

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 731 949**

51 Int. Cl.:

B01J 13/04	(2006.01)
C09K 11/06	(2006.01)
C09K 11/02	(2006.01)
G01N 33/52	(2006.01)
A61K 9/51	(2006.01)
H01F 1/00	(2006.01)
B82Y 30/00	(2011.01)
B82Y 40/00	(2011.01)
B22F 1/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.09.2012 PCT/US2012/057672**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.07.2013 WO13106100**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2012 E 12865220 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2019 EP 2763933**

54 Título: **Métodos para producir nanopartículas**

30 Prioridad:

27.09.2011 US 201161539532 P
30.09.2011 US 201161541462 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.11.2019

73 Titular/es:

**THE OHIO STATE UNIVERSITY RESEARCH
FOUNDATION (100.0%)
1524 North High Street
Columbus, OH 43201, US**

72 Inventor/es:

**WINTER, JESSICA;
RUAN, GANG;
WYSLOUZIL, BARBARA;
MAHAJAN, KALPESH y
DUONG, ANTHONY**

74 Agente/Representante:

RIZZO , Sergio

Observaciones:

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

ES 2 731 949 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

Métodos para producir nanopartículas

Campo de la divulgación

5 **[0001]** Los conceptos de la invención general se relacionan con nanopartículas, métodos para producir nanopartículas, y métodos de uso de las mismas. Más en particular, los conceptos de la invención general se relacionan con partículas de nanomateriales compuestos, nanopartículas de polímeros, métodos para producir partículas de nanomateriales compuestos y nanopartículas de polímeros, y métodos de uso de las mismas.

Base de la divulgación

10 **[0002]** La nanotecnología se está tornando de manera creciente un campo clave de la tecnología, debido a su diversa variedad de aplicaciones potenciales. Tales aplicaciones incluyen medicina, biomedicina, electrónica, biotecnología, biomateriales, biomecánica y producción de energía, sólo por nombrar algunas. Varios métodos utilizados para producir nanomateriales se enfocan en aproximaciones de arriba-a-abajo, en las que se usan grandes estructuras para ensamblar estructuras más pequeñas. Existen también aproximaciones de fondo-hacia-arriba en las que los átomos, iones, o moléculas son ensamblados selectivamente, para crear estructuras útiles.

15 Los métodos actuales de producción de nanopartículas están limitados frecuentemente a la escala de pequeños lotes, lo cual impide aplicaciones a gran escala. El documento WO 2008/137733 se relaciona con estructuras micelares y métodos para hacer estructuras micelares. Yu et al (J. Mater. Chem., 2011, 21, 15957-15961) se relacionan con una estrategia para manipular autoensamblaje molecular para producir *in situ* nanopartículas de lípido sólido. El documento US 2004/0033345 se relaciona con un complejo soluble en agua, que comprende un

20 núcleo interior de una nanopartícula de metal o de semiconductor. La nanopartícula está recubierta con un ligando hidrófobo, el cual está encapsulado en una micela.

Resumen de la divulgación

25 **[0003]** Los conceptos de la invención general contemplan sistemas, aparatos y métodos que se relacionan con la producción de nanopartículas, así como métodos para el uso de nanopartículas. Más específicamente, los conceptos de la invención general contemplan partículas de nanomateriales compuestos, nanopartículas de polímeros, métodos para producir partículas de nanomateriales compuestos y nanopartículas de polímeros, y métodos para usar los mismos.

30 **[0004]** En un ejemplo de realización, se divulga un método para producir partículas de nanomateriales compuestos. El método comprende el suministro de un fluido de fase orgánica a una boquilla. El fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico, un compuesto anfifílico, y una pluralidad de nanoespecies hidrófobas. Se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla, tal que el fluido que sale de la boquilla forma un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. La pluralidad de gotas es recolectada en una solución acuosa de recolección. En la solución acuosa de recolección, se autoensamblan las partículas de nanomateriales compuestos y comprenden una micela anfifílica que encapsula por lo menos una nanopartícula hidrófoba.

35 **[0005]** Se divulga un método para la producción de nanopartículas de polímeros. El método comprende el suministro de un fluido de fase orgánica a una boquilla. En ciertas realizaciones, el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico, un compuesto anfifílico y un polímero hidrófobo. Se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla, tal que el fluido que sale de la boquilla forma un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. La pluralidad de gotas es recolectada en una solución acuosa de recolección. En la solución

40 acuosa de recolección, se autoensamblan las nanopartículas de polímeros y comprenden una micela anfifílica que encapsula el polímero hidrófobo.

[0006] En un ejemplo de realización, se divulga una partícula de nanomaterial compuesto. La partícula de nanomaterial compuesto comprende una micela que comprende un compuesto anfifílico. Por lo menos un primer punto cuántico es encapsulado en la micela, y el primer punto cuántico tiene una longitud de onda de primera emisión. Por lo menos un segundo punto cuántico es encapsulado en la micela, y el segundo punto cuántico tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de primera emisión. La partícula de nanomaterial compuesto tiene un diámetro dentro de un intervalo de 5 nm a 1000 nm. En un ejemplo de realización, la longitud de onda de primera emisión está dentro de un intervalo de 490 nm a 560 nm y la longitud de onda de segunda emisión está dentro de un intervalo de 590 nm a 700 nm.

50 **[0007]** A partir de la siguiente descripción detallada, serán evidentes para aquellos expertos en la técnica, otros aspectos, ventajas y rasgos de los conceptos de la invención general, cuando sea leída a la luz de los dibujos acompañantes.

Breve descripción de los dibujos

[0008] Para un entendimiento más completo de la naturaleza y ventajas de los conceptos de la invención general, debería hacerse referencia a la siguiente descripción detallada, tomada en conexión con los dibujos acompañantes, en los cuales:

5 FIG. 1 ilustra esquemáticamente un ejemplo de realización de un método para producir partículas de nanomateriales compuestos o un método para producir nanopartículas de polímeros;

FIG. 2 ilustra el efecto de un campo eléctrico sobre el menisco de un fluido que sale de una boquilla; (a) ilustra el menisco del fluido que sale de la boquilla sin la influencia de un campo eléctrico; (b) ilustra el efecto de un pequeño campo eléctrico sobre el fluido que sale de la boquilla, como se ve por la deformación del menisco; (c) ilustra el efecto de un campo eléctrico mayor, sobre el fluido que sale de la boquilla, como se ve por la deformación del menisco hasta dar un chorro de cono;

10

FIG. 3 muestra un esquema de longitud de onda de emisión de fluorescencia alterna y fluorescencia casi continua en un ejemplo de partícula de nanomaterial compuesto (CNP);

FIG. 4 muestra un esquema de un ejemplo de partícula de nanomaterial compuesto (CNP) que comprende puntos cuánticos formados a través de encapsulación de micela;

15

FIG. 5 ilustra ejemplos de dinámica de partícula de nanomaterial compuesto (CNP) de (a) fluorescencia, (b) relación rojo a verde, y (c) intensidades. (d) ilustra la intensidad de fluorescencia de un punto cuántico rojo individual y un punto cuántico verde individual;

FIG. 6 ilustra (a) que el parpadeo de punto cuántico no es distinguible de agregados de punto cuántico que derivan fuera del plano focal, mientras (b) ilustra que ejemplos de cambios de color de partículas de nanomateriales compuestos (CNP) son distinguibles de agregados de CNP que salen del plano focal;

20

FIG. 7 ilustra el rastreo dinámico de un ejemplo de partícula de nanomaterial compuesto (CNP). (a) Muestra la trayectoria de CNP; y (b) muestra una imagen superpuesta de la CNP a varios periodos de tiempo de un salto (cambio de ubicación grande y rápido);

FIG. 8 ilustra (a) distribución de tamaño de partícula de nanomaterial compuesto como se mide con la Dispersión Dinámica de Luz; y (b) TEM imágenes de partículas de nanomateriales compuestos que comprenden puntos cuánticos y nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético;

25

FIG. 9 ilustra (a) las trayectorias de 3 partículas; y (b) como aumenta linealmente con el tiempo el cuadrado del promedio del desplazamiento de las partículas;

FIG. 10 ilustra imágenes TEM de (a) micelas vacías; (b) micelas cargadas con nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético (SPIONs); y (c) Distribución de Tamaño de Partícula de Movilidad por Barrido (SMPS) de micelas vacías y micelas cargadas con SPIONs. Las distribuciones de tamaño de partícula fueron medidas a partir de imágenes TEM usando el software Image J y se muestran en los recuadros de (a) y (b);

30

FIG. 11 ilustra en (a) - (f) una serie de imágenes que sigue el movimiento de una partícula fluorescente, hacia una aguja magnética, y demuestra que las partículas de nanomateriales compuestos exhiben funcionalidades fluorescentes y magnéticas, (g) y (h) muestra la trayectoria de partícula y cuadrado el promedio de desplazamiento, respectivamente;

35

FIG. 12 ilustra esquemáticamente un ejemplo de realización de la formación de nanopartículas de polímeros;

FIG. 13 muestra una imagen TEM de ejemplo de nanopartículas de polímeros; y

FIG. 14 ilustra la liberación de un ingrediente activo (es decir, dexametasona) de ejemplo de nanopartículas de polímeros formadas vía autoensamblaje.

40

Descripción detallada

[0009] Mientras los conceptos de la invención general son susceptibles de realización en muchas formas diferentes, son mostrados en los dibujos, y serán descritos aquí en detalle, realizaciones específicas de los mismos con el entendimiento de que la presente divulgación debe ser considerada un ejemplo de los principios de los conceptos de la invención general.

45

[0010] A menos que se defina de otra forma, los términos usados aquí tienen el mismo significado que el entendido

comúnmente por alguien de destreza ordinaria en la técnica que acompaña los conceptos de la invención general. La terminología usada aquí está para solamente describir ejemplos de realizaciones de los conceptos de la invención general, y no se pretende que limiten los conceptos de la invención general. Como se usa en la descripción de los conceptos de la invención general y las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un," "uno," y "el" están orientadas a incluir así mismo las formas plurales, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo.

[0011] Con referencia ahora a FIG. 1, se muestra una ilustración esquemática de un método para producir partículas de nanomateriales compuestos, de acuerdo con un ejemplo de realización. En general, el método para producir partículas de nanomateriales compuestos emplea un proceso de electroatomización para formar una pluralidad de gotas (por ejemplo, un aerosol fino). Como se ve en la FIG. 1, se suministra un fluido de fase orgánica a una boquilla (10). En ciertas realizaciones, el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico, un compuesto anfifílico, y una pluralidad de nanoespecies hidrófobas. La boquilla (10) es una boquilla coaxial que tiene un tubo (12) interior y un anillo (14) exterior. En otras divulgaciones, la boquilla (10) puede tener múltiples tubos (12) interiores y un anillo (14) exterior.

[0012] Como se mencionó anteriormente, en ciertas realizaciones el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico, un compuesto anfifílico, y una pluralidad de nanoespecies hidrófobas. El fluido de fase orgánica puede ser suministrado a través de alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o una bomba de jeringa. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de aproximadamente 0.01 ml/hr a aproximadamente 10 ml/hr. En un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de aproximadamente 0.48 ml/hr. Puede utilizarse una amplia variedad de solventes orgánicos. En general, el solvente orgánico puede ser polar o no polar, para disolver cualquier componente adicional del fluido de fase orgánica. ejemplos no limitantes de solventes orgánicos que pueden ser utilizados en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí incluyen, pero no están limitados a, cloroformo, tetrahidrofurano, diclorometano, y combinaciones de ellos.

[0013] Adicionalmente, puede utilizarse una amplia variedad de compuestos anfifílicos en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí. Como se usa aquí, el término "compuesto anfifílico," se refiere a un compuesto químico que incluye un segmento hidrofílico y un segmento hidrófobo. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el compuesto anfifílico es un copolímero anfifílico de bloque. En ciertas otras realizaciones de los conceptos de la invención general, el compuesto anfifílico es un compuesto anfifílico de péptido. Los copolímeros anfifílicos de bloque adecuados incluyen, pero no están limitados a, poli(estireno-b-etilen glicol), poli(ϵ -caprolactona-b-etilen glicol), poli(etilen glicol-b-diestearoil fosfatidiletanolamina), y combinaciones de ellos. Los compuestos anfifílicos de péptido adecuados incluyen, pero no están limitados a, palmitoil-VVAAEE-NH₂, palmitoil-VVAAEEGIKVAV-COOH, palmitoil-VVAAEEEEGIKVAV-COOH, y combinaciones de ellos. Aquellos expertos en la técnica notarán que pueden utilizarse otros diferentes compuestos anfifílicos y están dentro del alcance de los conceptos de la invención general contemplados aquí.

[0014] El fluido de fase orgánica incluye también una pluralidad de nanoespecies hidrófobas. En ciertos ejemplos de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas puede comprender uno, dos, tres, cuatro o más tipos diferentes de nanoespecies hidrófobas. Las nanoespecies pueden ser hidrófobas por naturaleza o pueden estar modificadas para tener una superficie hidrófoba o haber sido convertidas en hidrófobas de otra forma. En ciertos ejemplos de realización de los conceptos de la invención general, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas incluye, pero no está limitada a, nanopartículas semiconductoras, nanopartículas metálicas, nanopartículas magnéticas, nanopartículas carbonáceas, y combinaciones de ellas. Los ejemplos no limitantes de tales nanopartículas hidrófobas incluyen puntos cuánticos, nanopartículas de oro, nanopartículas de plata, nanopartículas de platino, nanopartículas de óxido de hierro, nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético, nanotubos de carbono, y puntos de carbono. Las diferentes combinaciones de los tipos de nanoespecies hidrófobas utilizadas dependen primariamente de la función deseada o de la aplicación de las partículas resultantes de nanomateriales compuestos (por ejemplo, magnéticas, fluorescentes, magnéticas y fluorescentes, etc.).

[0015] Todavía con referencia a la FIG. 1, cuando el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10), se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla (10), particularmente en la punta de la boquilla (10) donde sale el fluido. En ciertas realizaciones, se aplica un potencial eléctrico a la boquilla (10) y se aplica un potencial eléctrico a un electrodo (20) conectado a tierra, para generar el campo eléctrico próximo a la boquilla (10). El campo eléctrico causa que el fluido que sale de la boquilla (10) forme un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. En efecto, el campo eléctrico ejerce una fuerza sobre el fluido que sale de la boquilla (10) y deforma el menisco del fluido. Por ejemplo, como se ve en la FIG. 2A, el fluido está saliendo de la boquilla (10) sin un campo eléctrico. En la FIG. 2B, el menisco del fluido comienza a deformarse después de generarse un campo eléctrico, próximo a la boquilla. Como se ve en la FIG. 2C, cuando el campo eléctrico es suficientemente alto, ejercerá una

fuerza que es mayor a un límite basado en la tensión superficial del fluido, tal que el menisco adopta una forma de cono con un delgado chorro del fluido. El chorro delgado se rompe entonces en una pluralidad de gotas de fluido.

[0016] En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general descritos aquí, el campo eléctrico es generado por un suministro de potencia usado para crear un potencial eléctrico entre la boquilla (10) coaxial y el electrodo (20) conectado a tierra, el cual puede ser un anillo formado por cobre u otros metales conductores. En un ejemplo de realización, el electrodo (20) conectado a tierra es ubicado 0.5 cm por debajo de la punta de la boquilla (10) coaxial. En ciertos ejemplos de realización, el campo eléctrico que es generado tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de aproximadamente 3 kV/cm a aproximadamente 35 kV/cm. En un ejemplo de realización, el campo eléctrico que se genera tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de aproximadamente 6 kV/cm a aproximadamente 7 kV/cm.

[0017] En ciertas realizaciones, a medida que la pluralidad de gotas se forma desde la dispersión del chorro de cono, la pluralidad de gotas es recolectada en una solución acuosa de recolección. En un ejemplo de realización, la solución acuosa de recolección comprende agua destilada o agua doblemente destilada. En ciertas otras realizaciones de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, la solución acuosa de recolección comprende amortiguador de acetato de amonio. Sin embargo, pueden utilizarse otros tipos de soluciones acuosas, y están contemplados por los conceptos de la invención general divulgados aquí. En ciertas realizaciones, la pluralidad de gotas se dispersa dentro de un colector (30) que contiene la solución acuosa de recolección. El colector (30) puede ser un contenedor metálico, tal como un plato de aluminio, por ejemplo. En otras realizaciones, la pluralidad de gotas se dispersa directamente dentro de la solución acuosa de recolección, sin exponerse al aire, tal como por inmersión de la boquilla en la solución acuosa de recolección.

[0018] Una vez la pluralidad de gotas entra en la solución acuosa de recolección, las partículas de nanomateriales compuestos se autoensamblan en la solución acuosa de recolección. Las partículas de nanomateriales compuestos comprenden una micela anfifílica que encapsula por lo menos una nanopartícula hidrófoba. En un ejemplo de realización, las partículas de nanomateriales compuestos tienen un promedio de diámetro en un intervalo de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 1000 nm. En otro ejemplo de realización, las partículas de nanomateriales compuestos tienen un promedio de diámetro en un intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 800 nm, incluyendo aproximadamente 20 nm a aproximadamente 700 nm, incluyendo aproximadamente 25 nm a aproximadamente 500 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 100 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 70 nm, y también incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 50 nm. Tales partículas de nanomateriales compuestos son útiles para diferentes aplicaciones incluyendo, pero sin limitarse a, aplicaciones de formación de imagen, terapéuticas y de diagnóstico, que serán discutidas en mayor detalle abajo.

[0019] Como se mencionó brevemente anteriormente, en ciertas realizaciones, las partículas de nanomateriales compuestos comprenden micelas anfifílicas que pueden encapsular múltiples y diversos tipos de nanoespecies hidrófobas. Las micelas anfifílicas se forman por autoensamblaje del compuesto anfifílico vía inestabilidad interfacial cuando se dispersan dentro de la solución acuosa de recolección. Como se usa aquí, el término "micela anfifílica" se refiere a cualquier estructura autoensamblada que comprende un compuesto anfifílico. Por ejemplo, cuando la pluralidad de gotas entra a la solución acuosa, los compuestos anfifílicos se orientan espontáneamente para formar micelas que tienen una concha hidrofílica y un núcleo hidrófobo. Durante la formación de la micela, las nanoespecies hidrófobas presentes son atraídas por el segmento hidrófobo del compuesto anfifílico, tal que a medida que las micelas se autoensamblan, las nanoespecies hidrófobas son retiradas y encapsuladas dentro del núcleo hidrófobo de la micela. Se notará que las micelas encapsularán solamente aquellas nanoespecies hidrófobas que son más pequeñas que el núcleo hidrófobo de la micela.

[0020] El tamaño y forma de la partícula resultante de nanomaterial compuesto pueden ser controlados por el compuesto anfifílico utilizado. Por ejemplo, poli(estireno-b-etilen glicol) con peso molecular de 3800 a 6500 Dalton y 9500 a 18000 Dalton conduce a partículas de nanomateriales compuestos con diámetros de 25 nm y 40 nm, respectivamente. Otros compuestos anfifílicos, tales como DSPE (diestearoil fosfatidiletanolamina)-co-polietilen glicol (PEG) 2,000 forman micelas que tienen un diámetro de 15 nm con un diámetro de núcleo de 6.5 nm. Así, cuando se diseñan partículas de nanomateriales compuestos para aplicaciones específicas que requieren un tamaño particular de partículas, el tamaño de la partícula de nanomaterial compuesto puede ser controlado seleccionando un compuesto anfifílico apropiado. Además, los copolímeros anfifílicos de bloque son particularmente ventajosos porque estos materiales tienen generalmente un segmento hidrófobo relativamente largo. El segmento hidrófobo más largo permite la formación de micelas anfifílicas que tienen un núcleo hidrófobo más grande, de modo que dentro de la micela pueden encapsularse múltiples y diversos tipos de nanoespecies hidrófobas, mientras al mismo tiempo permanecen suficientemente pequeñas (< 100 nm) para ser particularmente útiles en diferentes aplicaciones diversas.

[0021] Como se mencionó anteriormente, de acuerdo con los conceptos de la invención general, se utiliza una

boquilla (10) coaxial que tiene un tubo (12) interno y un anillo (14) externo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la boquilla (10) coaxial comprende una aguja interna y una aguja externa. El diámetro interno de la aguja interna puede variar de aproximadamente 80 micrones a aproximadamente 800 micrones, y el correspondiente diámetro interno de la aguja externa puede variar de aproximadamente 200 micrones a aproximadamente 2000 micrones. El método para producir partículas de nanomateriales compuestos comprende además el suministro de un fluido de fase acuosa a la boquilla (10). El fluido de fase acuosa comprende un tensioactivo de polivinil alcohol. En el fluido de fase acuosa puede utilizarse una amplia variedad de tensioactivos. Se divulgan también los siguientes tensioactivos: octilfenol etoxilato, 4-(5-dodecil) bencenosulfonato, estearato de sodio, poloxámeros, polisorbatos, y combinaciones de ellos. El fluido de fase acuosa puede ser suministrado mediante alimentación por gravedad o por medios mecánicos, tales como una bomba o una bomba de jeringa. En ciertas realizaciones, el fluido de fase acuosa es suministrado a la boquilla (10) a una tasa de flujo de 0.01 ml/hr a 10 ml/hr. En un ejemplo de realización, el fluido de fase acuosa es suministrado a la boquilla (10) a una tasa de flujo de 2.8 ml/hr.

[0022] En un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica es suministrado al tubo (12) interno de la boquilla (10) coaxial, y el fluido de fase acuosa es suministrado al anillo (14) externo de la boquilla (10) coaxial. En este ejemplo de configuración, el fluido de fase orgánica es encapsulado por el fluido de fase acuosa al salir de la boquilla. El fluido de fase acuosa actúa por ello de algún modo como una barrera que previene la evaporación significativa del fluido de fase orgánica durante el tiempo de tránsito del fluido que sale de la boquilla y entra a la solución acuosa de recolección. En otras realizaciones, el fluido de fase orgánica puede ser suministrado al anillo (14) externo de la boquilla (10) coaxial y el fluido de fase acuosa puede ser suministrado al tubo (12) interno de la boquilla (10) coaxial.

[0023] En un ejemplo de realización, cuando el fluido de fase orgánica suministrado al tubo (12) interno de la boquilla (10) coaxial, y el fluido de fase acuosa suministrado al anillo (14) externo de la boquilla (10) coaxial alcanzan un flujo estabilizado de salida de la boquilla (10) coaxial, se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla (10), particularmente en la punta de la boquilla (10) donde el fluido sale. En ciertas realizaciones, se aplica un potencial eléctrico a la boquilla (10) y se aplica un potencial eléctrico a un electrodo (20) conectado a tierra, para generar el campo eléctrico próximo a la boquilla (10). Como se mencionó anteriormente, el campo eléctrico causa que el menisco del fluido que sale de la boquilla (10) adopte una forma de cono con un chorro delgado del fluido. El chorro delgado se rompe entonces en una pluralidad de gotas, las cuales son recolectadas en la solución acuosa de recolección y se forman las partículas de nanomateriales compuestos vía autoensamblaje, como se describió anteriormente. En ciertas realizaciones, la pluralidad de gotas comprende fluido de fase orgánica encapsulado por fluido de fase acuosa.

[0024] En ciertas divulgaciones, el método para producir partículas de nanomateriales compuestos incluye la mezcla o agitación de la solución acuosa de recolección que contiene la pluralidad de gotas. El paso de mezcla o agitación puede dispersar mejor la pluralidad de gotas dentro de la solución acuosa de recolección, para ayudar a la formación de las partículas de nanomateriales compuestos.

[0025] En un ejemplo de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, las partículas de nanomateriales compuestos comprenden por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión y por lo menos un segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente a la longitud de onda de primera emisión. Como se usa aquí, el término "puntos cuánticos" se refiere a nanocristales de semiconductor que tienen propiedades ópticas únicas, tales como amplio espectro de excitación, estrechos anchos de banda de emisión y fotoestabilidad mejorada. Generalmente, los puntos cuánticos tienen un diámetro de aproximadamente 2 nm a aproximadamente 10 nm. En un ejemplo de realización, el por lo menos un primer punto cuántico tiene una longitud de onda de primera emisión entre 490 nm a 560 nm y el por lo menos un segundo punto cuántico tiene una longitud de onda de segunda emisión entre 590 nm a 700 nm, y las partículas de nanomateriales compuestos tienen un promedio de diámetro en un intervalo de 5 nm a 1000 nm. En ciertas realizaciones, las partículas de nanomateriales compuestos que comprenden por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión y por lo menos un segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión, tienen un promedio de diámetro en un intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 800 nm, incluyendo aproximadamente 20 nm a aproximadamente 700 nm, incluyendo aproximadamente 25 nm a aproximadamente 500 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 100 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 70 nm, y también incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 50 nm.

[0026] Aunque el ejemplo de realización utiliza por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión entre aproximadamente 490 nm a aproximadamente 560 nm (es decir, color verde) y por lo menos un segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión entre aproximadamente 590 nm a aproximadamente 700 nm (es decir, color rojo), pueden usarse diferentes otras combinaciones de puntos cuánticos que tienen diferentes longitudes de onda de emisión (es decir colores), en conexión con los conceptos de

la invención general descritos aquí. Por ejemplo, las longitudes de onda de emisión pueden variar de aproximadamente 380 nm a aproximadamente 800 nm, también incluyendo infrarrojo. En ciertas realizaciones, la longitud de onda de primera emisión puede ser aproximadamente 380 nm a 450 nm, o aproximadamente 450 nm a aproximadamente 495 nm, o aproximadamente 495 nm a aproximadamente 570 nm, o aproximadamente 570 nm a aproximadamente 590 nm, o aproximadamente 590 nm a aproximadamente 620 nm, o aproximadamente 620 nm a aproximadamente 750 nm, y la longitud de onda de segunda emisión puede estar dentro de uno cualquiera de los intervalos mencionados anteriormente, que no es el mismo intervalo de la longitud de onda de primera emisión. Suministrando una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de primera emisión, pueden distinguirse los colores emitidos por los puntos cuánticos encapsulados dentro de las partículas de nanomateriales compuestos, lo cual es particularmente útil en aplicaciones de rastreo de partículas, como se describe en más detalle posteriormente.

[0027] De acuerdo con los conceptos de la invención general, en un ejemplo de realización, se suministra una partícula de nanomaterial compuesto que comprende una micela que incluye un compuesto anfifílico. La partícula de nanomaterial compuesto comprende también por lo menos un primer punto cuántico encapsulado en la micela, y el primer punto cuántico tiene una longitud de onda de primera emisión. Adicionalmente, la partícula de nanomaterial compuesto comprende por lo menos un segundo punto cuántico encapsulado en la micela, y el segundo punto cuántico tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de primera emisión. La partícula de nanomaterial compuesto tiene un diámetro en un intervalo de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 1000 nm. En ciertas realizaciones, las partículas de nanomateriales compuestos tienen un promedio de diámetro en un intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 800 nm, incluyendo aproximadamente 20 nm a aproximadamente 700 nm, incluyendo aproximadamente 25 nm a aproximadamente 500 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 100 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 70 nm, y también incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 50 nm. Como se mencionó anteriormente, las longitudes de onda de emisión pueden variar de aproximadamente 380 nm a aproximadamente 800 nm, incluyendo también infrarrojo, y la longitud de onda de segunda emisión es diferente de la longitud de onda de primera emisión, de modo que pueden distinguirse los colores emitidos.

[0028] Son particularmente útiles para aplicaciones de rastreo de partículas, las partículas de nanomateriales compuestos que comprenden por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión y por lo menos un segundo punto cuántico que tienen una longitud de onda de segunda emisión, que es diferente de la longitud de onda de primera emisión, por ejemplo, rastreo de partículas en sistemas heterogéneos tales como células vivas y flujo de microfluidos. Encapsulando puntos cuánticos con diferentes longitudes de onda de emisión, dentro de una partícula de nanomaterial compuesto, se resuelven dos problemas aparentemente irreconciliables, asociados con puntos cuánticos usados para rastreo de partículas. El primer problema asociado con puntos cuánticos es que los puntos cuánticos son sometidos a parpadeo, una pérdida intermitente de fluorescencia (característica de grupos individuales y pequeños de puntos cuánticos), que interrumpe el rastreo de partícula. Por otro lado, el parpadeo es el método primario usado para confirmar *in situ* el estado de agregación de puntos cuánticos, y es difícil distinguir grupos individuales o pequeños de puntos cuánticos con emisión continua de fluorescencia, de agregados grandes. En la resolución de estos dos problemas, las partículas de nanomateriales compuestos que comprenden por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión y por lo menos un segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de primera emisión, exhiben fluorescencia casi continua, con alternación de color, lo cual permite discriminación del estado de agregación mediante cambios de color observables, incluso durante el movimiento a través del plano focal.

[0029] Con referencia ahora a la FIG. 3, dado que las dinámicas de parpadeo son estocásticas, un ejemplo individual de partícula de nanomaterial compuesto que comprende por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión (por ejemplo, 490 nm a 560 nm -color verde) y por lo menos un segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de primera emisión (por ejemplo, 590 nm a 700 nm -color rojo), permanece fluorescente casi continuamente, mientras la longitud de onda de emisión se alterna entre las del primer y segundo puntos cuánticos, y sus combinaciones. En contraste, los agregados grandes de las partículas de nanomateriales compuestos desplegarán un color de emisión de fluorescencia casi constante, lo cual permite distinguir partículas individuales de nanomateriales compuestos (o grupos sólo muy pequeños), por su emisión alternante de color. Por ello, tales partículas de nanomateriales compuestos, pueden ser rastreadas e identificadas continuamente como una partícula individual de nanomaterial compuesto o un grupo muy pequeño de partículas de nanomateriales compuestos.

[0030] Adicionalmente, las partículas de nanomateriales compuestos que comprenden por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión y por lo menos un segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de primera emisión, pueden ser usadas para distinguir la partícula de nanomaterial compuesto de la fluorescencia de fondo emitida en un canal

de longitud de onda que se superpone con la longitud de onda de primera emisión o la longitud de onda de segunda emisión. Por ejemplo, si hay demasiada fluorescencia de fondo a 500 nm, entonces todavía sería posible distinguir una partícula de nanomaterial compuesto que comprende puntos cuánticos que tienen una longitud de onda de emisión de 490 nm a 560 nm y puntos cuánticos que tienen una longitud de onda de emisión de 590 nm a 700 nm mediante imagen a, por ejemplo, 650 nm.

[0031] De acuerdo con la divulgación, la partícula de nanomaterial compuesto comprende una micela anfifílica que encapsula una pluralidad de puntos cuánticos que tienen la misma longitud de onda de emisión. En esta realización particular, se incrementa la brillantez de la emisión de fluorescencia, sin aumentar el tamaño de partícula de nanomaterial compuesto.

[0032] En un ejemplo de realización de los conceptos de la invención general, la partícula de nanomaterial compuesto que comprende una micela anfifílica que encapsula por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión y por lo menos un segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de primera emisión, comprende además por lo menos una nanoespecie adicional encapsulada en la micela. Por ejemplo, la por lo menos una nanoespecie adicional incluye, pero no está limitada a, nanoespecies seleccionadas del grupo que consiste en nanopartículas magnéticas, nanopartículas metálicas, nanopartículas carbonáceas, y combinaciones de ellas. La nanoespecie adicional incrementa la funcionalidad de la partícula de nanomaterial compuesto (por ejemplo, una nanopartícula magnética habilita la manipulación de la partícula de nanomaterial compuesto mediante un campo magnético) para ampliar las aplicaciones de las partículas de nanomateriales compuestos.

[0033] También se divulga aquí donde la partícula de nanomaterial compuesto comprende por lo menos un punto cuántico y por lo menos una nanopartícula magnética, y las partículas de nanomateriales compuestos tienen un promedio de diámetro en un intervalo de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 1000 nm. La nanopartícula magnética puede comprender una nanopartícula de óxido de hierro, una nanopartícula de óxido de hierro superparamagnético, u otras diferentes nanopartículas magnéticas de hierro, níquel, cobalto, compuestos de ellos, y combinaciones de ellos. Como se mencionó anteriormente, en ciertas realizaciones, las partículas de nanomateriales compuestos tienen un promedio de diámetro en un intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 800 nm, incluyendo aproximadamente 20 nm a aproximadamente 700 nm, incluyendo aproximadamente 25 nm a aproximadamente 500 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 100 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 70 nm, y también incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 50 nm.

[0034] Las partículas de nanomateriales compuestos que comprenden por lo menos un punto cuántico y por lo menos una nanopartícula magnética tienen un vasto número de aplicaciones basadas en sus propiedades de fluorescencia y magnéticas. La fluorescencia impartida por los puntos cuánticos permite que las partículas de nanomateriales compuestos sean usadas como agentes de formación de imagen en aplicaciones de diagnóstico tradicional (por ejemplo, inmunocitoquímica), mientras la propiedad magnética de las nanopartículas magnéticas permite que las partículas de nanomateriales compuestos sean manipuladas por un campo magnético, lo cual puede conducir al diseño de nanoestructuras con objetivo magnético. Adicionalmente, tales partículas de nanomateriales compuestos pueden ser usadas para aislar y caracterizar los perfiles moleculares de células de cáncer, tales como células circulantes de tumor, y realizar visualización in vivo multimodal de tumor, a través de resonancia magnética formación de imágenes fluorescentes. Además, tales partículas de nanomateriales compuestos pueden ser usadas in vitro para manipular y rastrear células, biomoléculas, y nanoestructuras.

[0035] En un ejemplo de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general, las partículas de nanomateriales compuestos comprenden además un grupo funcional. Más específicamente, el grupo funcional está conjugado con, enlazado con, o unido de otro modo a la partícula de nanomaterial compuesto, o la partícula de nanomaterial compuesto está conjugada con, enlazada con o unida de otro modo al grupo funcional. El grupo funcional puede ser virtualmente cualquier molécula que es útil para aplicaciones biológicas, ambientales o varias otras. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el grupo funcional es seleccionado del grupo que consiste en un péptido, un polipéptido, una proteína, un ligando, un anticuerpo, ADN, ARN, y combinaciones de ellos. Sin embargo, el grupo funcional puede comprender virtualmente cualquier compuesto o molécula diseñados para focalizarse y enlazarse a, por ejemplo, tipos específicos de células, proteínas y así sucesivamente. Así, el término "grupo funcional," como se usa aquí, abarca ampliamente compuestos o moléculas diseñados para focalizarse en una entidad específica. En esencia, una partícula de nanomaterial compuesto puede estar etiquetada con un grupo funcional, o un grupo funcional puede estar etiquetado con una partícula de nanomaterial compuesto. Por ejemplo, en un ejemplo de realización, la partícula de nanomaterial compuesto está conjugada con un anticuerpo que tiene como objetivo una población específica de células. Existen varios métodos de entrecruzamiento o conjugación o unión de otro modo, de proteínas, ligandos, anticuerpos, fragmentos moleculares y similares, a través de modificaciones químicas conocidas en la técnica, que pueden ser utilizadas en

conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí. Por ejemplo, pueden utilizarse la química de la carbodiimida (EDC) o química de agentes de entrecruzamiento de éster de NHS para conjugar, entrecruzar, enlazar o unir de otro modo un grupo funcional, a una partícula de nanomaterial compuesto, y viceversa.

5 **[0036]** En un ejemplo de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general, el método para producir partículas de nanomateriales compuestos comprende el uso de una pluralidad de boquillas. Por ejemplo, la pluralidad de boquillas puede ser suministrada como un arreglo plano de boquillas, que son operadas en paralelo, o en otros arreglos adecuados. En ciertas realizaciones, la pluralidad de boquillas comprende boquillas coaxiales, como se describió anteriormente. Tal ejemplo de realización suministra el método con posibilidad de ser escalado para aumentar la producción de las partículas de nanomateriales compuestos.

10 **[0037]** En un ejemplo de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general divulgados aquí, un método para producir partículas de nanomateriales compuestos comprende el suministro a una boquilla de un fluido de fase orgánica, un fluido de fase acuosa, un compuesto anfifílico, y una pluralidad de nanoespecies hidrófobas. Se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla, tal que el fluido que sale de la boquilla forma un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. La pluralidad de gotas es recolectada, y mediante autoensamblaje se forman las partículas de nanomateriales compuestos que comprenden una estructura autoensamblada que encapsula por lo menos una nanoespecie hidrófoba.

15 **[0038]** En general, el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico. Puede utilizarse una amplia variedad de solventes orgánicos. En general, el solvente orgánico puede ser polar o no polar para disolver cualquier componente adicional del fluido de fase orgánica. Ejemplos no limitantes de solventes orgánicos que pueden ser utilizados en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí incluyen, pero no están limitados a, cloroformo, tetrahidrofurano, diclorometano, y combinaciones de ellos. El fluido de fase orgánica puede ser suministrado mediante alimentación por gravedad o por medios mecánicos, tales como una bomba o bomba de jeringa. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10) a una tasa de flujo de aproximadamente 0.01 ml/hr a aproximadamente 10 ml/hr. En un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10) a una tasa de flujo de aproximadamente 0.48 ml/hr. En ciertas realizaciones, el fluido de fase orgánica comprende además un tensioactivo. En el fluido de fase orgánica puede utilizarse una amplia variedad de tensioactivos. Los ejemplos adecuados de tensioactivos que pueden ser utilizados en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí incluyen, pero no están limitados a, polivinil alcohol, octilfenol etoxilato, 4-(5-dodecil) bencenosulfonato, estearato de sodio, poloxámeros, polisorbatos, y combinaciones de ellos.

20 **[0039]** El fluido de fase acuosa comprende agua. Como el fluido de fase acuosa puede utilizarse una amplia variedad de sistemas acuosos. El fluido de fase acuosa comprende además un tensioactivo de polivinil alcohol. Se divulgan también los siguientes tensioactivo: octilfenol etoxilato, 4-(5-dodecil) bencenosulfonato, estearato de sodio, poloxámeros, polisorbatos, y combinaciones de ellos. El fluido de fase acuosa puede ser suministrado mediante alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o bomba de jeringa. En ciertas realizaciones, el fluido de fase acuosa es suministrado a la boquilla (10) a una tasa de flujo de 0.01 ml/hr to 10 ml/hr. En un ejemplo de realización, el fluido de fase acuosa es suministrado a la boquilla (10) a una tasa de flujo de 2.8 ml/hr.

25 **[0040]** Como se mencionó anteriormente, puede usarse una amplia variedad de compuestos anfifílicos en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el compuesto anfifílico es un copolímero anfifílico de bloque. En ciertas otras realizaciones de los conceptos de la invención general, el compuesto anfifílico es un compuesto anfifílico de péptido. Los copolímeros anfifílicos de bloque adecuados incluyen, pero no están limitados a, poli(estireno-b-etilen glicol), poli(ϵ -caprolactona-b-etilen glicol), poli(etilen glicol-b-diestearoil fosfatidiletanolamina), y combinaciones de ellos. Los compuestos anfifílicos de péptidos adecuados incluyen, pero no están limitados a, palmitoil-VVAAEE-NH₂, palmitoil-VVAAEEGIKVAV-COOH, palmitoil-VVAAEEEEEIKVAV-COOH, y combinaciones de ellos. Aquellos expertos en la técnica notarán que pueden utilizarse otros compuestos anfifílicos diferentes y que están dentro del alcance de los conceptos de la invención general contemplados aquí.

30 **[0041]** En ciertas realizaciones de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, el compuesto anfifílico es suministrado a la boquilla en el fluido de fase orgánica. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el compuesto anfifílico es dispersado, disuelto o añadido de otra forma al fluido de fase orgánica. En ciertas otras realizaciones, el compuesto anfifílico es suministrado directamente a la boquilla. Por ejemplo, el compuesto anfifílico puede ser suministrado directamente a la boquilla mediante alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o una bomba de jeringa. En ciertas otras realizaciones, el compuesto anfifílico es suministrado a la boquilla en el fluido de fase acuosa. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el compuesto anfifílico es dispersado, disuelto o añadido de otra forma al fluido de fase acuosa.

[0042] Como se discutió previamente, puede utilizarse una amplia variedad de nanoespecies hidrófobas de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí. En ciertas realizaciones, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas pueden comprender uno, dos, tres, cuatro o más diferentes tipos de nanoespecies hidrófobas. Las nanoespecies pueden ser hidrófobas por naturaleza o pueden ser modificadas para tener una superficie hidrófoba o ser convertidas de otra forma en hidrófobas. En ciertos ejemplos de realización de los conceptos de la invención general, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas incluye, pero no está limitada a, nanopartículas semiconductoras, nanopartículas metálicas, nanopartículas magnéticas, nanopartículas carbonáceas, y combinaciones de ellas. Ejemplos no limitantes de tales nanopartículas hidrófobas incluyen puntos cuánticos, nanopartículas de oro, nanopartículas de plata, nanopartículas de platino, nanopartículas de óxido de hierro, nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético, nanotubos de carbono y puntos de carbono. Las diferentes combinaciones de los tipos de nanoespecies hidrófobas utilizados depende primariamente de la función deseada o aplicación de las partículas resultantes de nanomateriales compuestos (por ejemplo, magnéticas, fluorescentes, magnéticas y fluorescentes, etc.).

[0043] En ciertas realizaciones, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas es suministrado a la boquilla en el fluido de fase orgánica. Por ejemplo, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas es dispersada, disuelta o añadida de otra forma al fluido de fase orgánica. En ciertas realizaciones, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas es suministrada a la boquilla vía el compuesto anfifílico. Por ejemplo, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas es dispersada, disuelta o añadida de otra forma al compuesto anfifílico. En ciertas otras realizaciones, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas es suministrada a la boquilla en el fluido de fase acuosa. Por ejemplo, la pluralidad de nanoespecies hidrófobas es dispersada, disuelta o añadida de otra forma al fluido de fase acuosa.

[0044] Como se mencionó, se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla (10), particularmente en la punta de la boquilla (10) donde sale el fluido que comprende el fluido de fase orgánica, el fluido de fase acuosa, el compuesto anfifílico, y la pluralidad de nanoespecies hidrófobas. En ciertas realizaciones, se aplica un potencial eléctrico a la boquilla (10) y se aplica un potencial eléctrico a un electrodo (20) conectado a tierra para generar el campo eléctrico en proximidad de la boquilla (10). El campo eléctrico causa que el fluido que sale de la boquilla (10) forme un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. En efecto, el campo eléctrico ejerce una fuerza sobre el fluido que sale de la boquilla (10) y deforma el menisco del fluido. Como se describió anteriormente, cuando el campo eléctrico es suficientemente alto, ejercerá una fuerza que es mayor a un límite basado en la tensión superficial del fluido, tal que el menisco adopta una forma de cono con un chorro delgado del fluido. El chorro delgado se rompe entonces en una pluralidad de gotas del fluido.

[0045] En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general descritos aquí, el campo eléctrico es generado por un suministro de potencia usado para crear un potencial eléctrico entre la boquilla (10) coaxial y el electrodo (20) conectado a tierra, el cual puede ser un anillo formado de cobre u otros metales conductores. En un ejemplo de realización, el electrodo (20) conectado a tierra está ubicado 0.5 cm debajo de la punta de la boquilla (10) coaxial. En ciertos ejemplos de realización, el campo eléctrico que se genera tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de aproximadamente 3 kV/cm a aproximadamente 35 kV/cm. En un ejemplo de realización, el campo eléctrico que se genera tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de aproximadamente 6 kV/cm a aproximadamente 7 kV/cm.

[0046] A medida que la pluralidad de gotas se forma a partir de la dispersión del chorro de cono, se recolecta la pluralidad de gotas. En ciertas realizaciones, la pluralidad de gotas es colectada en una solución acuosa de recolección. En un ejemplo de realización, la solución acuosa de recolección comprende agua destilada o agua doblemente destilada. En ciertas otras realizaciones de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, la solución acuosa de recolección comprende amortiguador de acetato de amonio. Sin embargo, pueden utilizarse otros tipos de soluciones acuosas, y están contemplados por los conceptos de la invención general divulgados aquí. En ciertas realizaciones, se dispersa la pluralidad de gotas dentro de un colector (30) que contiene la solución acuosa de recolección. El colector (30) puede ser un contenedor de metal, tal como un plato de aluminio, por ejemplo. En otras realizaciones, la pluralidad de gotas es dispersada directamente dentro de una solución acuosa de recolección sin ser expuesta al aire, tal como sumergiendo la boquilla en la solución acuosa de recolección.

[0047] En un ejemplo de divulgación, la pluralidad de gotas es recolectada sobre una superficie. En otras palabras, la pluralidad de gotas es dispersada directamente sobre una superficie. Puede utilizarse virtualmente cualquier superficie para recolectar la pluralidad de gotas. Por ejemplo, la pluralidad de gotas puede ser recolectada sobre una placa metálica (por ejemplo, placa de aluminio), una malla de microscopía de transmisión de electrones, o virtualmente cualquier otro tipo de superficie.

[0048] Una vez la pluralidad de gotas entra en la solución acuosa de recolección, las partículas de nanomateriales compuestos se autoensamblan en la solución acuosa de recolección. En un ejemplo de realización, las partículas de nanomateriales compuestos comprenden una estructura autoensamblada que encapsula por lo menos una

nanoespecie hidrófoba. Por ejemplo, la estructura autoensamblada puede comprender una micela, o virtualmente cualquier otra estructura de autoensamblaje. El autoensamblaje es conducido por inestabilidad interfacial. Por ejemplo, en una realización, los compuestos anfífilicos se orientan para formar una estructura autoensamblada que tiene una concha hidrofílica y un núcleo hidrófobo. Durante la formación de la estructura autoensamblada, las nanoespecies hidrófobas presentes son atraídas hacia los segmentos hidrófobos de los compuestos anfífilicos, tal que a medida que las estructuras autoensambladas están formando las nanoespecies hidrófobas, son retiradas hacia y encapsuladas dentro del núcleo hidrófobo de la estructura autoensamblada. Se notará que las estructuras autoensambladas encapsularán solamente aquellas nanoespecies hidrófobas que son más pequeñas que el núcleo hidrófobo de la estructura auto ensamblada.

5
10
15
[0049] En ciertas divulgaciones, cuando la pluralidad de gotas es recolectada sobre una superficie, las partículas de nanomateriales compuestos se autoensamblan sobre la superficie. En un ejemplo de divulgación, las partículas de nanomateriales compuestos comprenden una estructura autoensamblada que encapsula por lo menos una nanoespecie hidrófoba. Como se mencionó anteriormente, la estructura autoensamblada puede comprender una micela, u otros tipos de estructuras autoensambladas. En esta realización particular, la fuerza conductora para el autoensamblaje de las partículas de nanomateriales compuestos es suministrada por una interfaz de fase orgánica-fase acuosa presente en la pluralidad de gotas. Adicionalmente, el autoensamblaje puede ser conducido a medida que el solvente orgánico es retirado, tal como por evaporación o difusión.

20
25
[0050] En un ejemplo de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general contemplados aquí, se suministra un método para producir nanopartículas de polímeros. En un ejemplo de realización, el método para producir nanopartículas de polímeros emplea un proceso de electroatomización para formar una pluralidad de gotas (por ejemplo, un aerosol fino). El método para producir nanopartículas de polímeros es similar al método discutido previamente para producir partículas de nanomateriales compuestos. Como se ve en la FIG. 1, se suministra un fluido de fase orgánica a una boquilla (10). En general, el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico. En un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico, un compuesto anfífilico, y un polímero hidrófobo. La boquilla (10) puede tener cualquier número de configuraciones. Por ejemplo, en un ejemplo de realización, la boquilla (10) es una boquilla coaxial que tiene un tubo (12) interno y un anillo (14) externo. En otras realizaciones, la boquilla (10) puede tener múltiples tubos (12) interiores y un anillo (14) externo.

30
35
[0051] Como se mencionó, en un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico, un compuesto anfífilico, y un polímero hidrófobo. El fluido de fase orgánica puede ser suministrado mediante alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o una bomba de jeringa. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de 0.01 ml/hr a 10 ml/hr. En un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de 0.48 ml/hr. Puede utilizarse una amplia variedad de solventes orgánicos. En general, el solvente orgánico puede ser polar o no polar para disolver cualquier componente adicional del fluido de fase orgánica. Ejemplos no limitantes de solventes orgánicos que pueden ser utilizados en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí incluyen, pero no están limitados a, cloroformo, tetrahidrofurano, diclorometano, y combinaciones de ellos.

40
45
[0052] En ciertas realizaciones del método para producir nanopartículas de polímeros, el compuesto anfífilico es un copolímero anfífilico de bloque. En ciertas otras realizaciones de los conceptos de la invención general, el compuesto anfífilico es un compuesto anfífilico de péptido. Los copolímeros anfífilicos de bloque adecuados incluyen, pero no están limitados a, poli(estireno-b-etilen glicol), poli(ϵ -caprolactona-b-etilen glicol), poli(etilen glicol-b-diestearoil fosfatidiletanolamina), y combinaciones de ellos. Los compuestos anfífilicos de péptido adecuados incluyen, pero no están limitados a, palmitoil-VVAAEE-NH₂, palmitoil-VVAAEEGIKVAV-COOH, palmitoil-VVAAEEEEGIKVAV-COOH, y combinaciones de ellos. Aquellos expertos en la técnica notarán que pueden utilizarse diferentes otros compuestos anfífilicos y que están dentro del alcance de los conceptos de la invención general contemplados aquí.

50
[0053] En un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica comprende un polímero hidrófobo. En ciertas realizaciones, el polímero hidrófobo es biocompatible y biodegradable. Por ejemplo, en un ejemplo de realización, el polímero hidrófobo es poli(ácido láctico-co-glicólico). Sin embargo, de acuerdo con los conceptos de la invención general se contemplan otros polímeros hidrófobos incluyendo, pero sin limitarse a, poli(ácido láctico-co-glicólico), poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), poli(caprolactona), poli(etilen glicol), y combinaciones de ellos.

55
[0054] Todavía con referencia a la FIG. 1, cuando el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10), se genera un campo eléctrico próximo a la boquilla (10), particularmente en la punta de la boquilla (10) donde el fluido sale. En ciertas realizaciones, se aplica un potencial eléctrico a la boquilla (10) y se aplica un potencial eléctrico a un electrodo (20) conectado a tierra para generar el campo eléctrico en proximidad de la boquilla (10). El campo eléctrico causa que el fluido que sale la boquilla (10) forme un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. En efecto, el campo eléctrico ejerce una fuerza sobre el fluido que sale de la boquilla (10) y deforma el

menisco del fluido. Como se describió anteriormente con respecto a la FIG. 2C, cuando el campo eléctrico es suficientemente alto, ejercerá una fuerza que es mayor a un límite basado en la tensión superficial del fluido, tal que el menisco adopta una forma de cono con un chorro delgado del fluido. El chorro delgado se rompe entonces en una pluralidad de gotas del fluido.

5 [0055] En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general descritos aquí, el campo eléctrico es generado por un suministro de potencia. El suministro de potencia crea un potencial eléctrico entre la boquilla (10) coaxial y el electrodo (20) conectado a tierra, el cual puede ser un anillo formado de cobre u otros metales conductores. En un ejemplo de realización, el electrodo (20) conectado a tierra está ubicado 0.5 cm debajo de la punta de la boquilla (10) coaxial. En ciertos ejemplos de realización, el campo eléctrico que se genera tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de aproximadamente 3 kV/cm a aproximadamente 35 kV/cm. En un ejemplo de realización, el campo eléctrico que se genera tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de aproximadamente 6 kV/cm a aproximadamente 7 kV/cm.

10 [0056] A medida que se forma la pluralidad de gotas a partir de la dispersión del chorro de cono, se recolecta la pluralidad de gotas en una solución acuosa de recolección. En un ejemplo de realización, la solución acuosa de recolección comprende agua destilada o agua doblemente destilada. En ciertas otras realizaciones de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, la solución acuosa de recolección comprende amortiguador de acetato de amonio. Sin embargo, pueden usarse otros tipos de soluciones acuosas y están contemplados por los conceptos de la invención general divulgados aquí. En ciertas realizaciones, la pluralidad de gotas es dispersada dentro de un colector (30) que contiene la solución acuosa de recolección. El colector (30) puede ser un contenedor de metal, tal como un plato de aluminio, por ejemplo. En otras realizaciones, la pluralidad de gotas es dispersada directamente dentro de la solución acuosa de recolección sin ser expuesta al aire, tal como sumergiendo la boquilla en la solución acuosa de recolección.

15 [0057] Una vez la pluralidad de gotas entra a la solución acuosa de recolección, las nanopartículas de polímeros se autoensamblan en la solución acuosa de recolección. Las nanopartículas poliméricas comprenden una micela anfifílica que encapsula al polímero hidrófobo. En un ejemplo de realización, las nanopartículas de polímeros tienen un diámetro en un intervalo de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 1000 nm. En otro ejemplo de realización, las partículas de nanomateriales compuestos tienen un diámetro en un intervalo de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 800 nm, incluyendo aproximadamente 20 nm a aproximadamente 700 nm, incluyendo aproximadamente 25 nm a aproximadamente 500 nm, incluyendo aproximadamente 30 nm a aproximadamente 100 nm, y también incluyendo aproximadamente 35 nm a aproximadamente 70 nm. Tales nanopartículas de polímeros son particularmente útiles para sistemas de entrega con liberación controlada, que pueden incrementar los efectos terapéuticos y reducir los efectos laterales.

20 [0058] Como se mencionó anteriormente, las nanopartículas de polímeros comprenden micelas anfifílicas que encapsulan al polímero hidrófobo. Las micelas anfifílicas se forman por autoensamblaje del compuesto anfifílico vía inestabilidad interfacial cuando se dispersan dentro de la solución acuosa de recolección. Por ejemplo, cuando la pluralidad de gotas entra a la solución acuosa, los compuestos anfifílicos se orientan espontáneamente para formar micelas que tienen una concha hidrofílica y un núcleo hidrófobo. Durante la formación de la micela, las partículas de polímero hidrófobo presentes son atraídas hacia el segmento hidrófobo del compuesto anfifílico, tal que a medida que las micelas se autoensamblan, las partículas del polímero hidrófobo son retiradas hacia y encapsuladas dentro del núcleo hidrófobo de la micela. En esencia, las micelas anfifílicas forman un "modelo" de tamaño particular, el cual puede ser usado para controlar el tamaño de las nanopartículas de polímeros producidas. Como se discute en detalle posteriormente, el tamaño de la micela anfifílica, y así el tamaño de las nanopartículas de polímeros, pueden ser controlados por el compuesto anfifílico particular utilizado. Además, dado que el proceso de autoensamblaje es espontáneo, y dado que las estructuras autoensambladas son termodinámicamente estables, pueden crearse nanopartículas ultrapequeñas de polímeros (<100 nm) en un proceso robusto y reproducible.

25 [0059] Como se mencionó anteriormente, en ciertas realizaciones de acuerdo con los conceptos de la invención general, en el método para producir nanopartículas de polímeros se utiliza una boquilla (10) coaxial que tiene un tubo (12) interno y un anillo (14) externo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la boquilla (10) coaxial comprende una aguja interna y una aguja externa. El diámetro interno de la aguja interna puede variar de aproximadamente 80 micrones a aproximadamente 800 micrones, y el correspondiente diámetro interno de la aguja externa puede variar de aproximadamente 200 micrones a aproximadamente 2000 micrones. En un ejemplo de realización, el método para producir nanopartículas de polímeros comprende además el suministro de un fluido de fase acuosa a la boquilla (10). El fluido de fase acuosa comprende un tensioactivo de polivinil alcohol. Los tensioactivos divulgados son: octilfenol etoxilato, 4-(5-dodecil) bencenosulfonato, estearato de sodio, poloxámeros, polisorbatos, y combinaciones de ellos. El fluido de fase acuosa puede ser suministrado mediante alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o una bomba de jeringa. En ciertas realizaciones, el fluido de fase acuosa es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de 0.01 ml/hr a 10 ml/hr. En un ejemplo de realización,

el fluido de fase acuosa es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de 2.8 ml/hr.

[0060] En un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica es suministrado al tubo (12) interno de la boquilla (10) coaxial, y el fluido de fase acuosa es suministrado al anillo (14) externo de la boquilla (10) coaxial. En este ejemplo de configuración, el fluido de fase orgánica es encapsulado por el fluido de fase acuosa por la salida de la boquilla. El fluido de fase acuosa actúa por ello de alguna forma como una barrera que previene la evaporación significativa del fluido de fase orgánica, durante el tiempo de tránsito del fluido que sale de la boquilla y entra a la solución acuosa de recolección. En otras realizaciones, el fluido de fase orgánica puede ser suministrado al anillo (14) externo de la boquilla (10) coaxial y el fluido de fase acuosa puede ser suministrado al tubo (12) interno de la boquilla (10) coaxial.

[0061] En un ejemplo de realización, cuando el fluido de fase orgánica suministrado al tubo (12) interno de la boquilla (10) coaxial, y el fluido de fase acuosa suministrado al anillo (14) externo de la boquilla (10) coaxial alcanzan un flujo estabilizado de salida de la boquilla (10) coaxial, se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla (10) coaxial, particularmente cerca a la punta de la boquilla donde sale el fluido. El campo eléctrico generado en proximidad de la boquilla causa que el fluido que sale de la boquilla (10) coaxial forme un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. En ciertas realizaciones, la pluralidad de gotas comprende el fluido de fase orgánica encapsulada por fluido de fase acuosa. Como se mencionó anteriormente, el campo eléctrico causa que el menisco del fluido que sale de la boquilla (10) adopte una forma de cono con un chorro delgado del fluido. El chorro delgado se rompe entonces en una pluralidad de gotas, que son recolectadas en la solución acuosa de recolección y se forman las nanopartículas de polímeros vía autoensamblaje, como se describió anteriormente.

[0062] En ciertas divulgaciones, el método para producir nanopartículas de polímeros incluye la mezcla o agitación de la solución acuosa de recolección que contiene la pluralidad de gotas. El paso de mezcla o agitación puede dispersar mejor la pluralidad de gotas dentro de la solución acuosa de recolección, para ayudar en la formación de las nanopartículas de polímeros.

[0063] Como se notó previamente, las nanopartículas de polímeros de los conceptos de la invención general contemplados son útiles para sistemas de entrega con liberación controlada. De acuerdo con ello, en un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica comprende adicionalmente un ingrediente activo, y las nanopartículas de polímeros comprenden estructuras autoensambladas, tales como micelas anfífilas, que encapsulan al polímero hidrófobo y el ingrediente activo. En otra realización, el ingrediente activo puede ser suministrado en el fluido de fase acuosa. El ingrediente activo puede ser virtualmente cualquier molécula o compuesto, incluyendo pero sin limitarse a, fármacos contra el cáncer, proteínas terapéuticas, antibióticos, agentes para el cuidado de la piel, fertilizantes y así sucesivamente. En un ejemplo de realización, el tamaño de partícula de las nanopartículas de polímeros (por ejemplo, <100 nm) contempladas por los conceptos de la invención general descritos aquí suministra varias ventajas en la entrega de un ingrediente activo incluyendo, pero sin limitarse a, una mejor semivida en la corriente sanguínea, aumento en la estabilidad coloidal, liberación más rápida, penetración más profunda dentro del tejido y así sucesivamente.

[0064] En un ejemplo de realización, las nanopartículas de polímeros comprenden además un grupo funcional. El grupo funcional puede ser virtualmente cualquier molécula que es útil para aplicaciones biológicas, ambientales o varias otras. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el grupo funcional es seleccionado de entre el grupo que consiste en un péptido, un polipéptido, una proteína, un ligando, un anticuerpo, ADN, ARN, y combinaciones de ellos. Sin embargo, el grupo funcional puede comprender virtualmente cualquier compuesto o molécula diseñados para focalizarse en y unirse a, por ejemplo, tipos específicos de células, proteínas y así sucesivamente. Así, el término "grupo funcional," como se usa aquí, abarca ampliamente compuestos o moléculas diseñados para focalizarse en una entidad específica. El grupo funcional puede estar conjugado con, enlazado con, entrelazado con, o unido de otra forma a la nanopartícula polimérica. De modo similar, la nanopartícula polimérica puede estar conjugada con, enlazada con, entrecruzada con o unida de otra forma al grupo funcional. En esencia, una nanopartícula polimérica puede ser etiquetada con un grupo funcional, o un grupo funcional puede ser etiquetado con una nanopartícula polimérica. Por ejemplo, en un ejemplo de realización, la nanopartícula polimérica está conjugada con un anticuerpo que tiene como objetivo una población celular específica. Existen varios métodos de entrecruzamiento o conjugación o unión de otro modo de proteínas, ligandos, anticuerpos, fragmentos moleculares y similares, a través de modificaciones químicas conocidas en la técnica, que pueden ser utilizados en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí. Por ejemplo, puede utilizarse la química de carbodiimida (EDC) o química de agentes de entrecruzamiento de éster de NHS, para conjugar, entrecruzar, enlazar o de otro modo unir un grupo funcional a una nanopartícula polimérica, y viceversa.

[0065] En un ejemplo de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general, el método para producir nanopartículas de polímeros comprende el uso de una pluralidad de boquillas (10). Por ejemplo, la pluralidad de boquillas (10) puede ser suministrada como un arreglo plano de boquillas, que son operadas en paralelo. La

pluralidad de boquillas son boquillas coaxiales, como se describió anteriormente. Tal ejemplo de realización suministra el método con capacidad de escalamiento, para incrementar la producción de las nanopartículas de polímeros.

5 **[0066]** En un ejemplo de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general divulgados aquí, un método para producir nanopartículas de polímeros comprende el suministro de un fluido de fase orgánica, un fluido de fase acuosa, un compuesto anfifílico, y un polímero, a una boquilla. Se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla tal que el fluido que sale de la boquilla forma un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. La pluralidad de gotas es recolectada, y mediante autoensamblaje se forman nanopartículas de polímeros que comprenden una estructura autoensamblada que encapsula al polímero.

10 **[0067]** En general, el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico. Puede utilizarse una amplia variedad de solventes orgánicos. En general, el solvente orgánico puede ser polar o no polar para disolver cualquier componente adicional del fluido de fase orgánica. Ejemplos no limitantes de solventes orgánicos que pueden ser utilizados en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí incluyen, pero no están limitados a, cloroformo, tetrahidrofurano, diclorometano, y combinaciones de ellos. El fluido de fase orgánica puede ser
15 suministrado mediante alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o una bomba de jeringa. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de aproximadamente 0.01 ml/hr a aproximadamente 10 ml/hr. En un ejemplo de realización, el fluido de fase orgánica es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de aproximadamente 0.48 ml/hr. En ciertas realizaciones del método para producir nanopartículas de polímeros, el fluido de fase orgánica
20 comprende adicionalmente un tensioactivo. Puede utilizarse una amplia variedad de tensioactivos en el fluido de fase orgánica. Los ejemplos adecuados de tensioactivo que pueden ser utilizados en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí incluyen, pero no están limitados a, polivinil alcohol, octilfenol etoxilato, 4-(5-dodecil) bencenosulfonato, estearato de sodio, poloxámeros, polisorbatos, y combinaciones de ellos.

25 **[0068]** En general, el fluido de fase acuosa comprende agua. Como el fluido de fase acuosa puede utilizarse una amplia variedad de sistemas acuosos. En el método para producir nanopartículas de polímeros, el fluido de fase acuosa comprende además un tensioactivo de polivinil alcohol. Puede utilizarse una amplia variedad de tensioactivos en el fluido de fase acuosa. Otros tensioactivos divulgados incluyen: octilfenol etoxilato, 4-(5-dodecil) bencenosulfonato, estearato de sodio, poloxámeros, polisorbatos, y combinaciones de ellos. El fluido de fase acuosa puede ser suministrado mediante alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o
30 una bomba de jeringa. En ciertas realizaciones, el fluido de fase acuosa es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de 0.01 ml/hr a 10 ml/hr. En un ejemplo de realización, el fluido de fase acuosa es suministrado a la boquilla (10) a una rata de flujo de 2.8 ml/hr.

35 **[0069]** Como se mencionó anteriormente, puede emplearse una amplia variedad de compuestos anfifílicos en conexión con los conceptos de la invención general descritos aquí. En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general, el compuesto anfifílico es un copolímero anfifílico de bloque. En ciertas otras realizaciones de los conceptos de la invención general, el compuesto anfifílico es un compuesto anfifílico de péptido. Los copolímeros anfifílicos de bloque adecuados incluyen, pero no están limitados a, poli(estireno-b-etilen glicol), poli(ϵ -caprolactona-b-etilen glicol), poli(etilen glicol-b-diesteroil fosfatidiletanolamina), y combinaciones de ellos. Los compuestos anfifílicos de péptidos adecuados incluyen, pero no están limitados a, palmitoil-VVAEE-NH₂, palmitoil-VVAEEGIKVAV-COOH, palmitoil-VVAEEEEGIKVAV-COOH, y combinaciones de ellos. Aquellos con destreza en
40 la técnica notarán que pueden utilizarse otros compuestos anfifílicos diferentes y que están dentro del alcance de los conceptos de la invención general contemplados aquí.

45 **[0070]** En ciertas realizaciones del método para producir nanopartículas de polímeros, el compuesto anfifílico es suministrado a la boquilla en el fluido de fase orgánica. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el compuesto anfifílico es dispersado, disuelto o añadido de otra forma al fluido de fase orgánica. En ciertas otras realizaciones del método para producir nanopartículas de polímeros, el compuesto anfifílico es suministrado directamente a la boquilla. Por ejemplo, el compuesto anfifílico puede ser suministrado directamente a la boquilla mediante alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o una bomba de jeringa. En ciertas otras realizaciones del método para producir nanopartículas de polímeros, el compuesto anfifílico es suministrado a la boquilla en el fluido
50 de fase acuosa. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el compuesto anfifílico es dispersado, disuelto o añadido de otra forma al fluido de fase acuosa.

55 **[0071]** En el método para producir nanopartículas de polímeros de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, puede utilizarse una amplia variedad de polímeros. En ciertas realizaciones, el polímero es suministrado directamente a la boquilla mediante alimentación por gravedad o medios mecánicos, tales como una bomba o una bomba de jeringa. En ciertas realizaciones, el polímero es un polímero hidrófobo. De acuerdo con los conceptos de la invención general, puede utilizarse una amplia variedad de polímeros hidrófobos. En ciertas realizaciones, el polímero hidrófobo es biocompatible y biodegradable. Por ejemplo, en un ejemplo de realización, el

5 polímero hidrófobo es poli(ácido láctico-co-glicólico). Sin embargo, se contemplan otros polímeros hidrófobos de acuerdo con los conceptos de la invención general incluyendo, pero sin limitarse a, poli(ácido láctico-co-glicólico), poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), poli(caprolactona), poli(etilen glicol), y combinaciones de ellos. En ciertas realizaciones, el polímero hidrófobo es suministrado a la boquilla en el fluido de fase orgánica. Por ejemplo, el polímero hidrófobo es dispersado, disuelto o añadido de otra forma al fluido de fase orgánica.

10 **[0072]** En otras realizaciones, el polímero es un polímero hidrofílico. De acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, puede utilizarse una amplia variedad de polímeros hidrofílicos. Por ejemplo, polímeros hidrofílicos adecuados incluyen, pero no están limitados a, acrilatos, metacrilatos, poli(óxido de etileno), éteres de celulosa. Aquellos expertos en la técnica conocen muchos otros polímeros hidrofílicos y están contemplados aquí. En ciertas realizaciones, el polímero hidrofílico es suministrado a la boquilla en el fluido de fase acuosa. Por ejemplo, el polímero hidrofílico es dispersado, disuelto o añadido de otra forma al fluido de fase acuosa.

15 **[0073]** Como se mencionó, se genera un campo eléctrico en proximidad de la boquilla (10), particularmente en una punta de la boquilla (10) donde sale el fluido que comprende el fluido de fase orgánica, el fluido de fase acuosa, el compuesto anfifílico, y el polímero. En ciertas realizaciones, se aplica un potencial eléctrico a la boquilla (10) y se aplica un potencial eléctrico a un electrodo (20) conectado a tierra para generar el campo eléctrico en proximidad de la boquilla (10). El campo eléctrico causa que el fluido que sale la boquilla (10) forme un chorro de cono que se dispersa en una pluralidad de gotas. En efecto, el campo eléctrico ejerce una fuerza sobre el fluido que sale de la boquilla (10) y deforma el menisco del fluido. Como se describió anteriormente, cuando el campo eléctrico es suficientemente alto, ejercerá una fuerza que es mayor a un límite basado en la tensión superficial del fluido, tal que el menisco adopta una forma de cono con un chorro delgado del fluido. El chorro delgado se rompe entonces en una pluralidad de gotas del fluido.

20

25 **[0074]** En ciertas realizaciones de los conceptos de la invención general descritos aquí, el campo eléctrico es generado por un suministro de potencia usado para crear un potencial eléctrico entre la boquilla (10) coaxial y el electrodo (20) conectado a tierra, el cual puede ser un anillo formado de cobre u otros metales conductores. En un ejemplo de realización, el electrodo (20) conectado a tierra es ubicado 0.5 cm debajo de la punta de la boquilla (10) coaxial. En ciertos ejemplos de realización del método para producir nanopartículas de polímeros, el campo eléctrico que se genera tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de aproximadamente 3 kV/cm a aproximadamente 35 kV/cm. En un ejemplo de realización del método para producir nanopartículas de polímeros, el campo eléctrico que se genera tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de aproximadamente 6 kV/cm a aproximadamente 7 kV/cm.

30

35 **[0075]** A medida que la pluralidad de gotas se forma desde la dispersión del chorro de cono, se colecta la pluralidad de gotas. En el método para producir nanopartículas de polímeros, se colecta la pluralidad de gotas en una solución de colección. La solución de colección comprende una solución acuosa de recolección. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la solución acuosa de recolección comprende agua destilada o agua doblemente destilada. En ciertas otras realizaciones de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí, la solución acuosa de recolección comprende amortiguador de acetato de amonio. Sin embargo, pueden utilizarse otros tipos de soluciones acuosas y están contempladas por los conceptos de la invención general divulgados aquí.

40 **[0076]** En un ejemplo de divulgación, la solución de colección comprende una solución orgánica de colección. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la solución orgánica de colección comprende un alcohol, mientras en otras realizaciones, la solución orgánica de colección comprende tolueno. Aquellos expertos en la técnica notarán que pueden utilizarse otras soluciones orgánicas diferentes, de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí.

45 **[0077]** En ciertas realizaciones del método para producir nanopartículas de polímeros, la pluralidad de gotas es dispersada dentro de un colector (30) que contiene la solución de colección. El colector (30) puede ser un contenedor de metal, tal como un plato de aluminio, por ejemplo. En otras realizaciones del método para producir nanopartículas de polímeros, la pluralidad de gotas es dispersada directamente dentro de una solución de colección sin ser expuesta al aire, tal como sumergiendo la boquilla en la solución de colección.

50 **[0078]** En un ejemplo de divulgación del método para producir nanopartículas de polímeros, la pluralidad de gotas es colectada sobre una superficie. En otras palabras, la pluralidad de gotas es dispersada directamente sobre una superficie. Puede utilizarse virtualmente cualquier superficie para recolectar la pluralidad de gotas. Por ejemplo, la pluralidad de gotas puede ser recolectada sobre una placa metálica (por ejemplo, placa de aluminio), una malla de microscopía de transmisión de electrones, o virtualmente cualquier otro tipo de superficie.

55 **[0079]** En el método para producir nanopartículas de polímeros, una vez la pluralidad de gotas entra a la solución de colección, las nanopartículas de polímeros se autoensamblan en la solución de recolección. E comprenden n un ejemplo de realización de un método para producir nanopartículas de polímeros, las nanopartículas de polímeros

comprenden una estructura autoensamblada que encapsula partículas del polímero. Por ejemplo, la estructura autoensamblada puede comprender una micela, o virtualmente cualquier otra estructura de autoensamblaje. El autoensamblaje es conducido por inestabilidad interfacial. Por ejemplo, en una realización, los compuestos anfífilicos se orientan para formar una estructura autoensamblada que tiene una concha hidrofílica y un núcleo hidrófobo. En esencia, la estructura autoensamblada forma un “modelo” con tamaño particular, que puede ser usado para controlar el tamaño y forma de las nanopartículas de polímeros formadas. Durante la formación de la estructura autoensamblada, las partículas de polímero hidrófobo presentes son atraídas hacia los segmentos hidrófobos de los compuestos anfífilicos, tal que a medida que las estructuras autoensambladas se forman, las partículas del polímero hidrófobo son retiradas hacia y encapsuladas dentro del núcleo hidrófobo de la estructura autoensamblada. Dado que el proceso de autoensamblaje es espontáneo, y dado que las estructuras autoensambladas son termodinámicamente estables, pueden crearse nanopartículas ultrapequeñas de polímeros (<100 nm), en un proceso robusto y reproducible.

[0080] En ciertas divulgaciones del método para producir nanopartículas de polímeros, cuando la pluralidad de gotas es recolectada sobre una superficie, las nanopartículas de polímeros se autoensamblan sobre la superficie. En un ejemplo de realización, las nanopartículas de polímeros comprenden una estructura autoensamblada que encapsula al polímero. Como se mencionó anteriormente, la estructura autoensamblada puede comprender una micela, u otros tipos de estructuras de autoensamblaje. En esta realización particular, la fuerza conductora para el autoensamblaje de las partículas de nanomateriales compuestos es suministrada por una interfaz de fase orgánica-fase acuosa, presente en la pluralidad de gotas. Adicionalmente, el autoensamblaje puede ser conducido a medida que el solvente orgánico es retirado, tal como por evaporación o difusión.

[0081] En un ejemplo de realización de acuerdo con los conceptos de la invención general contemplados aquí, un método para producir nanopartículas de polímeros emplea un proceso de lote. En un ejemplo de realización, se añaden un compuesto anfífilico y un polímero, a un solvente adecuado para formar una mezcla de compuesto anfífilico-polímero-solvente. La mezcla de compuesto anfífilico-polímero-solvente es introducida en una solución acuosa. La mezcla de compuesto anfífilico-polímero-solvente y la solución acuosa son mezcladas para formar una emulsión aceite en agua. Se retira el solvente de la emulsión aceite en agua, para producir las nanopartículas de polímeros. Por ejemplo, en una realización, a medida que el solvente es retirado (por ejemplo, a través de evaporación o difusión), los compuestos anfífilicos se orientan para formar una estructura autoensamblada que tiene una concha hidrofílica y un núcleo hidrófobo. En esencia, la estructura autoensamblada forma un “modelo” de tamaño particular, que puede ser usado para controlar el tamaño y forma de las nanopartículas de polímeros formadas. Durante la formación de la estructura autoensamblada, las partículas de polímero hidrófobo presentes son atraídas hacia los segmentos hidrófobos de los compuestos anfífilicos, tal que a medida que se forman las estructuras autoensambladas, las partículas del polímero hidrófobo son retiradas hacia y encapsuladas dentro del núcleo hidrófobo de la estructura autoensamblada. El compuesto anfífilico forma estructuras autoensambladas que encapsulan partículas del polímero, para formar las nanopartículas de polímeros. Cualquier número de los compuestos anfífilicos, polímeros, solventes, y sistemas acuosos divulgados previamente, puede ser utilizado en conexión con este ejemplo de realización.

Ejemplos

[0082] los siguientes ejemplos ilustran ejemplos de realizaciones o rasgos de los conceptos de la invención general descritos aquí. Los ejemplos son dados solamente con el propósito de ilustración.

Ejemplo 1

[0083] El ejemplo 1 ilustra un ejemplo de realización de una partícula de nanomaterial compuesto (CNP), un ejemplo de método para producir las CNPs, y ejemplos de métodos de uso de las CNPs de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí.

45 Materiales y métodos

[0084] Sustancias químicas - Poli(estireno-b-etilen glicol) con peso molecular 3800 a 6500 (Dalton), fue adquirido de Polymer Source. Puntos cuánticos (QDs) con superficies hidrófobas ($\lambda_{em} = 545$ nm, 10 pmol para QDs verdes, y $\lambda_{em} = 605$ nm, 2 pmol para QDs rojos) fueron adquiridos de Invitrogen. Cloroformo y poli(vinil alcohol) (13,000-23,000 Dalton, hidrolizado en 87-89%) fueron adquiridos de Aldrich. Medio Eagle modificado de Dulbecco y suero fetal bovino para cultivar células NIH3T3 fueron adquiridos de ATCC.

[0085] Preparación de CNPs - Las CNPs fueron preparadas mediante mezcla completa de QDs verdes ($\lambda_{em} = 545$ nm, 10 pmol), QDs rojos ($\lambda_{em} = 605$ nm, 2 pmol) y polímero (50 pmol) en cloroformo (100 μ l). La mezcla fue entonces añadida a una solución acuosa de poli(vinil alcohol) (5 mg/ml) una relación de volumen de 1:5 (aceite: agua). Después de someter a mezcla en aparato vórtex por 1 min, se mezcló con agua desionizada rápidamente la

emulsión formada (relación de volumen de emulsión a agua 1:5). Se permitió que las gotas de emulsión decantaran, y fueron transferidas a un contenedor abierto para la evaporación rápida de cloroformo. Las gotas de emulsión lechosa se tornaron transparentes después del retiro del cloroformo, indicando la formación de las CNPs. Las CNPs fueron filtradas a través de un filtro de jeringa con tamaño de poro 0.22 μm (Millipore), para eliminar los agregados grandes.

[0086] Microscopía de transmisión de electrones (TEM) - se tiñeron CNPs negativamente con ácido fosfotúngstico (PTA) 1%. Los estudios de TEM fueron conducidos usando un microscopio de transmisión electrónica FEI Tecnai G2 Spirit (80 kV). QDs y PTA tienen densidad electrónica y aparecen oscuros, mientras las conchas de las micelas aparecen claras en las imágenes.

[0087] Microscopía de fluorescencia y análisis de imagen - para dispersar de manera uniforme las CNPs sobre una superficie cubreobjetos, la solución de CNP (10 μl, 1-10 nM) fue colocada en sándwich entre dos cubreobjetos y colocada en una cámara de extracción por 10 minutos. Los dos cubreobjetos fueron entonces separados y expuestos a condiciones ambiente por otros 10 minutos. Se aseguraron entonces los cubreobjetos a los cuadros del microscopio, para observación de microscopía por fluorescencia. Se tomaron imágenes de CNPs con un microscopio Olympus BX41 (objetivo de inmersión en aceite 100x) equipado con una lámpara de mercurio de 100W (Chiu Technical Corporation, λ_{ex} = 488 nm. La emisión de fluorescencia fue filtrada a través de un filtro de paso largo y colectada por una cámara Olympus DP70 CCD. El análisis de imagen fue conducido usando software de análisis de imagen Image J. Se determinó la intensidad de fluorescencia de un pixel, por su nivel de color gris. Se determinó la intensidad de fluorescencia de una partícula, multiplicando el nivel promedio de gris de todos los pixeles de la partícula por el área (número de pixeles) ocupada por la partícula. Se identificó una trayectoria de una partícula uniendo manualmente los centroides de partícula sobre todos los cuadros de una serie de tiempo. Se tomó la imagen del movimiento de diferentes partículas a través del plano focal mediante el ajuste manual de la placa del microscopio. El tiempo de exposición de cámara usado fue 500 ms para parpadeo de QD e imágenes alternas de color de CNP, 16.7 ms para agregados de QD, y 0.8 ms para los agregados de CNP.

Estimación de la eficiencia FRET entre QDs - Se estimó la eficiencia FRET entre los dos tamaños QD como sigue:

$$R_0 = \left(\frac{9000(\ln 10)\kappa^2 Q_D}{128\pi^5 N n^4} \times I \right)^{\frac{1}{6}} \approx 3.9 \text{ nm} \quad (1)$$

en la que R₀ = distancia Forster, I = función de traslapamiento espectral = 2.2309x10¹⁵ (obtenida por integración del área bajo el área de traslapamiento del donador QD y aceptador QD), κ² = factor de orientación = 2/e, QD = rendimiento de cuanto de donador = 80% (según el fabricante de QD, N = número de Avogadro = 6.02x10²³, y n = índice de refracción = 2.2 (promedio de índice de refracción de CdSe y poliestireno).

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (2)$$

en la que E = eficiencia FRET y r = distancia entre los centros de par FRET de QD.

[0089] Asumiendo una separación de cero entre los dos QDs (es decir los dos QDs se tocan mutuamente), la distancia entre el donador y aceptador FRET es la suma de los radios de los dos QDs. Los radios de QD, según se mide por TEM son: r = r₁ + r₂ = 2.05 + 3.45 = 5.48 nm; así, E = 13.1%, y con 1 nm de separación entre dos QDs, E = 5.2%.

Resultados y discusión

[0090] Se formaron CNPs mediante coencapsulación de puntos cuánticos (QDs) con diferentes longitudes de onda de emisión (Invitrogen, λ_{em} = 545 nm y 605 nm para QDs verde y rojo, respectivamente) en micelas poliméricas de poli(estireno-b-óxido de etileno) (MW 3800-b-6500). La coencapsulación fue lograda usando el proceso de inestabilidad interfacial en el cual las gotas de emulsión aceite en agua fueron transformadas en micelas (diámetro de ~25 nm) mediante evaporación de la fase de aceite (por ejemplo, cloroformo). Dado que la fase de aceite contenía QDs con diferentes longitudes de onda de emisión y polímeros anfifílicos, las micelas resultantes incluían conchas poliméricas con QDs aislados del núcleo de la micela (FIG. 4). Es difícil determinar el número exacto de QDs rojos y verdes en cada micela, partiendo de microscopía de transmisión de electrones (TEM) dado que los QDs dentro de la micela 3D se traslapan cuando se proyectan sobre una imagen 2D.

[0091] Se evaluó la idoneidad de las CNP para aplicaciones de rastreo de partícula, usando un microscopio de fluorescencia (λ_{excitación} = 488 nm), cámara CCD, y filtro de paso largo para permitir la observación simultánea de

canal verde y rojo. Las CNPs exhiben colores de emisión de fluorescencia alterna múltiple, incluyendo las del constituyente de QDs verde y rojo y su combinación (FIG. 5a). La relación de fluorescencia en el canal rojo de CNP a la del canal verde (relación R/G) cambió a través del periodo de observación (0.564-3.662 AU, o diferencia de 550%, FIG. 5b), conduciendo a un cambio continuo en el color fluorescente (FIG. 5a). El cambio en la relación de R/G fue abrupto; indicando un cambio abrupto de color entre rojo (elevada relación R/G), amarillo/naranja (relación R/G media), y verde (baja relación R/G). Adicionalmente, los colores fluorescentes de las regiones más pequeñas dentro de las CNP cambiaron también continua y abruptamente. Por ejemplo, en el cuadro 41 (5.453 s), la CNP aparece como un gran núcleo naranja rodeado por una concha roja delgada (relación R/G = 1.846), mientras en el cuadro 110 (14.497 s) la CNP aparece verde (relación R/G = 0.580). La distribución no uniforme de color en la CNP indica una distribución heterogénea de QDs coloreados de modo diferente en la CNP. En contraste, un gran agregado de CNPs (obtenido del precipitado visible de una solución no filtrada de CNP después de 1 semana de almacenamiento) exhibió color fluorescente casi constante y relación R/G (2.931-3.004 AU, o diferencia de 2.4%). Por ello, el rasgo de color alternante de la CNP puede servir como un marcador de estado individual (o grupos pequeños).

[0092] Para evaluar la dinámica de la intensidad de fluorescencia, se compararon la intensidad total de fluorescencia de CNP y la de los canales individuales rojo y verde con la intensidad de imágenes separadas de QDs verde y rojo individuales (FIGS. 5c y 5d). Sobre un período de observación de 2 min, la intensidad total de fluorescencia de CNP permanece elevada (variando de 588.07 a 2995.998 AU), aunque en algunos puntos de tiempo las intensidades de fluorescencia de canales individuales de color de CNP disminuyeron como un resultado de parpadeo de QD constituyente (FIG. 5c). Comparado con los QDs individuales, para los cuales en varios puntos de tiempo la fluorescencia casi se extinguió (FIG. 5d, verde QD, 0-408.000 AU; rojo QD, 13.988-1429.012 AU), la fluorescencia de CNP fue virtualmente continua. Adicionalmente, las CNPs son mucho más brillantes que los constituyentes QDs, lo cual mejorará significativamente la relación señal a ruido en estudios de rastreo.

Estas mediciones pueden ser usadas también para estimar el número de QDs constituyentes en una CNP, lo cual es importante para potenciales aplicaciones de multiplexación. Si pueden determinarse *in situ* los números de QDs constituyentes individuales, sería posible construir CNPs con relaciones conocidas de partícula roja a verde, lo cual podría ser entonces usado para hacer rastreo de diferentes especies. A partir de la comparación de intensidad de fluorescencia en canales de CNP (FIG. 5c) con la de QDs individuales (FIG. 5d) (integradas durante 10 s para compensar el parpadeo), se estima que la CNP mostrada en (FIG. 5) contiene cuatro (es decir, 4.09) QDs verdes y dos (es decir, 2.24) QDs rojos. Sin embargo, dado el traslapamiento espectral y cercana proximidad entre QDs con una CNP, podría ocurrir transferencia de energía de resonancia de Forster (FRET). Así, se calculó la eficiencia de FRET entre QDs verdes y rojos y se determinó que era baja (13.1% para separación de 0 nm y 5.2% para 1 nm). La baja eficiencia de FRET observada en pares QD-QD respecto a donador/aceptor FRET molecular, es un resultado de gran tamaño de QDs. Estos cálculos indican que la FRET no interfiere significativamente con las propiedades de fluorescencia de las CNPs.

[0094] Adicionalmente a permitir un rastreo casi continuo y confirmación del estado de agregación, la emisión de fluorescencia de color alterno puede ser usada para resolver otro problema de largo tiempo en rastreo de partículas, sobre la base de QD: discriminación de agregados grandes fuera de foco de nanopartículas individuales (o pequeños grupos de). En sistemas altamente dinámicos que usan QDs convencionales, el movimiento 3D rápido fuera del plano focal no puede ser distinguido del parpadeo, porque ambos conducen a la desaparición de la señal de fluorescencia (FIG. 6a). En contraste, las CNPs permiten la confirmación fácil y sin ambigüedad del estado de agregación, porque (1) las CNPs producen emisión de fluorescencia con color alterno y (2) los QDs constituyentes en una CNP, se mueven como un ensamble. Así, un agregado CNP que se mueve completamente fuera del foco, se manifiesta como una pérdida completa de fluorescencia, la cual es distinguible claramente de la señal de color alterno de una CNP individual (o pequeño grupo de) (FIG. 6b).

[0095] Las CNPs colocadas en gota fueron movidas mediante control manual de la placa de microscopio. Se realizó seguimiento continuo a una CNP típica por 2 min, mucho más que la duración reportada entre interrupciones de parpadeo para cualquier trayectoria de QD individual reportada en la literatura (FIG. 7a). La CNP se movió a través del campo de vista mientras exhibía cambios de color continuos y abruptos, indicando estado individual (o grupos pequeños). La fluorescencia de color alterno de CNP es distinguible de la intensidad de fluorescencia potencial y cambios de color que pueden resultar del crecimiento (por ejemplo, por maduración de Ostwald) y agregación de partícula. Se ha reportado que la intensidad de fluorescencia de algunos agregados grandes de QD (por ejemplo, QDs con superficies pobremente protegidas) experimenta un descenso significativo, pero gradual, antes de alcanzar estado estacionario bajo ciertas condiciones experimentales. Sin embargo, los agregados grandes de CNP, que comprenden QDs disponibles comercialmente con superficies bien protegidas, emiten fluorescencia constante en todos los canales de color bajo todas las condiciones experimentales probadas. Adicionalmente, incluso si se usan partículas con superficies pobremente protegidas, dado que el descenso inicial de fluorescencia sería gradual, cualquier posible alteración de fluorescencia sería también gradual y podría así ser distinguida de los

cambios abruptos de color exhibidos por CNPs individuales (o pequeños grupos de).

[0096] Existieron varios cambios de ubicación rápidos y grandes ("saltos") en la trayectoria (por ejemplo, de 84.44 a 87.22 s). En particular, un evento de cambio de color coincidió con el evento de salto entre 84.44 y 86.67 s (FIG. 7b). El evento de cambio de color indica que durante este tiempo por lo menos un QD constituyente en la CNP estaba parpadeando, lo cual resalta el beneficio de usar una CNP, más que un QD, para el rastreo. Si este QD constituyente parpadeando fuera usado sólo como una partícula de rastreo, se perdería la trayectoria después del "salto", debido a la coincidencia del parpadeo y el salto. De modo alternativo, podrían usarse "QDs que no parpadean" en los que el parpadeo es reducido o eliminado por mediadores/compensadores sobre la superficie de QD, QDs de recubrimiento con una concha gruesa, o sintetizarse QDs con una función de energía potencial que cambiase gradualmente. Sin embargo, esto no permitiría confirmar el estado de agregación (o falta del mismo), dado que el parpadeo estaría ausente, no podrían aplicarse *in situ* microscopía electrónica y conteo individual de fotones, y el tamaño de mancha de partícula fluorescente puede variar con el tiempo de exposición de cámara y está sujeto al límite de difracción (es decir, no el tamaño real de la partícula).

[0097] Adicionalmente a las propiedades ópticas, las CNPs tienen varios rasgos que las hacen particularmente útiles para estudios de rastreo de partícula. Primero, aproximadamente 20% de las CNPs como son sintetizadas, sin separación u optimización, muestran fluorescencia casi continua, propiedades de alternancia de color (con el resto suministrando fluorescencia de color individual típica). Segundo, los rendimientos pueden mejorar mediante clasificación por fluorescencia (por ejemplo, FACS); sin embargo, pueden usarse también CNPs como son sintetizadas con investigadores que rastrean de manera selectiva aquellas partículas fluorescentes con el rasgo de alternancia de color. Tercero, las CNPs son pequeñas y por ello no se espera que interfieran con la mayoría de los procesos que están bajo rastreo. Además, la bioconjugación de CNPs puede ser lograda con métodos bien documentados (usando polímeros anfífilicos con grupos -COOH o -NH₂ terminales). Adicionalmente, las CNPs son estables en los ambientes biológicos usados comúnmente para estudios de rastreo de partículas. Por ejemplo, después de 12 h en medio de cultivo celular (medio Eagle modificado de Dulbecco, que contiene 10% de suero, 37° C), las CNPs estaban libres de agregación significativa y se preservaron sus propiedades de fluorescencia casi continua y de alternancia de color. El medio de cultivo celular, sangre o citoplasma, pueden interactuar todos potencialmente con la superficie de QD a través de reacciones de oxidación/reducción o absorción molecular para alterar propiedades de QD. La elevada tolerancia por ambientes biológicos desplegada por CNPs debería ser el resultado, por lo menos parcial, de la protección de la superficie de QD por la micela.

[0098] Las propiedades de las CNPs pueden mejorar significativamente el rastreo dinámico de partícula en fluidos (por ejemplo, ambientes biológicos o flujos de microfluidos). Sin embargo, se contempla que pueden usarse CNPs para manipulación magnética y formación multimodal de imágenes, o para uso en la creación de partículas multiplexadas que pueden rastrear simultáneamente biomoléculas múltiples o nanomateriales. Adicionalmente, las CNPs pueden servir también como una plataforma para investigar transferencia de energía y acoplamiento electrónico de QDs en un microambiente controlado.

Ejemplo 2

[0099] El ejemplo 2 ilustra un ejemplo de realización de un método para producir partícula de nanomaterial compuesto de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí.

Materiales y métodos

[0100] Síntesis por electroatomización de partículas de nanomateriales compuestos - proceso de producción por electroatomización de partículas de nanomateriales compuestos incluye la preparación de soluciones de electroatomización, generando una gota de compuesto por electroatomización coaxial, recolectando las gotas de aerosol en una solución acuosa, dando como resultado una microemulsión, y permitiendo que la microemulsión forme micelas por el efecto de inestabilidad interfacial.

[0101] Primero, se suspendieron separadamente en cloroformo nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético (SPION), puntos cuánticos (QDs), y poli(estireno-b-etilen glicol) (PS-PEG). Luego se preparó una fase orgánica mezclando SPION (1 mg/ml Fe, 225 μ l), QDs (0.1 μ M, 450 μ l), y PS-PEG (10 mg/ml, 90 μ l). La fase orgánica fue entregada al capilar interno de acero inoxidable de una aguja coaxial, a una tasa de flujo de 0.48 ml/hr usando una bomba de jeringa. Se preparó una fase acuosa disolviendo poli(vinil alcohol) en agua doblemente destilada a 5 mg/ml. Se suministró la fase acuosa al anillo exterior de la aguja coaxial, a una tasa de flujo de 2.8 ml/hr usando una segunda bomba de jeringa. Después de permitir la estabilización de ambas tasas de flujo, usando una cámara de alta resolución y pantalla pudieron observarse gotas de compuesto, con un núcleo orgánico y una concha acuosa, goteando de la aguja coaxial. Cuando se estabilizaron ambas tasas de flujo, se utilizó un suministro de potencia para aplicar un elevado voltaje positivo a la aguja coaxial, respecto a un anillo de cobre conectado a tierra, ubicado 0.5 cm debajo de la punta de la aguja. A un voltaje de 6-7 kV, se observó un chorro de cono cóncavo

5 en la punta de la aguja coaxial. Se colocó un plato de aluminio que contenía 14 ml de fase acuosa (agua doblemente destilada, o amortiguador de acetato de amonio), 10 cm debajo de la punta de la boquilla, para recolectar las gotas de aerosol. Después de una hora de recolección, en el fondo del disco de recolección era visible una emulsión rojo-marrón. Esta fue transferida a un tubo de centrifuga de 15 ml. Después de 2 horas, se desvaneció esta emulsión dejando una suspensión transparente de partículas de nanomateriales compuestos.

10 **[0102]** Dispersión Dinámica de Luz: Distribución de Tamaño Hidrodinámico de Partícula - Se caracterizó el tamaño hidrodinámico de partícula de las partículas de nanomateriales compuestos, usando un equipo de dispersión dinámica de luz (Brookhaven Instruments Corporation, BI 200SM). Se tomaron muestras de la suspensión resultante y se diluyeron con agua destilada, si era necesario, para reducir la intensidad de la luz dispersa, al intervalo aceptable por el instrumento (entre 10 y 200 kCPS). La longitud de onda del láser fue 633 nm, se ajustó el microorificio a 200, y el ángulo de detección fue 90°. Una medición tardó 2 minutos y se registró el promedio de tamaño de partícula, ponderado por volumen ($D_{p, \text{promedio,v}}$). Se reportaron el promedio y desviación estándar de cinco mediciones sucesivas.

15 **[0103]** Distribución de Tamaño de Partícula por Barrido de Movilidad (SMPS) -se caracterizó la movilidad eléctrica de partículas transformadas en aerosol, usando un Espectrómetro de Medición de Tamaño de Partícula por Barrido de Movilidad (SMPS, TSI 3936). Se recolectaron las gotas de electroatomizado de compuesto, y se formó la suspensión de micela en amortiguador de acetato de amonio. Se transformó en aerosol una pequeña muestra de esta suspensión, usando un generador comercial de aerosol por electroatomización (TSI 3040). El aerosol fue clasificado por movilidad eléctrica usando un clasificador electrostático (TSI 3080) con un equipo de análisis de movilidad diferencial (DMA, TSI 3081). Se cuantificaron entonces las partículas, usando un contador de partículas por condensación ultrafina de agua (UWCPC, TSI 3786). Se programó el equipo para realizar un barrido a través de un intervalo de tamaños de partícula por movilidad eléctrica, de 9 nm a 400 nm, contando las partículas en cada tamaño. Así, se construyó y graficó sobre un eje log-log, una distribución de tamaño de partícula por movilidad eléctrica.

25 **[0104]** Microscopía de transmisión de electrones - Se obtuvieron imágenes de las micelas resultantes en la suspensión transparente, usando un FEI Tecnai G2 Bio Twin TEM. Primero, se tomaron con pipeta 10 μl de gotas de muestra, sobre una paleta limpia de silicona. Se cargaron micelas sobre rejillas de níquel recubiertas con formvar/carbón, colocando la rejilla sobre la gota de muestra con la película de soporte hacia abajo. Se permitió que las micelas fueran recolectadas sobre la película de soporte por 2 minutos, tiempo después del cual se retiró el exceso de líquido, usando papel de filtro. A continuación, se colocó la rejilla sobre una gota de 10 μl de ácido fosfotúngstico (PTA, 1%). Se permitió la tinción negativa con PTA 1% por 2 minutos y se retiró el exceso de líquido. Se tomó entonces imagen de la rejilla.

35 **[0105]** Rastreo de partícula con microscopía de fluorescencia en presencia de un imán de neodimio - Se probaron simultáneamente las funciones fluorescente y magnética de las partículas generadas por electroatomización, observando una muestra de partículas bajo microscopio de fluorescencia, en presencia de una aguja magnética de neodimio. El filtro del microscopio fue ajustado a la longitud de onda de emisión de los puntos cuánticos y sobre la placa se colocó un plato de vidrio con un pequeño segmento cilíndrico de aguja magnética de neodimio. Con una pipeta se aplicó una muestra de 10 μl sobre el plato de vidrio, sumergiendo el imán en la muestra. Se registró un video para investigar si las partículas fluorescentes podrían ser observadas, o no, moviéndose hacia el imán. Se procesó el video usando el software Image J.

Resultados y discusión

45 **[0106]** Se sintetizaron micelas usando el ajuste experimental ilustrado en FIG. 1. La mezcla orgánica que comprendía el solvente (cloroforno), polímero poli(estireno-b-etilen glicol), SPIONs, y QDs, fluyó a través de la aguja central mientras una mezcla de polivinil alcohol-agua fluyó a través de la aguja exterior. Se ajustaron las ratas de flujo y voltajes, para lograr un chorro de cono estable. Se recolectaron las gotas de aerosol en un plato de recolección que contenía agua destilada. En ausencia de agitación, se segrega una emulsión rojiza-marrón hacia el fondo del plato de aluminio de recolección. Sin embargo, la emulsión es capaz de ser dispersada con agitación suave. Luego de 2-3 horas después de la atomización, resulta una solución clara. La desaparición de la emulsión rojiza-marrón después del tiempo y agitación suave indica la formación de micelas a través del efecto de inestabilidad interfacial. Así, el proceso de electroatomización forma la emulsión de una forma continua, automatizada.

50 **[0107]** Una vez se desvaneció la emulsión y la solución se tornó transparente, se retiró una muestra y se analizó usando DLS. En la FIG. 8a se ilustra una distribución de tamaño de partícula de la muestra, y es unimodal. Sobre la base de 5 mediciones, el promedio de diámetro de partícula, ponderado por volumen, fue 44 ± 7 nm. Se tomó imagen de la misma solución entonces usando TEM, y la FIG. 8b ilustra que las micelas que contenían tanto SPIONs como QDs tienen diámetros entre 30 nm y 40 nm, valores que concuerdan bien con los datos de dispersión

dinámica de luz.

[0108] Dado que las partículas contienen QDs, el movimiento aleatorio de partículas en solución, observado bajo un microscopio de fluorescencia, puede ser usado también para determinar el tamaño de partícula. Se colocó una gota de 10 μl en un disco de vidrio y se ajustó el filtro del microscopio a la longitud de onda de fluorescencia de los puntos cuánticos. (Figura 5 del documento) ilustra la trayectoria de tres de tales partículas. el cuadrado del desplazamiento promedio $\langle x^2 \rangle$ de la partícula está relacionado con la difusión de la partícula D y tiempo t mediante

$$\langle x^2 \rangle = 4Dt \quad (1)$$

[0109] El valor de D se relaciona a su vez con el radio de diámetro de partícula d_p a través de la ecuación de Stokes-Einstein

$$d_p = \frac{k_B T}{3\pi\mu D} \quad (2)$$

en la que k_B es la constante de Boltzmann, T es temperatura, y μ es la viscosidad del medio circundante. Para las partículas ilustradas en la FIG. 9, este método dio como resultado radios de partícula de 54 nm y 68 nm. Se observaron también partículas significativamente más grandes, $d \sim 400$ nm, y se asume que corresponden a agregados micelares.

[0110] Es difícil cuantificar la encapsulación de SPION y punto cuántico, dado que es rara la evidencia visible de componente en el interior o el exterior de las micelas. Para ilustrar que la deficiencia de encapsulación no es rara, se generaron dos muestras de micelas. En la primera muestra, sólo se incluyó el copolímero PS-PEG de bloque en la fase orgánica, con objeto de generar micelas vacías. En la segunda muestra, se incluyeron PS-PEG y SPION en la fase orgánica, para generar micelas cargadas con SPION. En las FIGS. 10a y 10b se ilustran las imágenes TEM de las muestras. Nuevamente las micelas tienen un diámetro aproximado de 30 a 40 nm, y no hay evidencia directa de encapsulación de SPION. Para demostrar que estas micelas difieren de una manera consistente con la inclusión de SPIONs, se suspendieron micelas vacías y cargadas en amortiguador de acetato de amonio, se atomizaron nuevamente usando un dispositivo TSI de electroatomización, y se midió la distribución de tamaño aerodinámico del aerosol resultante, usando un aparato de Análisis del Tamaño de Partícula por Barrido de Movilidad TSI. A las bajas diluciones usadas aquí, las gotas creadas por la electroatomización contienen a lo sumo una micela. Como se ilustra en las FIGS. 9a y 9b, el promedio d_a volumétrico de diámetros aerodinámicos es comparable con los valores determinados por otros métodos. El tamaño ligeramente menor es consistente con una micela seca, donde el polímero está colapsado y es más compacto que en el estado hidratado. Además, las micelas cargadas con SPION tienen un diámetro aerodinámico distintivamente mayor que las micelas vacías. Esto puede ser explicado reconociendo que el diámetro aerodinámico está relacionado con el diámetro físico de la partícula por: $d_a = d_p \rho^{1/2}$, donde ρ es la densidad de la partícula. Existen por lo menos tres razones de por qué d_a debería aumentar con la carga de hierro en las micelas. La primera es un incremento en el tamaño físico debido a la inclusión de nanopartículas de hierro, la segunda es un aumento en la densidad de la micela cargada con óxido de hierro, respecto a la micela vacía y, finalmente, la presencia de partículas sólidas de óxido de hierro puede hacer más resistente a la micela al colapso, a medida que ella se seca.

[0111] Finalmente, para demostrar que las nanopartículas formuladas con QDs y SPIONs tenían ambas funcionalidades fluorescentes y magnéticas, se observaron las partículas de nanomateriales compuestos bajo un microscopio de fluorescencia en presencia de un imán de neodimio. La migración de las partículas fluorescentes hacia la aguja magnética indicó la co-localización de SPION y puntos cuánticos, demostrando que ellos estaban co-encapsulados en la micela. La FIG. 11 (a)-(f) ilustra una serie de imágenes de un registro en video que muestra una partícula fluorescente particular, a medida que migra hacia el imán.

Para estimar el tamaño de la partícula observada en FIG. 11, se hizo rastreo de su movimiento en el tiempo y en las FIGS. 11g y 11h se ilustran los resultados. El movimiento de esta partícula refleja el movimiento dirigido debido al campo magnético y el movimiento aleatorio debido a la difusión browniana. En un campo magnético, la velocidad v de una partícula está gobernada por

$$v = \frac{M(B_0)d_p^2}{18\mu} \nabla B \quad (3)$$

en la que $M(B_0)$ es la magnetización de la partícula y B es el campo magnético. Así, en una región de ∇B constante, la velocidad de la partícula debería ser constante y perpendicular a las líneas de campo magnético. Cerca del imán,

∇B es constante, y B es suficientemente alta para asegurar que $M(B_0)$ es constante. Así, se puede desconvolucionar el movimiento de la partícula en sus componentes dirigido y fluctuante. Como se ilustra en la FIG. 11h, el cuadrado del promedio de desplazamiento del movimiento dirigido es una función lineal del tiempo, y de la pendiente de la línea y las Eqs (1) y (2), puede determinarse el tamaño de la micela. En este caso, $d_p = \sim 340$ nm, sugiriendo un agregado. Asumiendo que cada micela en el agregado tiene un promedio d_p de 60 nm, el valor promedio basado en el análisis previo de difusión, un balance de volumen sugiere que el agregado contiene -180 micelas. La Eqn (3) puede ser usada ahora para determinar $M(B_0)$ y, finalmente puede estimarse el número de SPIONS N_S usando

$$M(B_0) = N_S M_s V_s \quad (4)$$

en la que M_s , y V_s son la masa y el volumen de un SPION individual. En este caso N_S es 165 y cada micela contiene en promedio 0.68 SPIONS. Aunque este es sólo un análisis de orden de magnitud, sugiere que la mayoría de las micelas contiene una nanopartícula de hierro. El análisis demuestra también que estudios de imagen de este tipo son más sensibles a los agregados grandes, dado que las micelas individuales se mueven mucho más lentamente ($v \propto d_p^2$) y es más difícil el rastreo de su movimiento sobre la escala de tiempo de un experimento típico.

Ejemplo 3

[0113] El ejemplo 3 ilustra un ejemplo de realización de un método para producir nanopartícula polimérica de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí.

[0114] Se usó poliestireno-co-polietilen glicol (PS-PEG) como un modelo para formar nanopartículas que comprenden poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) vía autoensamblaje. Como se muestra en la FIG. 12, PS-PEG es un compuesto anfifílico que se autoensambla para formar estructuras micelares en agua. El PLGA (hidrófobo) entra espontáneamente en el núcleo hidrófobo del modelo de micela, dando como resultado partículas de PLGA cuyos tamaños son controlados primariamente por el modelo. Los tamaños pueden ser extremadamente pequeños (fácilmente 40 nm y potencialmente tan pequeños como varios nm con compuestos anfifílicos seleccionados). En un método para formar partículas de PLGA con modelo de micela, se disuelven PS-PEG y PLGA en cloroformo, el cual es entonces introducido en agua. Aplicando agitación con vórtex a la mezcla, da una emulsión agua en aceite. A continuación de la evaporación de cloroformo, la emulsión es transformada en una solución transparente de nanopartículas de PLGA con modelo de micela. En esencia, el proceso produce micelas "llenas", esto es, micelas que contienen un polímero dentro de su núcleo.

[0115] La FIG. 13 muestra imágenes TEM de partículas de PLGA producidas usando el proceso de autoensamblaje. Como puede verse claramente, el tamaño de partícula es ~ 40 -50 nm, el cual es mucho más pequeño que 100 nm. Eligiendo diferentes moléculas que forman micela (es decir, compuestos anfifílicos), pudo reducirse adicionalmente el tamaño de partícula de partículas de PLGA.

[0116] La FIG. 14 muestra liberación de agente activo (es decir, DEX, o dexametasona, un fármaco antiinflamatorio e inmunosupresor) de partículas de PLGA hechas vía autoensamblaje. La figura ilustra varios rasgos de las partículas de PLGA. Primero, la liberación es gradual. Segundo la tasa de liberación puede ser ajustada por la cantidad de PLGA en el núcleo de la micela, sin la necesidad de ajustar el tamaño de partícula. Esta es una ventaja importante comparada con las partículas convencionales de PLGA o micelas convencionales (micelas sin polímeros de PLGA en el núcleo central, hidrófobo), porque el cambio en el tamaño de partícula conduce frecuentemente a la acumulación diferencial en el cuerpo.

Ejemplo 4

[0117] El ejemplo 4 ilustra un ejemplo de realización de un método de uso de una partícula de nanomaterial compuesto de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí.

[0118] Formación bimodal de imagen de cáncer, y terapia por una partícula de nanomaterial compuesto. Se coencapsulan en micelas puntos cuánticos (QDs), nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético (SPIONS), y fármacos hidrófobos contra el cáncer (tales como paclitaxel). Se conjugan entonces las micelas con un ligando que reconoce receptores específicos sobre las células con cáncer. Se inyectan entonces las micelas conjugadas resultantes dentro de la corriente sanguínea de un sujeto. Los ligandos sobre la superficie de las micelas enfocan las partículas de nanomateriales compuestos hacia el tumor. Usando SPIONS en las partículas de nanomateriales compuestos como agentes de contraste, un médico puede tomar imágenes de modo no invasivo y localizar el tumor en tejidos profundos, con MRI. Además, la fluorescencia brillante y estable generada por los QDs (por ejemplo, por una lámpara UV portátil) en las partículas de nanomateriales compuestos puede guiar los esfuerzos de un cirujano

para retirar el tumor durante la cirugía. Aunque la fluorescencia de los QDs no penetra en los tejidos profundos como lo hacen las señales de MRI, ofrece una vía conveniente para que el cirujano visualice el tumor durante la cirugía, dado que durante la cirugía el tumor no está ya en tejidos profundos y la cirugía no puede ser ejecutada en un escáner MRI. Después de la cirugía, los fármacos contra el cáncer se liberan desde las partículas de nanomateriales compuestos, para matar posibles células remanentes de tumor, para prevenir la reaparición del cáncer.

Ejemplo 5

[0119] Ejemplo 5 ilustra un ejemplo de realización de un método de uso de una partícula de nanomaterial compuesto de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí.

[0120] Codificación óptica multiplexada de biomoléculas por partículas sub-50 nm de nanomateriales compuestos. Se coencapsulan puntos cuánticos (QDs) de diferentes longitudes de onda de emisión (es decir, diferentes colores) dentro de las mismas micelas. La intensidad de fluorescencia de una longitud de onda particular de cada micela es proporcional al número de QDs que están encapsulados emitiendo fluorescencia a la longitud de onda particular. Dado que la relación del número de QDs que emiten a diferentes longitudes de onda puede ser controlada, la relación puede ser usada como un mecanismo de "codificación" para detectar o crear imágenes de múltiples tipos de biomoléculas, rápidamente. El tamaño de las partículas de nanomateriales compuestos da como resultado un impedimento estérico mucho menor en la unión ligando-objetivo.

Ejemplo 6

[0121] El ejemplo 6 ilustra un ejemplo de realización de un método de uso de una partícula de nanomaterial compuesto de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí.

[0122] Manipulación de partículas individuales de nanomateriales compuestos para nanofabricación. Se utilizan partículas de nanomateriales compuestos que comprenden micelas anfifílicas que coencapsulan puntos cuánticos (QDs) y nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético (SPIONs) en conexión con un arreglo de nanotransportador, para manipulación de las partículas de nanomateriales compuestos. El arreglo nanotransportador puede comprender microdiscos ferromagnéticos digitalizados o nanoalambre magnético con patrón de zigzag. Los muy elevados gradientes de campo en la periferia de cada disco o de cada vértice de zigzag son suficientes para atrapar las partículas de nanomateriales compuestos. La sincronización y alteración de los campos magnéticos puede controlar el movimiento de las partículas de nanomateriales compuestos en el plano x-y, así como puede permitir que las partículas de nanomateriales compuestos se muevan de disco a disco, o de vértice de zigzag a vértice de zigzag. Mientras las SPIONs permiten el control de localización por magnetismo, la extraordinaria brillantez y fotoestabilidad de los QDs permite rastrear con precisión la ubicación de las partículas de nanomateriales compuestos.

Ejemplo 7

[0123] El ejemplo 7 ilustra un ejemplo de realización de un método usando una partícula de nanomaterial compuesto de acuerdo con los conceptos de la invención general descritos aquí.

[0124] Sensores de fuerza de nanoescala para estudios de biomecánica. Como sensor de fuerza de nanoescala se usan partículas de nanomateriales compuestos que comprenden micelas que coencapsulan puntos cuánticos (QDs) y nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético (SPIONs) para identificar el objeto biológico que va a ser estudiado. Se aplica entonces una fuerza externa bien definida, sobre el objeto biológico mediante un micromanipulador magnético, y mediante la fluorescencia de los QDs se rastrea el cambio de ubicación del objeto biológico, debido a la fuerza.

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir partículas de nanomateriales compuestos, donde el método comprende:

suministro de un fluido de fase orgánica a una boquilla coaxial que comprende un tubo interior y un anillo exterior, en el que el fluido de fase orgánica comprende un solvente orgánico, un compuesto anfifílico, y una pluralidad de nanopartículas hidrófobas;

generación de un campo eléctrico en proximidad a la boquilla, tal que el fluido que sale de la boquilla forma un chorro de cono que se dispersa dentro de una pluralidad de gotas;

recolección de la pluralidad de gotas en una solución acuosa de recolección;

en el que las partículas de nanomateriales compuestos que comprenden una micela anfifílica encapsulan por lo menos un autoensamble de nanopartícula hidrófoba, en la solución acuosa de recolección;

en el que el método comprende además el suministro de un fluido de fase acuosa a la boquilla, en el que el fluido de fase acuosa comprende un tensioactivo y en el que el tensioactivo es polivinil alcohol.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

el fluido de fase orgánica es suministrado al tubo interior de la boquilla a una tasa de flujo de 0.01 ml/hr a 10 ml/hr; y

el fluido de fase acuosa es suministrado al anillo exterior de la boquilla a una tasa de flujo de 0.01 ml/hr a 10 ml/hr.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el campo eléctrico tiene una fuerza de campo eléctrico dentro de un intervalo de 3 kV/cm a 35 kV/cm.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el solvente orgánico es seleccionado del grupo que consiste en cloroformo, tetrahidrofurano, diclorometano, y combinaciones de ellos;

el compuesto anfifílico es seleccionado del grupo que consiste en poli(estireno-b-etilen glicol), poli(ϵ -caprolactona-b-etilen glicol), poli(etilen glicol-b-distearoil fosfatidiletanolamina), un compuesto anfifílico de péptido, y combinaciones de ellos; y

la pluralidad de nanopartículas hidrófobas es seleccionado del grupo que consiste en nanopartículas semiconductoras, nanopartículas metálicas, nanopartículas magnéticas, nanopartículas carbonáceas, y combinaciones de ellos.

5. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que las partículas de nanomateriales compuestos tienen un diámetro en un intervalo de 5 nm a 1000 nm.

6. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que partículas de nanomateriales compuestos comprenden por lo menos un primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión y por lo menos un segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de primera emisión, y las partículas de nanomateriales compuestos tienen un diámetro en un intervalo de 5 nm a 1000 nm.

7. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que las partículas de nanomateriales compuestos comprenden por lo menos un punto cuántico y por lo menos una nanopartícula magnética, y las partículas de nanomateriales compuestos tienen un diámetro en un intervalo de 5 nm a 1000 nm.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que las partículas de nanomateriales compuestos comprenden además un grupo funcional, en el que el grupo funcional es seleccionado del grupo que consiste en un péptido, un polipéptido, una proteína, un anticuerpo, ADN, ARN, y combinaciones de ellos.

9. Una partícula de nanomaterial compuesto que comprende:

una micela que comprende un compuesto anfifílico, un núcleo hidrófobo y polivinil alcohol;

por lo menos un primer punto cuántico hidrófobo encapsulado en el núcleo hidrófobo de la micela, el primer punto cuántico que tiene una longitud de onda de primera emisión;

por lo menos un segundo punto cuántico hidrófobo encapsulado en el núcleo hidrófobo de la micela, el segundo punto cuántico que tiene una longitud de onda de segunda emisión que es diferente de la longitud de onda de

primera emisión; y

la partícula de nanomaterial compuesto que tiene un diámetro en un intervalo de 5 nm a 1000 nm.

5 **10.** La partícula de nanomaterial compuesto de acuerdo con la reivindicación 9 que comprende además por lo menos una nanopartícula adicional encapsulada en la micela, en el que la nanopartícula adicional es seleccionada del grupo que consiste en nanopartículas metálicas, nanopartículas magnéticas, nanopartículas carbonáceas, y combinaciones de ellos.

11. La partícula de nanomaterial compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, en el que la longitud de onda de primera emisión está entre 490 nm a 560 nm y la longitud de onda de segunda emisión está entre 590 nm a 700 nm.

10

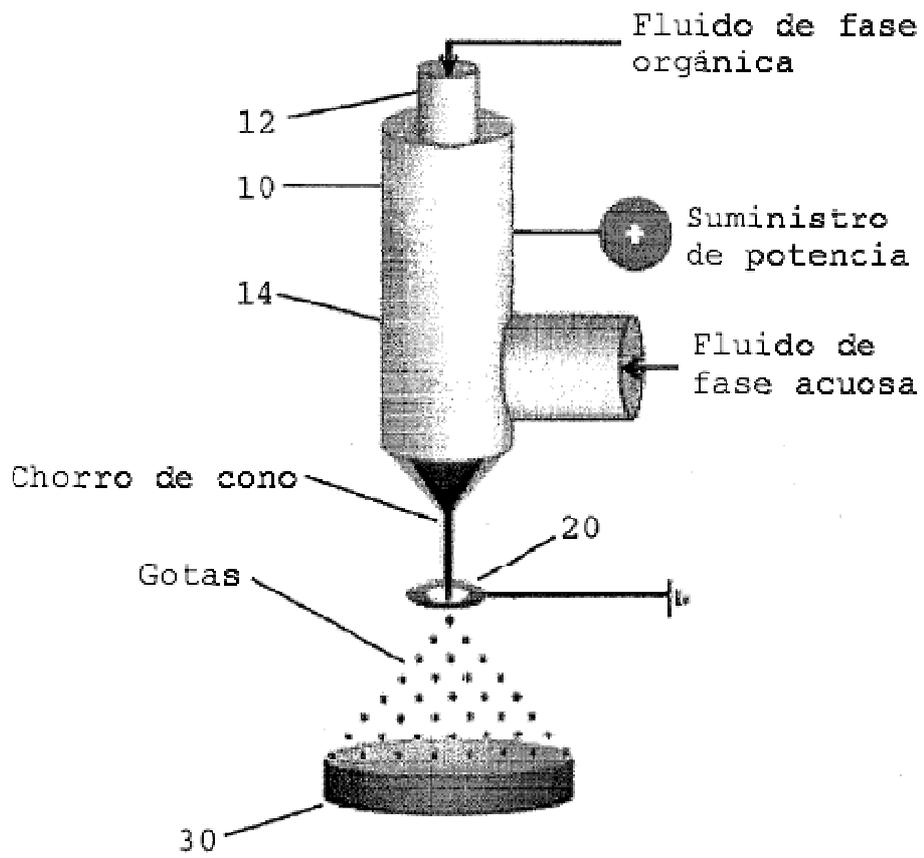


FIG. 1

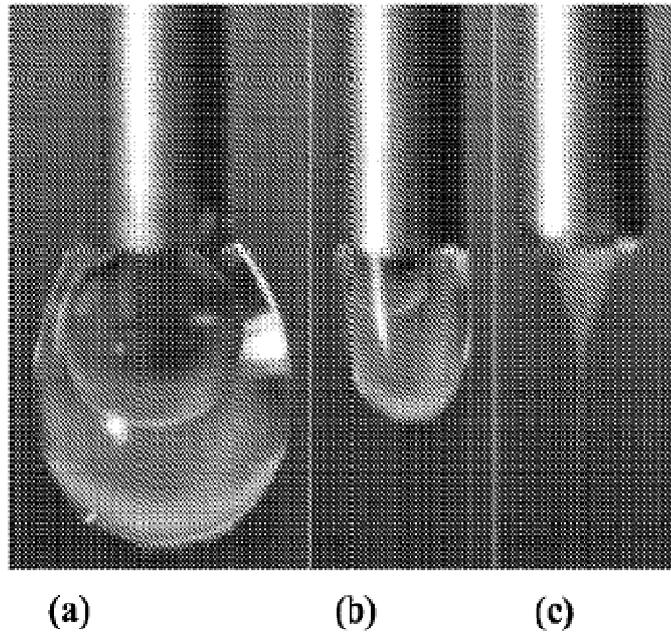


FIG. 2

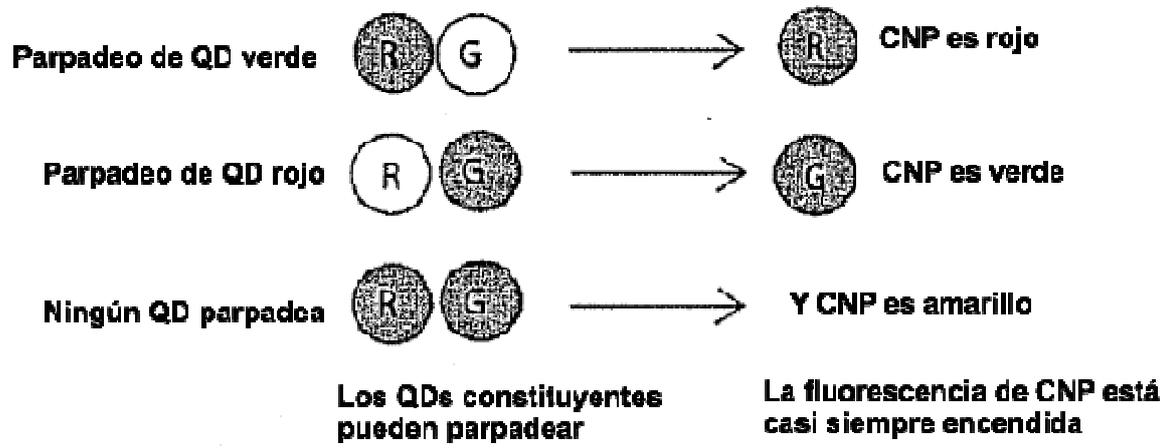


FIG. 3

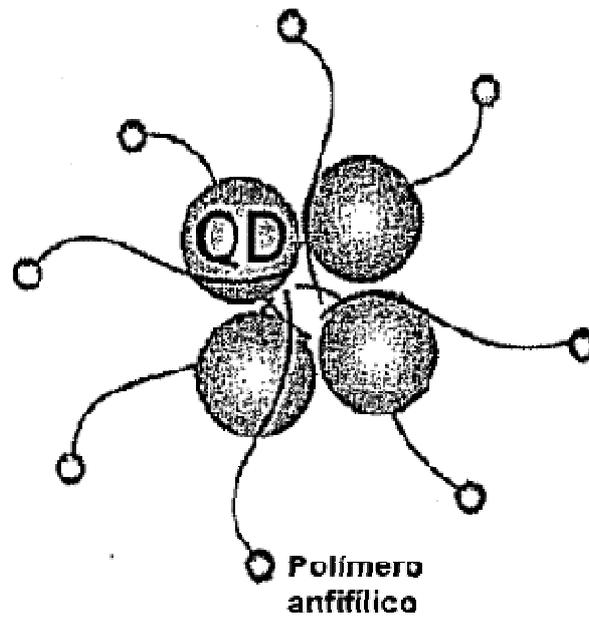
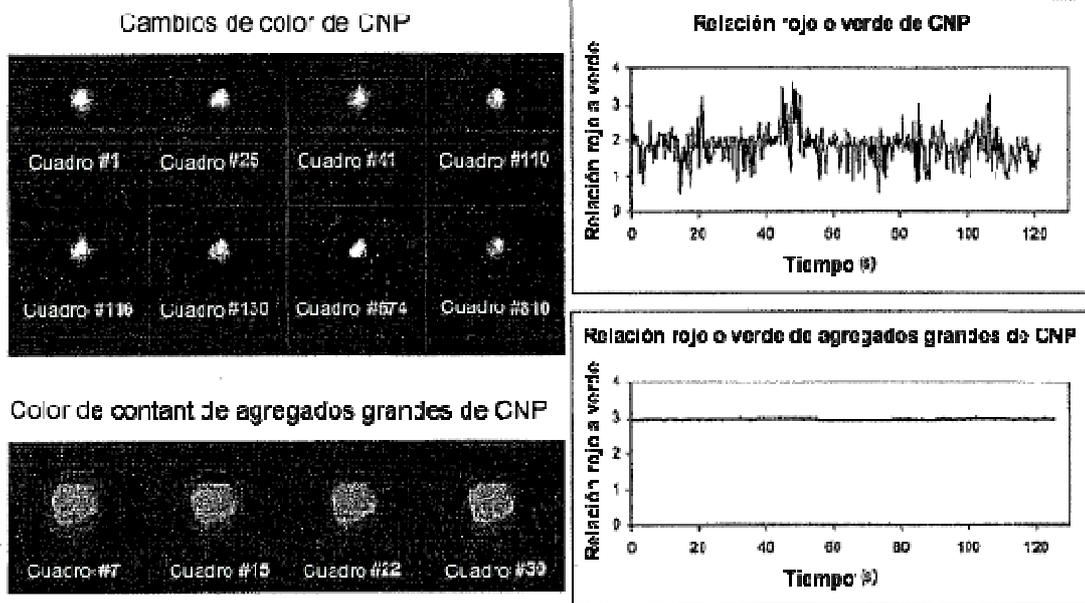
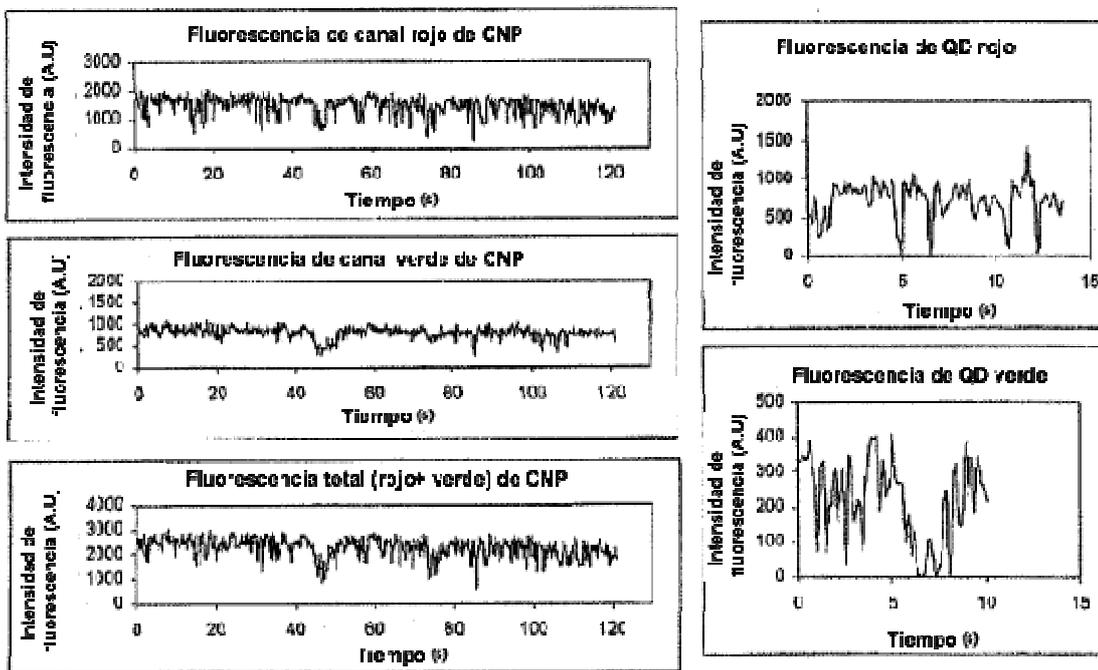


FIG. 4



(a)

(b)



(c)

(d)

FIG. 5

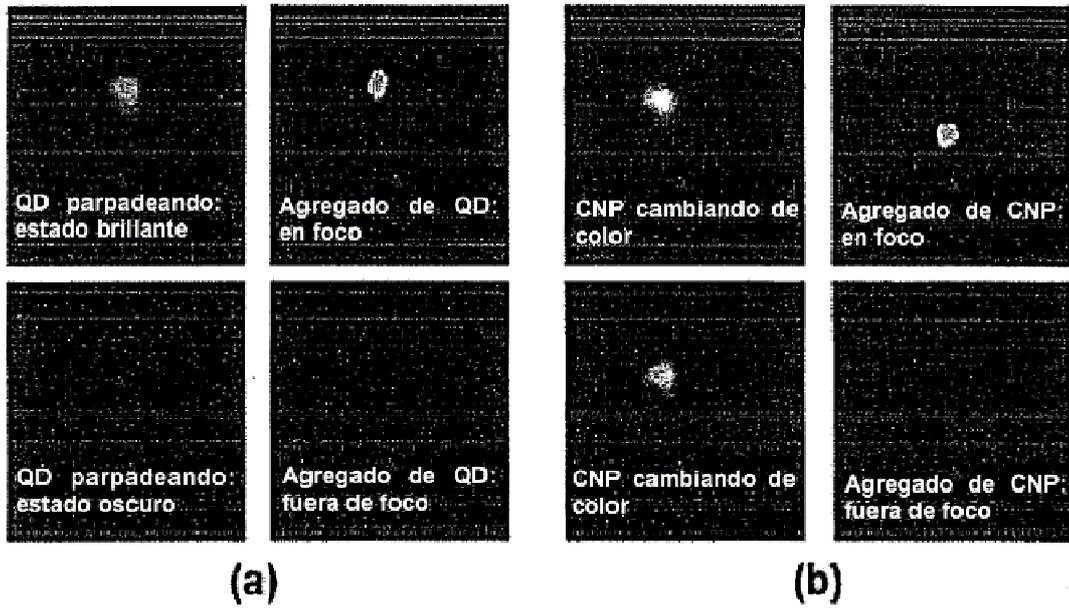


FIG. 6

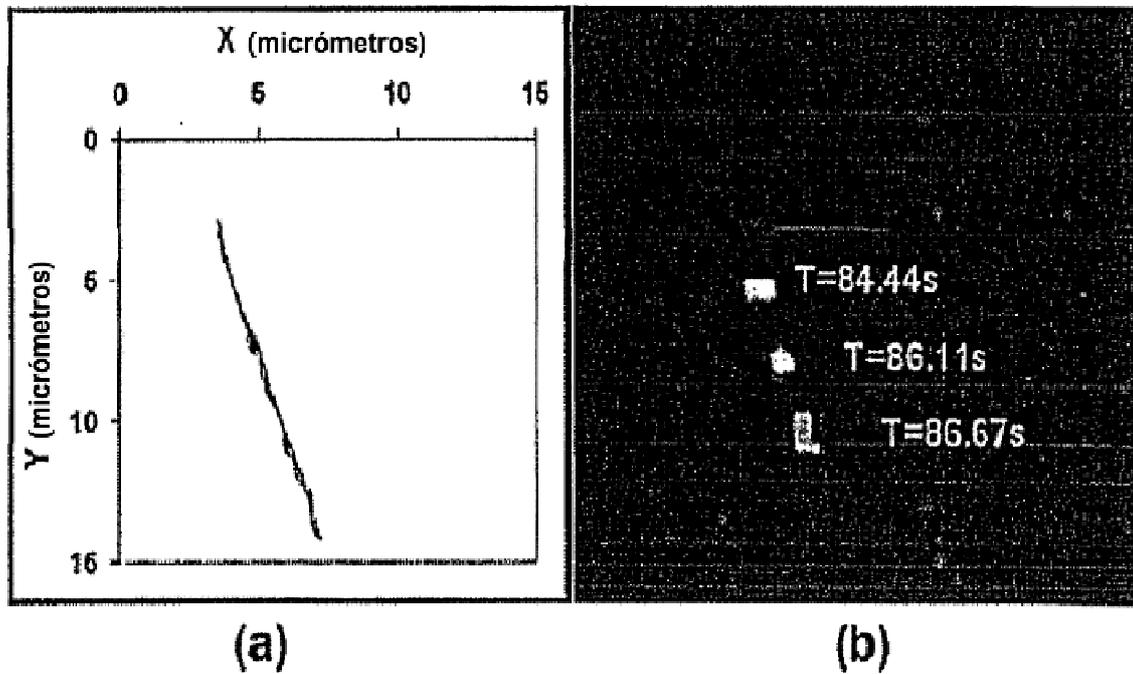


FIG. 7

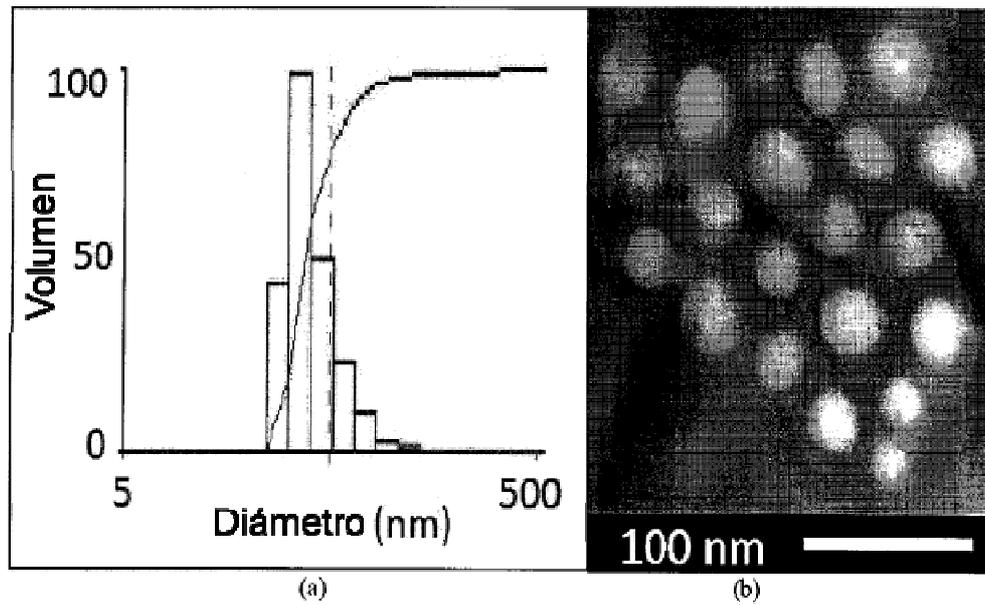


FIG. 8

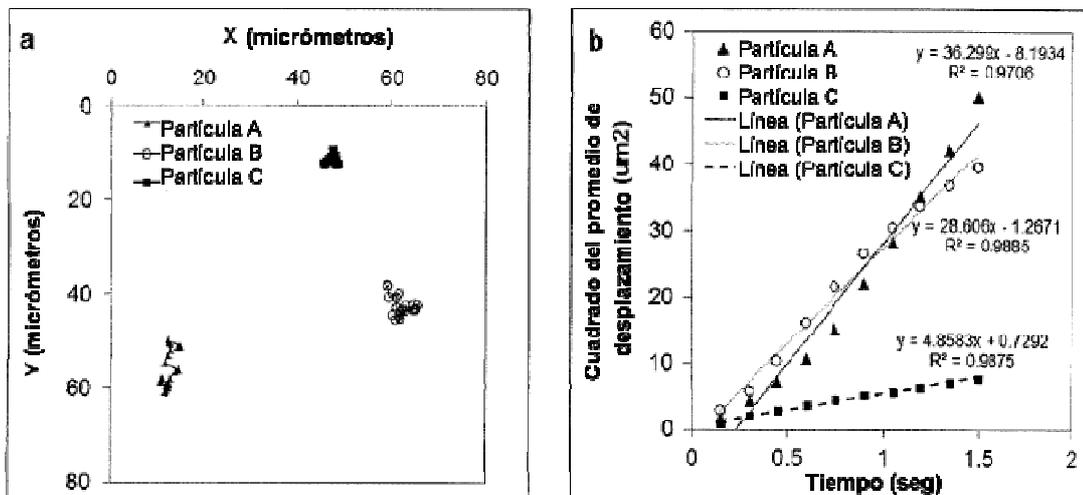
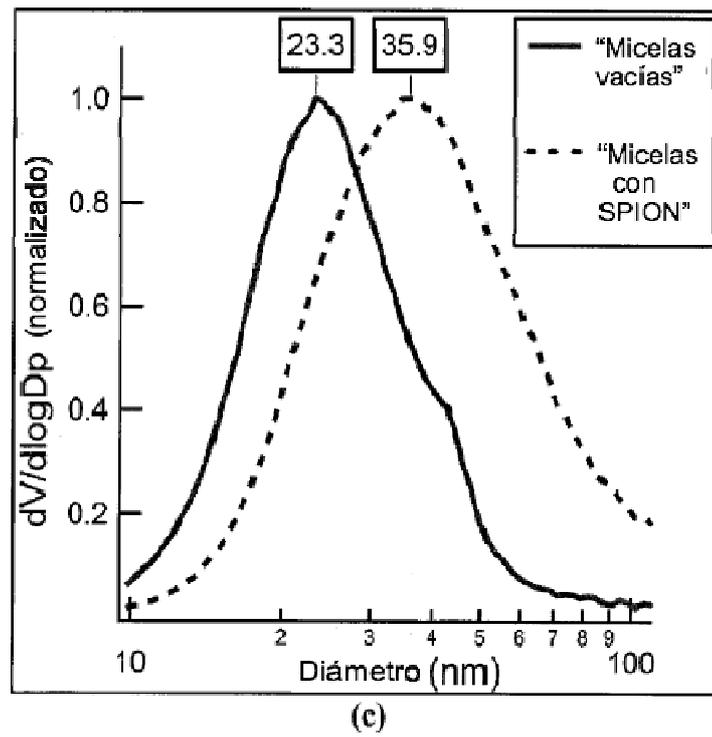
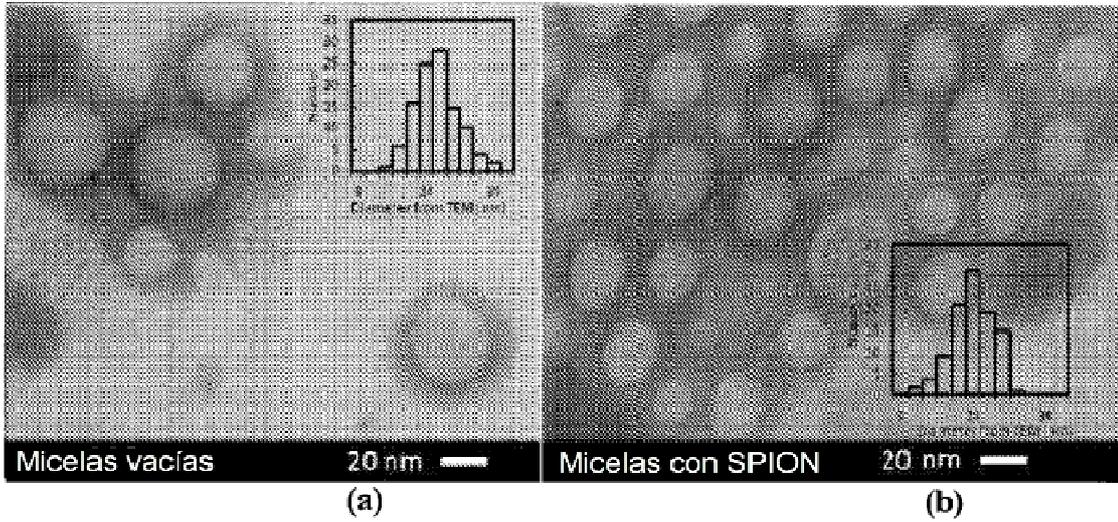


FIG. 9



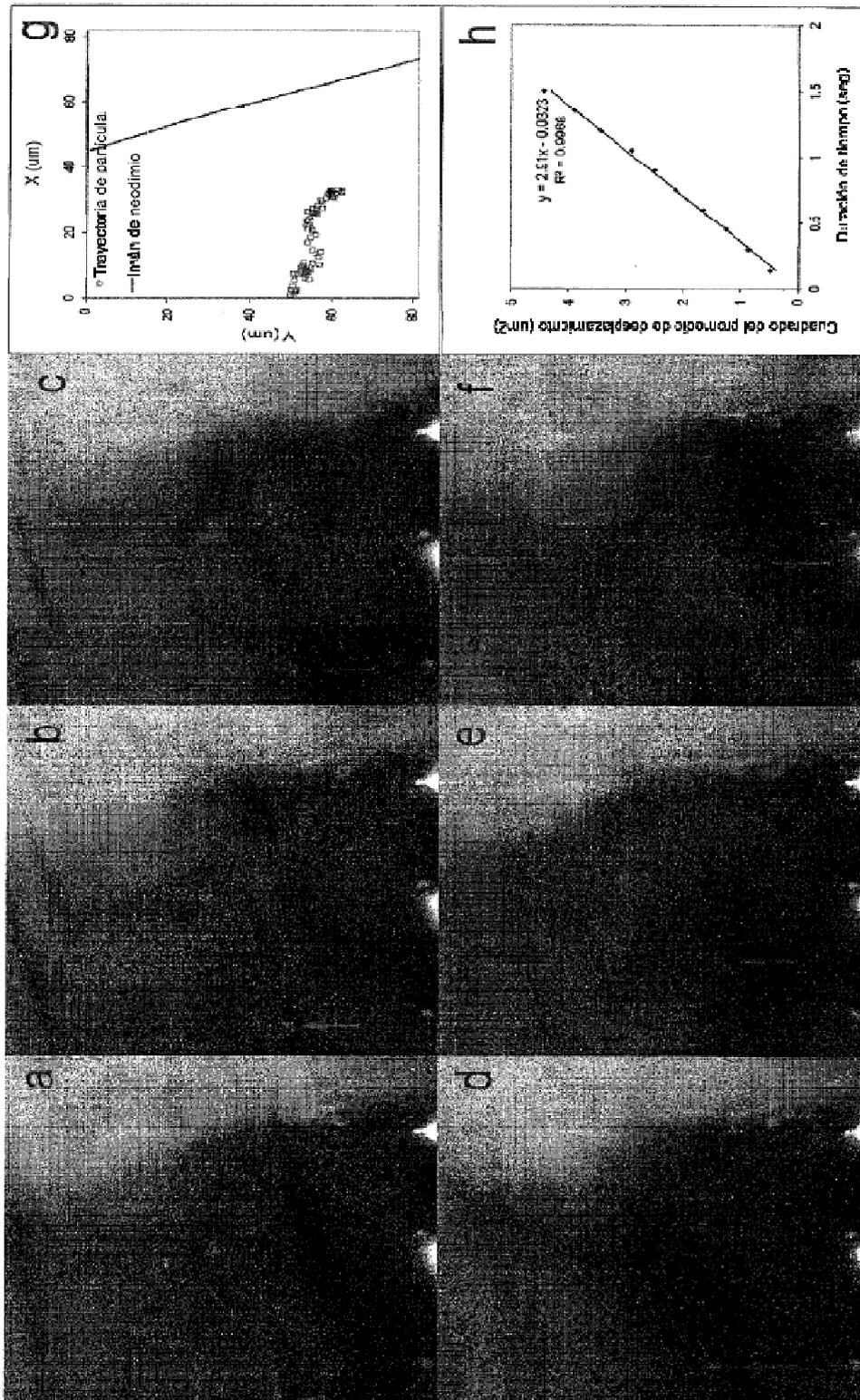


FIG. 11

FIG. 10

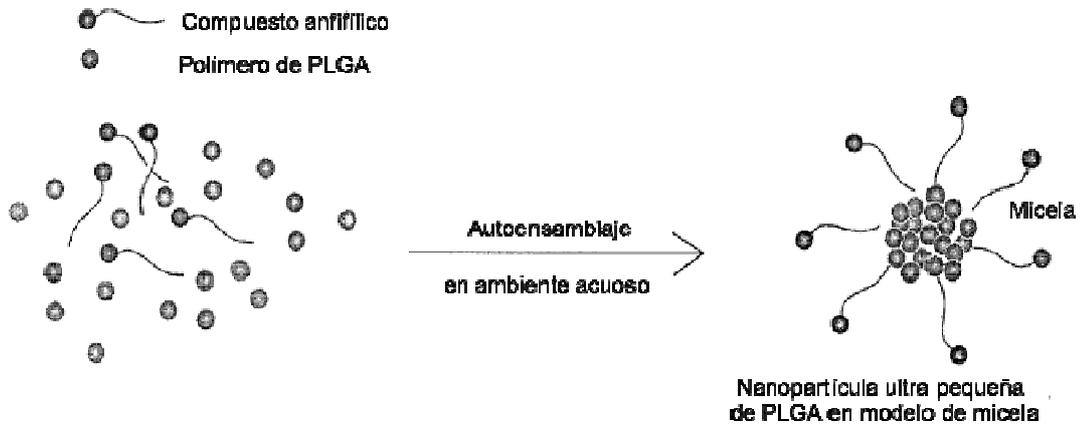
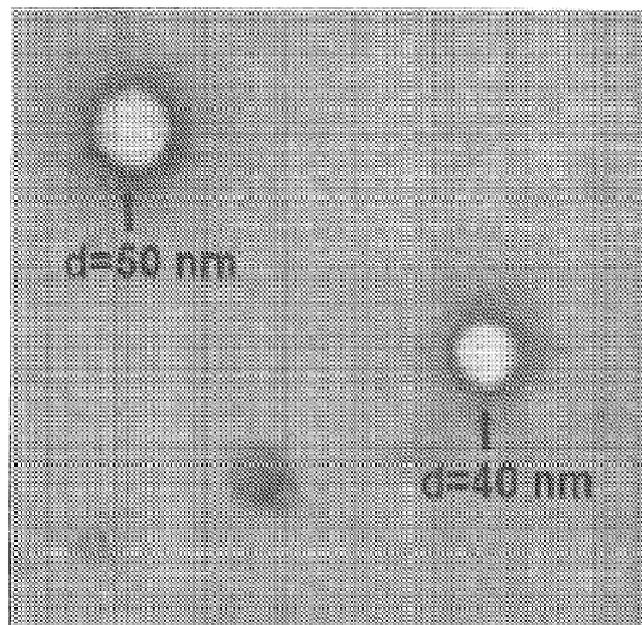


FIG. 12



100 nm

FIG. 13

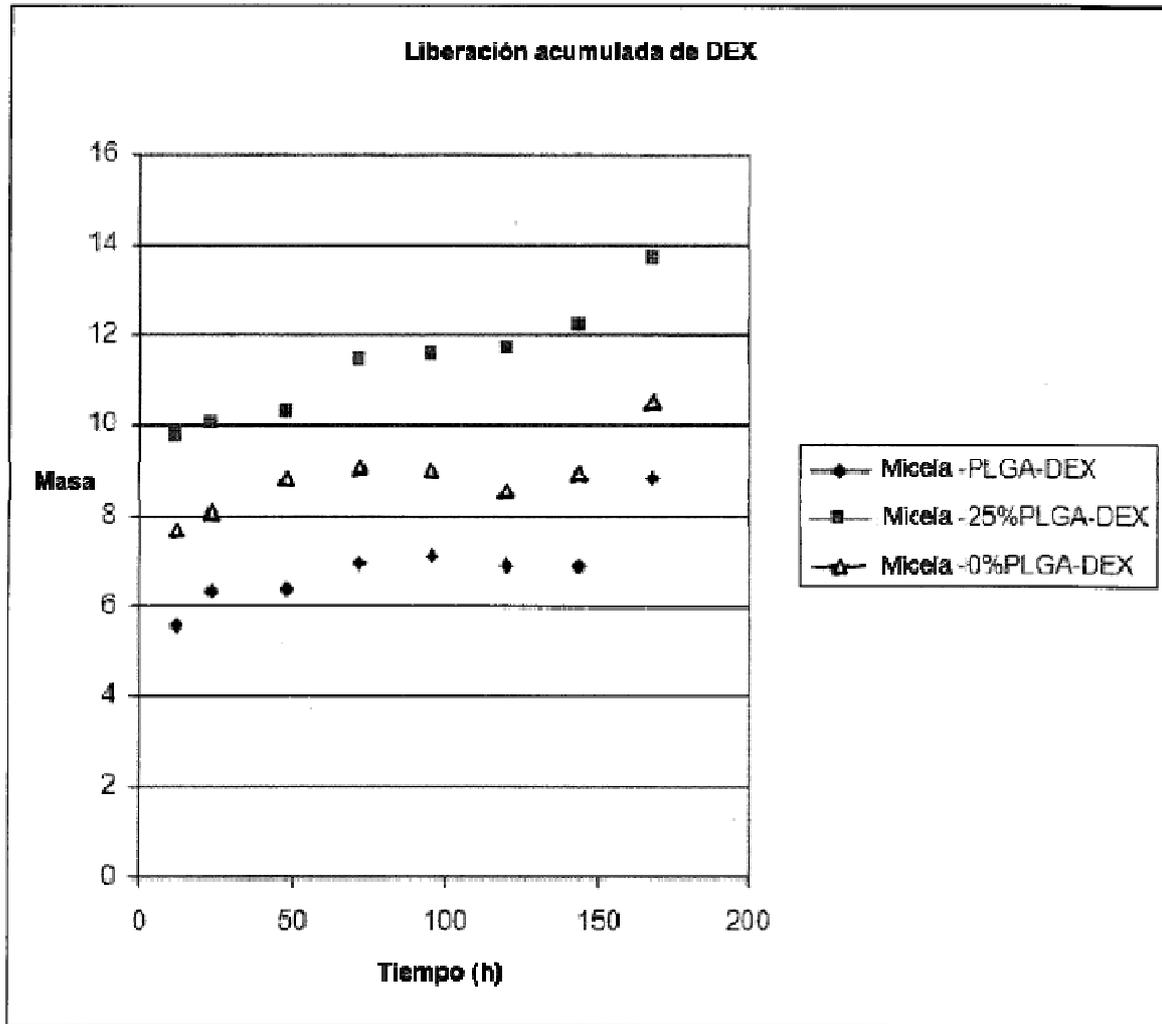


FIG. 14