

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 803 506**

51 Int. Cl.:

A61K 41/00 (2010.01)

A61K 49/18 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.03.2014 PCT/GB2014/050698**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14140543**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2014 E 14711560 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 2968560**

54 Título: **Soluciones hipoosmóticas para la detección de ganglios linfáticos**

30 Prioridad:

11.03.2013 US 201361775780 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.01.2021

73 Titular/es:

**ENDOMAGNETICS LTD. (100.0%)
The Jeffreys Building, St John's Innovation Park,
Cowley Road, Cambridge
CB4 0WS, GB**

72 Inventor/es:

**SHAWCROSS, ANDREW P.;
GONZALEZ-CARVAJAL, JOHN;
BROWN, MARC y
TURNER, ROB**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 803 506 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

Soluciones hipoosmóticas para la detección de ganglios linfáticos

Campo de la invención

5 La invención se relaciona con el campo del diagnóstico médico en general y con composiciones para uso en métodos y dispositivos de diagnóstico para localizar tejido para escisión quirúrgica como se define en las reivindicaciones.

Antecedentes

10 Aproximadamente 1.25 millones de casos nuevos de cáncer de seno son diagnosticados cada año. En una mayoría de estos casos, existe una necesidad urgente de cirugía para extirpar el tumor y extirpar los ganglios linfáticos centinelas e inspeccionarlos histológicamente para determinar si el cáncer se ha propagado a otros sitios del cuerpo. Los ganglios linfáticos centinelas son los primeros ganglios que reciben drenaje linfático del tumor. Se llaman así porque alertan de manera confiable al médico sobre cualquier propagación del cáncer. Una biopsia de ganglio linfático centinela es un estándar de atención en las operaciones de cáncer de mama en la actualidad.

15 La localización de los ganglios centinelas durante la cirugía es difícil. Un método para localizar el ganglio centinela es inyectar un pigmento azul oscuro en el sistema linfático en la mama. Luego, el pigmento se dispersa por todo el sistema linfático mamario y el cirujano extirpa los ganglios coloreados. Este método se reconoce como propenso a errores.

20 Un método mejorado implica inyectar un pigmento radioactivo en los ganglios linfáticos. De manera similar, el pigmento drena a través del sistema linfático y el cirujano luego usa un detector de radiación para ayudar a localizar los ganglios centinelas. Sin embargo, el uso de radioisótopos presenta una carga logística significativa y costosa, debido a la necesidad de asignar el tiempo y recursos de un radiólogo de medicina nuclear además del cirujano para lo que de otro modo sería una operación de rutina. Además, muchos pacientes son reacios a recibir una inyección radiactiva. Estos factores pueden convertirse en una barrera importante para el uso de radioisótopos para localizar los ganglios centinelas.

25 Un método mejorado adicional consistió en inyectar suspensiones de partículas magnéticas en los ganglios linfáticos y esperar a que las partículas magnéticas se drenen a través del sistema linfático. Las partículas luego se detectan utilizando un magnetómetro, que revela la ubicación de los ganglios linfáticos. Ver el documento US2011/0133730. Las soluciones de la técnica anterior, como Sienna+®, tienen una osmolalidad muy baja de aproximadamente 30 mOsm/kg. Sienna+® es una solución acuosa de nanopartículas de maghemita recubiertas con carboxidextrano, que tiene una concentración de hierro de aproximadamente 25.5 a 29.5 mg/ml. Las partículas magnéticas en una inyección de Sienna+® tardan aproximadamente 30 minutos en drenar lo suficiente a través del sistema linfático para garantizar una detección precisa de los ganglios linfáticos, lo que puede causar un tiempo de inactividad significativo y costoso durante procedimientos quirúrgicos. En consecuencia, médicos impacientes pueden intentar detectar los ganglios linfáticos demasiado pronto, es decir, antes de que las partículas magnéticas se hayan drenado lo suficiente a través del sistema linfático, lo que podría provocar una detección incompleta de los ganglios linfáticos. El documento EP2339343A1 se relaciona con partículas magnéticas y método para producirlas. https://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/msds/2007/11361_DVIAL_1_MTR-NAIV_EN.pdf (recuperado el 10/06/2014) se relaciona con una hoja de datos de seguridad de materiales. El documento WO2011/067576A1 se relaciona con un aparato de sonda magnética. TZONG T. TSAY ET AL, Life Sciences, vol. 61, no. 19, 1 de octubre de 1997, P1929-1934 se relaciona con el flujo linfático cervical profundo luego de la infusión de manitol en conejos.

Por lo tanto, existe una necesidad de composiciones que permitan procedimientos más eficientes.

40 La presente invención aborda esta necesidad.

Sumario de la invención

45 La invención se relaciona con una suspensión hipoosmótica para uso en el diagnóstico de cáncer de acuerdo con la reivindicación 1, a una suspensión hipoosmótica para uso en el tratamiento por hipertermia magnética de acuerdo con la reivindicación 10 y a un método para localizar un ganglio linfático en un paciente de acuerdo con la reivindicación 11.

Las realizaciones de las suspensiones hipoosmóticas pueden incluir una o más de las siguientes características:

Las partículas magnéticas pueden ser partículas de óxido de hierro, tales como partículas de óxido de hierro superparamagnéticas (por ejemplo, maghemita).

Las partículas magnéticas pueden recubrirse, como con dextrano (por ejemplo, carboxidextrano).

50 Las suspensiones pueden tener aproximadamente 13 mg/ml de partículas magnéticas, aproximadamente 28 mg/ml de partículas magnéticas, 56 mg/ml de partículas magnéticas, 100 mg/ml de partículas magnéticas, 140 mg/ml de partículas magnéticas o aproximadamente 200 mg/ml de partículas magnéticas.

La suspensión puede tener una osmolalidad de aproximadamente 80 mOsm/kg a aproximadamente 160 mOsm/kg.

La suspensión puede incluir un excipiente.

La sal inorgánica puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0.01 % p/v-0.6 % p/v, aproximadamente 0.05 % p/v-0.3 % p/v, aproximadamente 0.1 % p/v-0.3 % p/v, menos de aproximadamente 0.6 % p/v o aproximadamente menos de aproximadamente 0.3 % p/v.

5

La invención también proporciona un método para localizar un ganglio linfático en un paciente (por ejemplo, un humano). El método incluye las etapas de: proporcionar una suspensión hipoosmótica; inyectar la suspensión hipoosmótica en el paciente; esperar hasta que las partículas magnéticas queden atrapadas en un ganglio linfático; y detectar la ubicación del ganglio linfático detectando la ubicación de las partículas magnéticas.

10 El método puede incluir una o más de las siguientes características:

El método puede incluir inyectar 0.2 ml de suspensión hipoosmótica, 0.4 ml de suspensión hipoosmótica o 0.8 ml de suspensión hipoosmótica en el paciente.

La detección se puede realizar usando un magnetómetro.

15 La invención también proporciona un método para localizar rápidamente un ganglio linfático en un paciente (por ejemplo, un humano). El método puede incluir las etapas de: proporcionar una suspensión hipoosmótica que comprende partículas magnéticas; inyectar la suspensión hipoosmótica en el paciente; y detectar un ganglio linfático en 10 minutos, o en tan solo 5 minutos, de inyección mediante la detección de la ubicación de las partículas magnéticas, la detección es suficiente para comenzar inmediatamente un procedimiento médico en el ganglio linfático a base de la detección.

20 La invención también proporciona una composición de acuerdo con las reivindicaciones para uso en un método de tratamiento de un paciente que usa hipertermia magnética, el método comprende las etapas de: proporcionar la suspensión hipoosmótica; inyectar la suspensión hipoosmótica en el paciente; y exponer al paciente a un campo magnético alterno.

25 Las suspensiones pueden tener aproximadamente 13 mg/ml de partículas magnéticas, aproximadamente 28 mg/ml de partículas magnéticas, 56 mg/ml de partículas magnéticas, 100 mg/ml de partículas magnéticas, 140 mg/ml de partículas magnéticas o aproximadamente 200 mg/ml de partículas magnéticas.

La suspensión tiene una osmolalidad de 80 mOsm/kg a 160 mOsm/kg.

La suspensión puede incluir un excipiente.

30 La sal inorgánica puede estar presente en la cantidad de aproximadamente 0.05 % p/v-0.3 % p/v, aproximadamente 0.1 % p/v-0.3 % p/v, menos de aproximadamente 0.6 % p/v o aproximadamente menos de aproximadamente 0.3 % p/v.

La invención también proporciona un método para localizar un ganglio linfático en un paciente (por ejemplo, un humano) de acuerdo con la reivindicación 11.

El método puede incluir una o más de las siguientes características:

35 El método puede incluir inyectar 0.2 ml de suspensión hipoosmótica, 0.4 ml de suspensión hipoosmótica o 0.8 ml de suspensión hipoosmótica en el paciente.

La detección se puede realizar usando un magnetómetro.

Breve descripción de los dibujos

40 Las figuras no están necesariamente a escala, sino que generalmente se hace hincapié en principios ilustrativos. Las figuras deben considerarse ilustrativas en todos los aspectos y no pretenden limitar la invención, cuyo alcance está definido solo por las reivindicaciones.

Figura 1. Mediciones del magnetómetro SentiMag® (Unidad Abs) en la glándula linfática para diversas soluciones hipoosmóticas a base de sal. Los resultados se presentan como media \pm SEM de 0 a 2 h, n=3.

45 Figura 2. Mediciones del magnetómetro SentiMag® (Unidad Abs) en el ganglio linfático para diversas soluciones hipoosmóticas a base de sal y no a base de sal. Los resultados se presentan como media \pm SEM de 0 a 120 min, n=3.

Descripción detallada

La invención se relaciona en parte con el descubrimiento de composiciones útiles para la detección rápida de ganglios linfáticos en pacientes. Estas composiciones incluyen suspensiones de partículas magnéticas en una solución

- 5 hipoosmótica. La osmolalidad de las soluciones hipoosmóticas facilita el drenaje rápido o transporte de las partículas magnéticas a través del sistema linfático después de la inyección, lo que reduce el tiempo de inactividad entre la inyección inicial y la detección de ganglios linfáticos. Los ganglios linfáticos adyacentes al sitio de inyección se pueden detectar de manera robusta en tan solo 5 a 15 minutos después de la inyección inicial, que es al menos un 50 % más rápido que métodos actuales, lo que permite un examen preoperatorio más eficiente. Además, las soluciones hipoosmóticas de la invención son disolventes versátiles y pueden usarse con una gama más amplia de excipientes que las soluciones isotónicas o hipertónicas. Además, el movimiento rápido hacia los ganglios linfáticos puede reducir las marcas residuales o tatuajes en el sitio de inyección.
- 10 Las soluciones hipoosmóticas dentro del sentido de la invención son soluciones acuosas que tienen una osmolalidad de aproximadamente 80 mOsm a aproximadamente 160 mOsm. Las soluciones isotónicas tienen una osmolalidad de aproximadamente 300 mOsm, y las soluciones hiperosmóticas tienen una osmolalidad de más de 350 mOsm.
- 15 Se usa una sal inorgánica (por ejemplo, cloruro de sodio) o propilenglicol para crear la solución hipoosmótica. Soluciones de sales inorgánicas (por ejemplo, cloruro de sodio) que tienen de 0.01 % p/v a 0.6 % p/v de una sal producen soluciones hipoosomóticas adecuadas para usar con la invención. Las soluciones de propilenglicol que tienen 0.5 % p/v a 1.5 % p/v de propilenglicol producen soluciones hipoosomóticas adecuadas para uso con la invención.
- 20 Las soluciones hipoosmóticas pueden prepararse usando sales inorgánicas adecuadas que incluyen, por ejemplo, sales monovalentes y divalentes tales como cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro de amonio, bicarbonato de sodio, bisulfato de sodio, sulfato de sodio, sulfato de amonio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, cloruro de calcio y sulfato de magnesio.
- Se pueden hacer soluciones hipoosmóticas usando propilenglicol.
- 25 Las partículas magnéticas pueden estar compuestas de un material magnético adecuado y uno o más recubrimientos. En algunas realizaciones, las partículas magnéticas contienen un óxido de hierro tal como magnetita y/o maghemita. El núcleo magnético puede estar rodeado por un recubrimiento biocompatible para reducir toxicidad, evitar la aglomeración de las partículas o modificar el tiempo de residencia en el cuerpo. Los recubrimientos adecuados incluyen, por ejemplo, dextrano, carboxidextrano, otros azúcares, albúmina, polietilenglicol (PEG), polímeros biocompatibles, almidón pegilado, alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), polietilenimina (PEI), poliglucosa sorbitol carboximetiléter y quitosano. Otros materiales de recubrimiento incluyen metales como el oro, nanopartículas de oro coloidal pegiladas, plata, carbono, sílica, siliconas, aminosilanos y cerámicas. Para exhibir un comportamiento superparamagnético, los núcleos magnéticos de las partículas deben estar por debajo de cierto diámetro, típicamente en el intervalo de 3-25 nm, dependiendo del material y estructura.
- 30 Las partículas magnéticas también se pueden funcionalizar para permitirles localizar en tejidos particulares o tipos de células, por ejemplo, células cancerosas, o direccionar sistemas biológicos particulares para administrar terapias a esas áreas. La funcionalización se logra uniendo o recubriendo con biovectores que comprenden, por ejemplo, anticuerpos, enzimas o proteínas.
- 35 En una realización, el óxido de hierro se usa como el núcleo magnético debido a su baja toxicidad, pero otros materiales que pueden formar un núcleo superparamagnético también son aceptables. El material del núcleo debe ser capaz de ser ordenado magnéticamente. Puede ser un metal, como cobalto, hierro o níquel, una aleación de metal, tierras raras y aleación de metal de transición, ferrita de tipo M o espinela que contiene aluminio, bario, bismuto, cerio, cromo, cobalto, cobre, disprosio, erbio, europio, gadolinio, holmio, hierro, lantano, lutecio, manganeso, molibdeno, neodimio, níquel, niobio, paladio, platino, praseodimio, prometio, samario, estroncio, terbio, tulio, titanio, vanadio, iterbio e itrio o una mezcla de estos. El núcleo también se puede formar oxidando una combinación de una sal de hierro (II) y otra sal metálica. Las sales metálicas que son beneficiosas incluyen sales de aluminio, bario, bismuto, cerio, cromo, cobalto, cobre, disprosio, erbio, europio, gadolinio, holmio, hierro, lantano, lutecio, manganeso, molibdeno, neodimio, níquel, niobio, paladio, platino, praseodimio, prometio, samario, estroncio, terbio, tulio, titanio, vanadio, iterbio e itrio.
- 40 La osmolalidad de las soluciones hipoosmóticas tiene la ventaja adicional de permitir la combinación con una amplia gama de excipientes, lo que da como resultado diversas opciones de formulación. Los excipientes adecuados que pueden usarse con las soluciones hipoosmóticas de la invención incluyen, por ejemplo:
- 45
- 50 • codisolventes tales como etanol, propilenglicol, polipropilenglicol, PEG 400, glicerol, alcohol bencílico y combinaciones de estos;
- 55 • aceites tales como lípidos, parafina líquida, aceite de sésamo, aceite vegetal PEG y combinaciones de estos; tensoactivos tales como ésteres de ácidos grasos de polioxileno, aceite de ricino polioxil 40, polisorbato 20, polisorbato 80 y combinaciones de estos;
- liposomas tales como lecitina, lecitina de huevo, fosfatidilglicerol, fosfolípido, fosfolípido de huevo y combinaciones de estos;
- carbohidratos como dextrosa;
- aminoácidos o mezclas de aminoácidos, como Aminosyn® II, Travasol® y HepatAmine®;

- agentes espesantes/estabilizantes tales como carboximetilcelulosa; y
- reguladores adecuados para inyección.

Si un excipiente aumenta la osmolalidad de una solución, la cantidad de sal inorgánica y/o glicol se puede ajustar de modo que la osmolalidad total de la solución hipoosmótica esté entre 80 mOsm y 160 mOsm.

- 5 Las composiciones de la invención pueden usarse para detectar ganglios linfáticos en humanos o cualquier otro mamífero, tal como cerdos. Por ejemplo, una solución hipoosmótica que comprende partículas magnéticas puede inyectarse en un paciente con cáncer de mama. Las partículas magnéticas en la solución se detectan utilizando un magnetómetro como SentiMag® (Endomagnetics; Cambridge, Reino Unido) para revelar la ubicación de los ganglios linfáticos centinela en el paciente.
- 10 Una aplicación adicional de la solución hipoosmótica es en la hipertermia magnética donde la solución se administra al cuerpo con el fin de calentar el tejido. En esta aplicación, la concentración de nanopartículas está entre 20 y 200 mg/ml y más preferiblemente entre 100 y 140 mg/ml.

Las composiciones hipoosmóticas de la invención pueden suministrarse listas para usar como parte de un kit que comprende un recipiente, tal como un vial o una jeringa, e instrucciones para administrar las composiciones.

15 Ejemplos

Ejemplo 1

- Se demostró que los ensayos clínicos con pacientes humanos que utilizan 2 ml de Sienna+® (Endomagnetics; Cambridge, Reino Unido) proporcionan una absorción lenta en los ganglios linfáticos axilares, con una señal externa deficiente después de 30 minutos. Sienna+® es altamente hipotónico, con una osmolalidad de -30 mOsm/kg. Se especuló que cuando se inyectó Sienna+® en el tejido intersticial, las células circundantes absorbieron rápidamente el agua de la inyección para mantener la presión osmótica. Esto dejaría una masa más concentrada de Sienna+® y al mismo tiempo reduciría la presión intersticial, reduciendo efectivamente el transporte al sistema linfático. Se cree que un aumento en volumen aumenta la presión intersticial y, por lo tanto, aumenta la velocidad de absorción por parte del sistema linfático. Sin embargo, grandes aumentos en volumen pueden resultar incómodos para el paciente. Además,
- 20 algunas aplicaciones potenciales para la biopsia de ganglio linfático centinela (por ejemplo, intestino, melanoma, algunos cánceres de cabeza y cuello) no permitirán un aumento en el volumen de inyección. Se planteó la hipótesis de que una solución de osmolalidad aumentada proporcionaría una respuesta más rápida ya que el volumen y presión del fluido en el fluido intersticial se mantendrían (isotónicos) o incluso aumentarían (para inyección hipertónica, donde las células circundantes expulsarían agua), aumentando así el flujo hacia los ganglios linfáticos

30 Métodos

- Las mamas de cerdo se utilizaron como un modelo de ganglios linfáticos in vivo. Se realizó una investigación para evaluar los efectos de concentración y volumen de la solución de nanopartículas de maghemita recubierta con carboxidextrano en la biodistribución de partículas de óxido de hierro superparamagnético en cerdos, después de una inyección de la solución directamente en la tercera papilar inguinal. El núcleo de maghemita tenía un diámetro de
- 35 aproximadamente 5 nm, y el recubrimiento de carboxidextrano aumentó el diámetro de las partículas a aproximadamente 60-70 nm. El objetivo de este estudio fue evaluar la biodistribución de las partículas de óxido de hierro superparamagnético en ganglios linfáticos de cerdo después de inyecciones de la solución de nanopartículas de maghemita preparada con cloruro de sodio al 0.3, 0.6 y 0.9 % p/v. La influencia de la tonicidad sobre la biodistribución en los ganglios linfáticos de las partículas se evaluó mediante el uso de una sonda magnética SentiMag®.

- 40 Antes de la inyección, los cerdos se sedaron con una combinación intramuscular de azaperona y ketamina, seguido de anestesia general con tiopental de sodio intravenoso. Antes de la administración, las áreas de administración se lavaron y demarcaron.

- 45 Todas las inyecciones se realizaron directamente en la base de la tercera papila inguinal. Cada cerdo recibió una inyección diferente en la papila izquierda y la papila derecha. Cada una de las soluciones de prueba se inyectó en tres papilas de diferentes cerdos (n=3). La Tabla 1 muestra las formulaciones probadas. En la Tabla 1, la columna "Sistema" corresponde a las curvas de la figura 1.

Tabla 1: Formulaciones probadas.

Sistema	Tonicidad	Volumen de inyección	Hierro total	Concentración de hierro
a	sol. salina al 0.3 % p/v	0.4 mL	10.4 mg	26 mg/mL

Sistema	Tonicidad	Volumen de inyección	Hierro total	Concentración de hierro
b	sol. salina al 0.6 % p/v	0.4 mL	10.4 mg	26 mg/mL
c	sol. salina al 0.9 % p/v	0.4 mL	10.4 mg	26 mg/mL
d	sol. salina al 0.9 % p/v	0.8 mL	20.8 mg	26 mg/mL
e	0	0.2 mL	10.4 mg	52 mg/mL
f	0	0.4 mL	20.8 mg	52 mg/mL
g	0	0.4 mL (Sienna+®, control)	10.4 mg	26 mg/mL
h	0	0.8 mL	10.4 mg	13 mg/mL

5 Las soluciones de nanopartículas de maghemita recubiertas con carboxidextrano se prepararon en agua. Se añadió NaCl a la solución de maghemita a la concentración apropiada. Por ejemplo, se creó una suspensión de partículas magnéticas de sal al 0.3 % agregando 0.3 mg de NaCl a una solución de nanopartículas de maghemita prediluida. Sienna+® (-26 mg/ml de maghemita, dosis de 0.4 ml; sistema g) sirvió como control.

Se tomaron múltiples lecturas para cada cerdo usando un dispositivo SentiMag®, como se detalla en la Tabla 2. Después de las lecturas de 72 horas, se extrajo el sitio de la papila y ganglios linfáticos de todos los animales para el análisis histológico. Los resultados en la figura 1 son promedios (n=3) de las medidas tomadas en los ganglios linfáticos.

10 Tabla 2. Sitios de medición con SentiMag® y puntos de tiempo

Lugar de medición	Antes de la inyección	Después de la inyección									
		30 s	2 min	5 min	15 min	30 min	1 h	2 h	6 h	24 h	72 h
Directamente en papilar	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Segundo papilar inguinal	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Ganglio linfático	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Resultados

15 Se descubrió que Sienna+® en solución salina al 0.3 % p/v (figura 1, sistema a) era tan eficaz como las soluciones salinas al 0.6 % y al 0.9 % (figura 1, sistemas b y c, respectivamente). Esto fue sorprendente porque una solución de 0.3 % p/v es hipotónica (156 mOsm) en comparación con 0.6 % p/v (270 mOsm: aproximadamente isotónica) y 0.9 % p/v (384 mOsm: hipertónica). Tales resultados fuertes para una solución de 0.3 % p/v son inesperados. Se cree que la baja tonicidad extenderá el intervalo de aditivos de formulación (excipientes) que pueden usarse, en comparación con las soluciones de 0.6 % y 0.9 %.

20 Específicamente, el aumento de la tonicidad resulta en un transporte significativamente más rápido de partículas de hierro a través del sistema linfático. A 5 minutos post inyección, la adición de sal al 0.3 %, 0.6 % y 0.9 % a Sienna+® (figura 1, sistemas a, b y c, respectivamente) da como resultado un aumento de cinco veces en la señal medida en la glándula linfática en comparación con el control, Sienna+® (figura 1, sistema g). Como un resultado, un médico tratante solo necesita esperar de 5 a 15 minutos antes de comenzar un procedimiento, lo que reduce el tiempo de espera en al menos un 50 % en comparación con Sienna+® solo.

Además, en el punto de tiempo de 30 minutos, el impacto de agregar cloruro de sodio al 0.3 %, 0.6 % o 0.9 % p/v a Sienna+® (figura 1, sistemas a, b y c, respectivamente) es equivalente a duplicar la concentración de hierro (figura 1, sistema f). En consecuencia, el aumento de la tonicidad requiere que se use menos hierro total por inyección, lo que reduce costes y efectos secundarios.

5 Por lo tanto, una solución hipoosmótica de <0.6 % de NaCl y más preferiblemente solución de <0.3 % de NaCl proporciona el mismo transporte rápido a los ganglios linfáticos que una solución isotónica (por ejemplo, NaCl al 0.6 %) o incluso una solución hipotónica (por ejemplo, NaCl al 0.9 %) pero sin requerir que se incluya una cantidad tan grande de sal en la solución.

10 Una solución más hipotónica que contenía NaCl al 0.05 % p/v no mostró una mejora significativa sobre Sienna+ ®. El "punto de activación" para el beneficio de la tonicidad es, por lo tanto, en algún lugar entre aproximadamente 80 mOsm y aproximadamente 156 mOsm. Por lo tanto, una solución de NaCl al 0.05 % a 0.3 % o preferiblemente una solución de NaCl al 0.1 % a 0.3 %, o más preferiblemente una solución de NaCl al 0.2 % a 0.3 % exhibe tanto absorción rápida y versatilidad como un excipiente.

Ejemplo 2

15 Se llevaron a cabo estudios similares in vivo para investigar soluciones hipoosmóticas que comprenden solutos alternativos. Todas las inyecciones se realizaron directamente en la base de la tercera papila inguinal. Cada cerdo recibió una inyección diferente en la papila izquierda y la papila derecha. Cada solución de prueba se inyectó en las tres papilas de diferentes cerdos (n=3). La Tabla 3 muestra las formulaciones probadas. En la Tabla 3, la columna "Sistema" corresponde a las curvas de la figura 2.

20 Tabla 3. Formulaciones de solución.

Sistema	Solución	Tonicidad (mOsm/kg)
1	Sienna+ con NaCl al 0.3 % y HA al 0.1 %	132
3	Sienna+ con NaCl al 0.3 % y polisorbato 20 al 1 %	135
5	Sienna+ con propilenglicol al 0.5 %	128
6	Sienna+ con NaCl al 0.3 % (control)	126
7	Sienna+ glicerol al 0.75 %	136
13	Sienna+ propilenglicol al 0.5 % y glicerol al 1.8 %	297

El sistema 6, Sienna+® con NaCl al 0.3 % sirvió como el control. Se tomaron múltiples lecturas para cada cerdo usando un dispositivo SentiMag®, como se detalla en la Tabla 4. Los resultados en la figura 2 son promedios (n=3) de las medidas tomadas en los ganglios linfáticos.

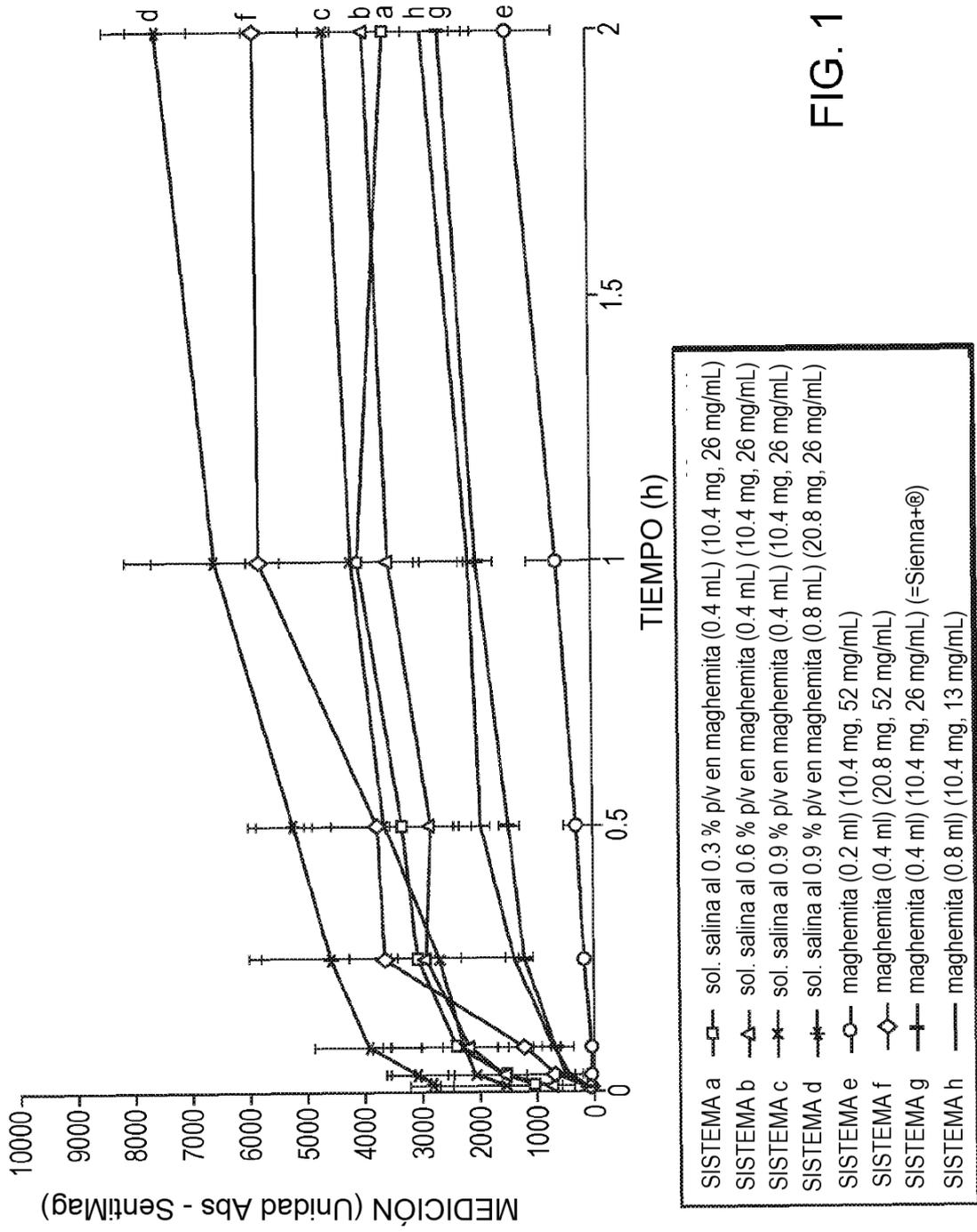
25 Tabla 4. Sitios de medición con SentiMag® y puntos de tiempo

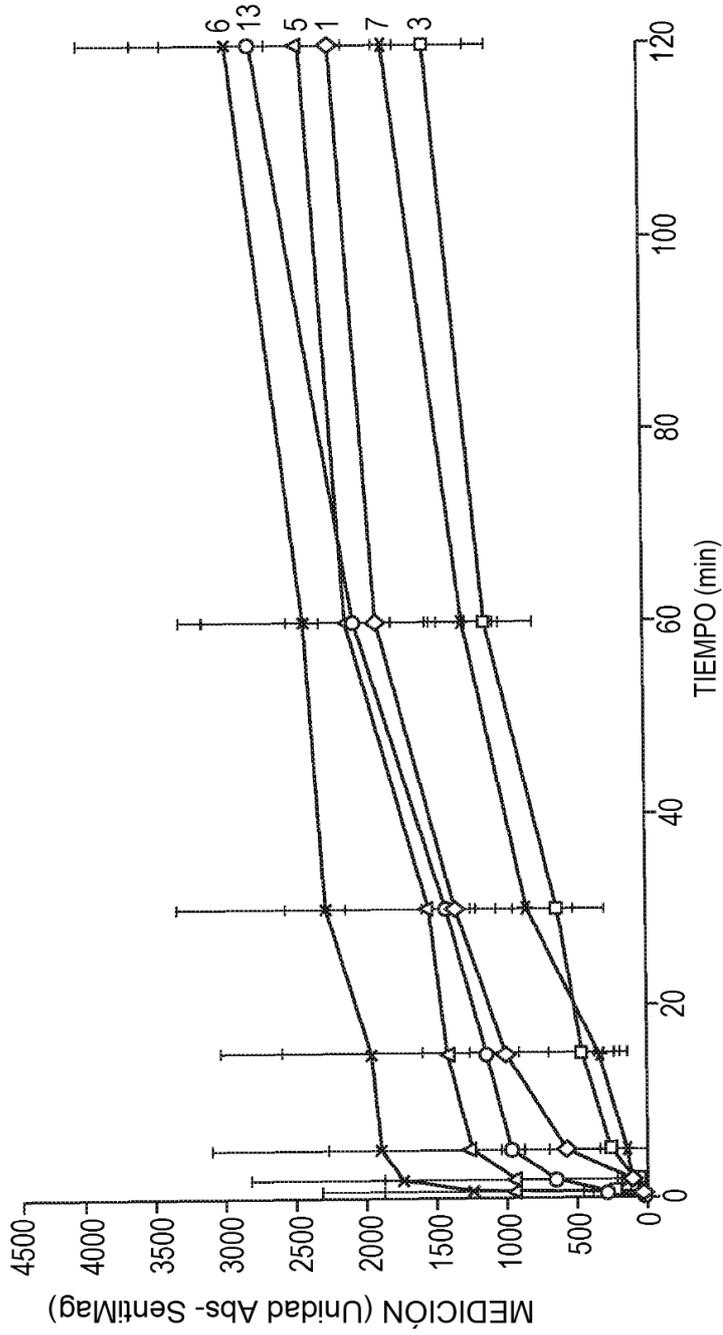
Lugar de medición	Antes de la inyección	Después de la inyección							
		30 s	2 min	5 min	15 min	30 min	1h	2 h	72 h
Sitio de inyección	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Segundo papilar inguinal	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Ganglio linfático	x	x	x	x	x	x	x	x	x

- 5 Como se muestra en la figura 2, el sistema 6 (Sienna+ NaCl al 0.3 % - CONTROL) resultó en la administración más rápida a la glándula linfática. Por lo tanto, la sal parece ser el mejor potenciador para la administración. El polietilenglicol al 0.5 % (sistema 5) también parece ser eficaz, lo que resulta en administración rápida a la glándula linfática dentro de los 5-15 minutos de inyección. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los glicoles pueden usarse como un soluto para crear una solución hipoosmótica que comprende partículas magnéticas.
- 10 Las formulaciones de polisorbato (sistema 3) y glicerol (sistema 7) fueron las formulaciones de peor rendimiento durante las primeras dos horas, a pesar de que la tonicidad es igual a la del control de NaCl (sistema 6), lo que indica que el polisorbato y glicerol inhiben potencialmente la administración a las glándulas linfáticas. De manera similar, la adición de ácido hialurónico (MW 108,000 Daltones) parece retrasar la administración cuando se combina con NaCl al 0.3 %.
- 15 Debe observarse que el método de administración de la solución dependerá del sitio particular en el cuerpo en el que se administra. Para la biopsia de ganglio linfático centinela, la inyección puede ser intersticial, subcutánea, intradérmica o intramuscular. Para hipertermia magnética, la solución puede administrarse mediante cualquiera de estos métodos de inyección o mediante un catéter o infusión en una región de tejido, cavidad corporal o vaso sanguíneo.
- 20 Debe entenderse que el orden de las etapas u orden para realizar ciertas acciones es irrelevante, siempre que la invención permanezca operativa. Además, dos o más etapas o acciones pueden llevarse a cabo simultáneamente.
- Donde se proporciona un intervalo o una lista de valores, cada valor intermedio entre los límites superior e inferior de ese intervalo o lista de valores se contempla individualmente y se abarca dentro de la invención como si cada valor se enumerase específicamente aquí.

REIVINDICACIONES

1. Una suspensión hipoosmótica para uso en el diagnóstico de cáncer, siendo la suspensión hipoosmótica una solución acuosa que tiene una osmolalidad de 80 mOsm a 160 mOsm, la suspensión comprende:
- 13 mg/ml a 200 mg/ml de partículas superparamagnéticas; y
- 5 un osmolito seleccionado de 0.01 % p/v a 0.6 % p/v de una sal inorgánica o 0.5 % p/v a 1.5 % p/v de un glicol, en donde el glicol es propilenglicol.
2. La suspensión hipoosmótica para uso de la reivindicación 1, en donde las partículas superparamagnéticas son óxido de hierro.
- 10 3. La suspensión hipoosmótica para uso de la reivindicación 1 o 2, que comprende entre 13 mg/ml y 52 mg/ml de partículas superparamagnéticas.
4. La suspensión hipoosmótica para uso de cualquier reivindicación precedente, que comprende además un excipiente.
5. La suspensión hipoosmótica para uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde las partículas superparamagnéticas están recubiertas.
- 15 6. La suspensión hipoosmótica para uso de la reivindicación 5, en donde el recubrimiento comprende dextrano.
7. La suspensión hipoosmótica para uso de cualquier reivindicación precedente, en donde la sal inorgánica es cloruro de sodio.
8. La suspensión hipoosmótica para uso de cualquier reivindicación precedente, en donde la sal inorgánica se selecciona del grupo que consiste en cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro de amonio, sulfato de sodio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, cloruro de calcio y sulfato de magnesio.
- 20 9. La suspensión hipoosmótica para uso de cualquier reivindicación precedente, en donde la suspensión se usa para la detección de ganglios centinela y comprende 0.05 %-0.3 % p/v de la sal inorgánica.
10. Una suspensión hipoosmótica para uso en el tratamiento por hipertermia magnética, siendo la suspensión hipoosmótica una solución acuosa que tiene una osmolalidad de 80 mOsm a 160 mOsm, la suspensión comprende:
- 25 20 mg/ml a 200 mg/ml de las partículas superparamagnéticas; y
- un osmolito seleccionado de 0.01 % p/v a 0.6 % p/v de una sal inorgánica o 0.5 % p/v a 1.5 % p/v de un glicol, en donde el glicol es propilenglicol.
11. Un método para localizar un ganglio linfático en un paciente, el método comprende las etapas de:
- proporcionar la suspensión hipoosmótica como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9;
- 30 inyectar la suspensión hipoosmótica en el paciente;
- esperar hasta que las partículas superparamagnéticas queden atrapadas en un ganglio linfático; y
- detectar la ubicación del ganglio linfático detectando la ubicación de las partículas superparamagnéticas.





- SISTEMA 1 —◇— (Sienna + NaCl al 0.3 % + HA al 0.1 %)
- SISTEMA 3 —□— (Sienna + NaCl al 0.3 % + Polisorbato 20)
- SISTEMA 5 —△— (Sienna + propilenglicol al 0.5 %)
- SISTEMA 6 —*— (Sienna ++ NaCl al 0.3 % - CONTROL)
- SISTEMA 7 —+— (Sienna + glicerol al 0.75 %)
- SISTEMA 13 —○— (Sienna + propilenglicol al 0.5 % + glicerol - 270 - y 310 mOsm/kg)

FIG. 2