^3 , la nanopartícula o el agregado de nanopartículas que comprende un material inorgánico que comprende al menos un elemento metálico que tiene un número atómico Z de al menos 40, cada una de dichas nanopartículas y dicho agregado de nanopartículas se cubren con un recubrimiento biocompatible; ii) la concentración de los agregados de nanopartículas y/o nanopartículas es de al menos aproximadamente el 1% (p/p); y iii) la viscosidad aparente en 2s^{-1} del gel que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas, está entre aproximadamente 0,1 Pa.s y aproximadamente 1000 Pa.s cuando se mide entre 20°C y 37°C .
- 5 2. El gel biocompatible según la reivindicación 1, en el que las nanopartículas y/o la concentración de agregados de nanopartículas está entre aproximadamente el 1,5% y el 10% (p/p).
3. El gel biocompatible de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el material inorgánico es un metal, un óxido, un sulfuro o cualquier mezcla de los mismos.
- 15 4. El gel biocompatible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el agregado de nanopartículas o nanopartículas comprende además al menos un agente de reconocimiento.
5. El gel biocompatible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el gel es un hidrogel.
6. El gel biocompatible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que, cuando el gel se aplica sobre un tejido biológico diana, los agregados de nanopartículas y/o nanopartículas del gel biocompatible permiten un aumento de al menos aproximadamente el 10% del depósito de dosis de radiación. en dicho tejido biológico diana cuando se expone a radiaciones ionizantes, cuando se compara con el depósito de dosis en el mismo tejido biológico en ausencia de dicho gel.
- 20 7. El gel biocompatible de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la dosis de radiación ionizante aplicada está entre 2 KeV y 25 MeV.
8. El gel biocompatible de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la radiación ionizante se selecciona de rayos X, rayos gamma y haz de electrones.
- 25 9. El gel biocompatible según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en el que el gel permite la delimitación y visualización de al menos el 40% del tejido biológico diana.
10. El gel biocompatible de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el tejido biológico es un lecho tumoral.
- 30 11. El gel biocompatible de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el lecho tumoral es el tejido que cubre la cavidad obtenida después de la resección del tumor.
12. Un kit que comprende un gel biocompatible que comprende nanopartículas y/o agregados de nanopartículas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el gel biocompatible y las nanopartículas y/o agregados de nanopartículas están en recipientes distintos.

35



FIGURA 1

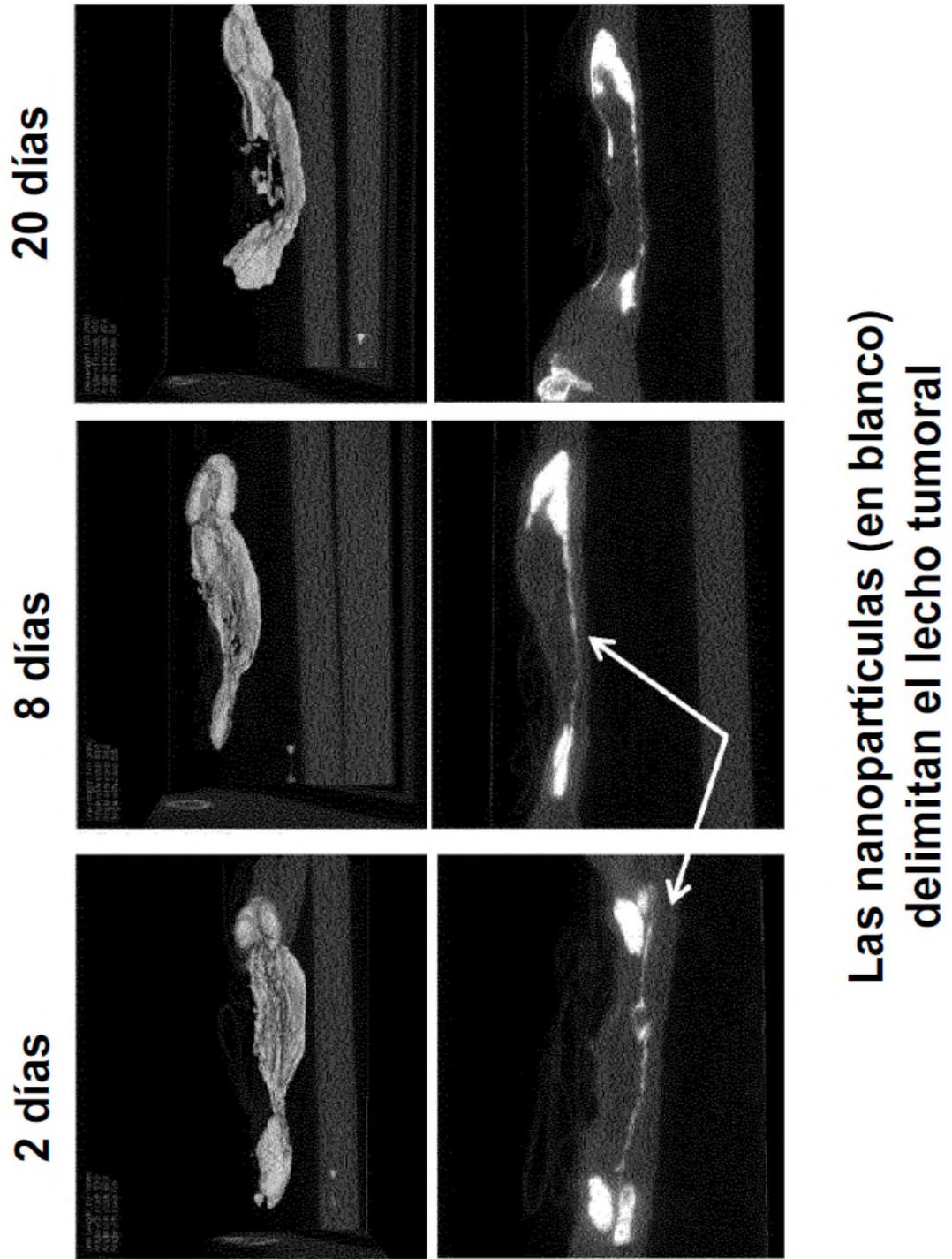
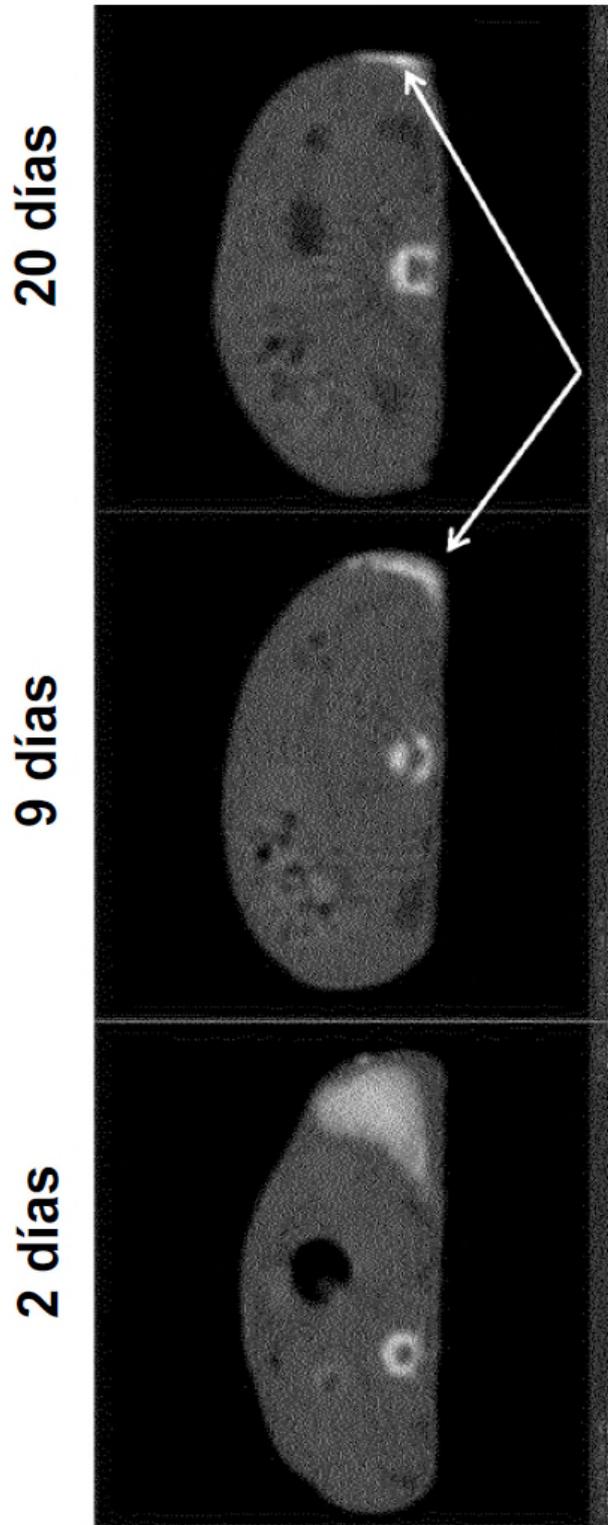


FIGURA 2



**Las nanopartículas (en blanco)
delimitan el lecho tumoral**

FIGURA 3

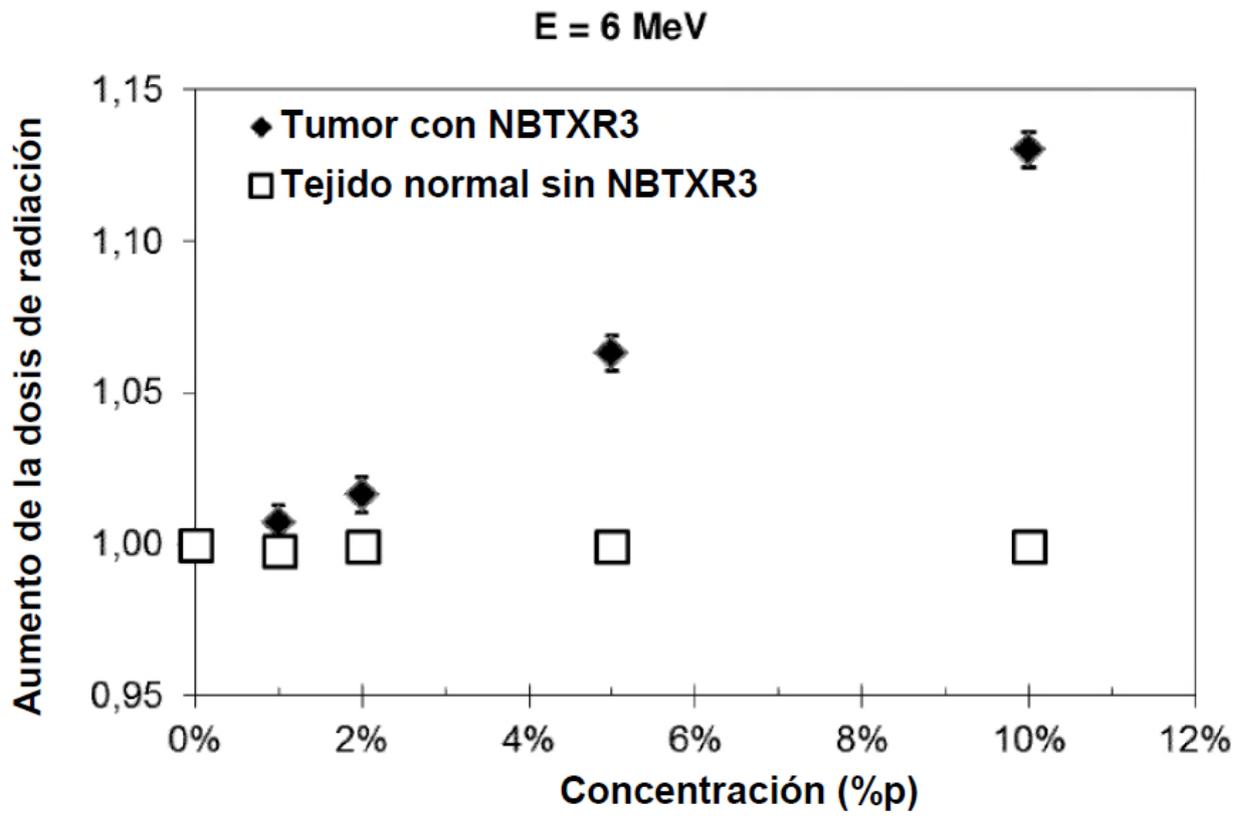
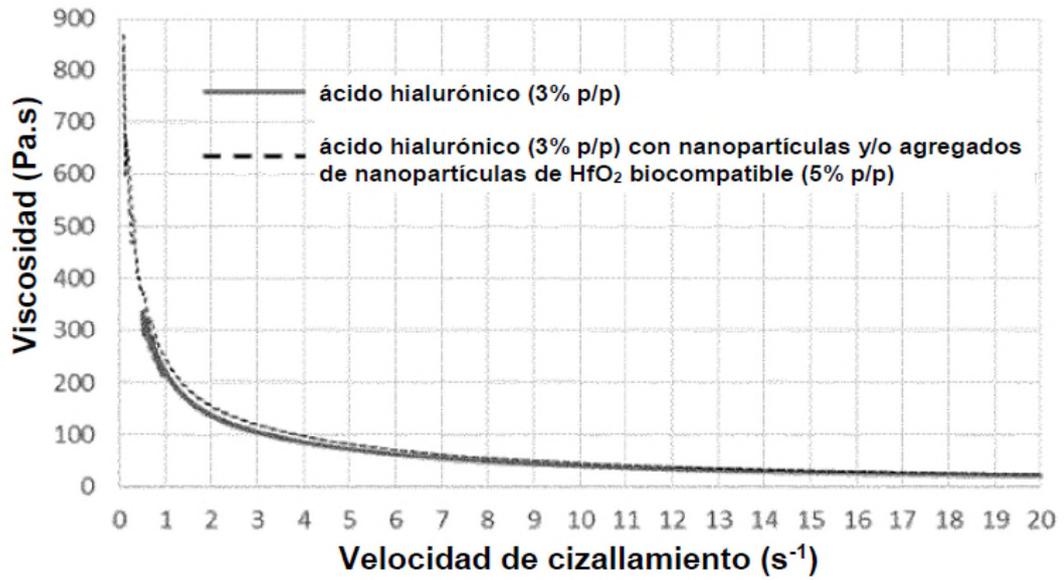


FIGURA 4

A



B

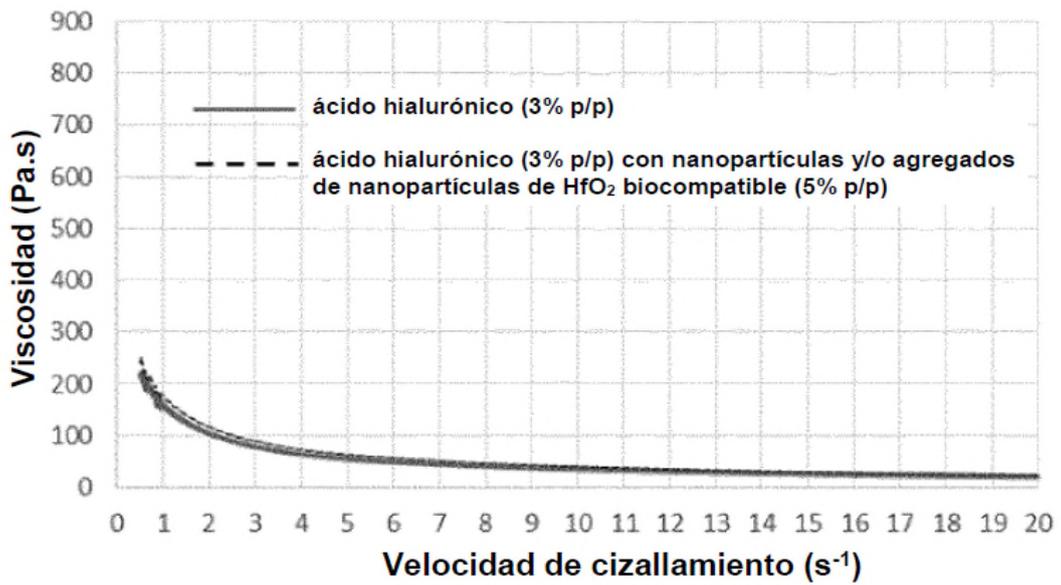


FIGURA 5

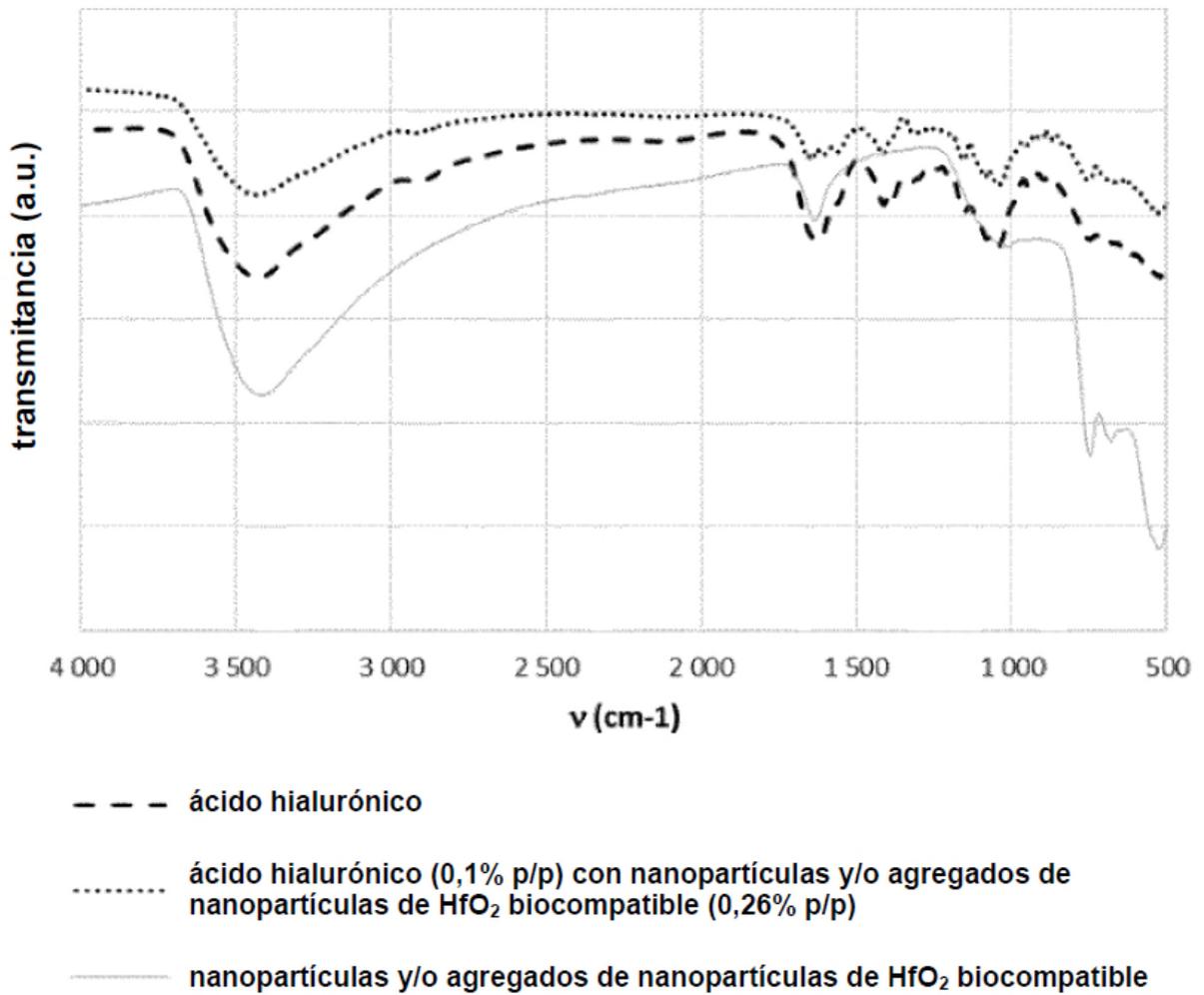


FIGURA 6

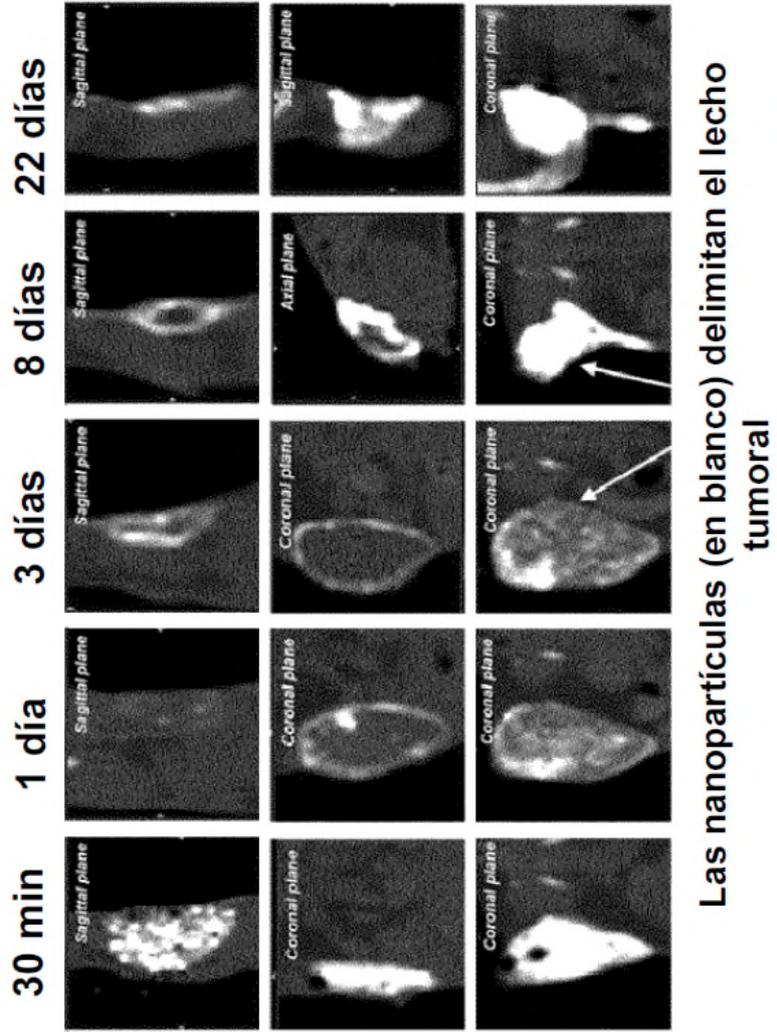


FIGURA 7