

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad

Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
16 de Julio de 2009 (16.07.2009)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2009/087253 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A61K 49/18 (2006.01) G01R 33/563 (2006.01)
G01R 33/50 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/ES2008/070247

(22) Fecha de presentación internacional:

30 de Diciembre de 2008 (30.12.2008)

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(30) Datos relativos a la prioridad:

P200800024 8 de Enero de 2008 (08.01.2008) ES

(71) Solicitantes (para todos los Estados designados salvo US): **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS** [ES/ES]; C/Serrano 117, 28006 Madrid (ES). **UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACION A DISTANCIA** [ES/ES]; C/Bravo Murillo 38, 4º, 28015 Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **CERDAN GARCIA-ESTELLER, Sebastian** [ES/ES]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS ALBERTO SOLS (IIB), C/ Arturo Duperier, 4, 28029 Madrid (ES). **LOPEZ LARRUBIA, Pilar** [ES/ES]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS ALBERTO SOLS (IIB), C/ Arturo Duperier, 4, 28029 Madrid (ES). **NIETO**

CHARQUES, Laura [ES/ES]; INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS ALBERTO SOLS (IIB), C/ Arturo Duperier, 4, 28029 Madrid (ES). **BALLES-TEROS GARCIA, Paloma** [ES/ES]; C/Bravo Murillo 38, 4º, 28015 Madrid (ES). **PEREZ MAYORAL, Elena** [ES/ES]; C/Bravo Murillo 38, 4º, 28015 Madrid (ES). **NEGRI, Viviana** [IT/ES]; UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACION A DISTANCIA, C/Bravo Murillo 38, 4º, 28015 Madrid (ES).

(74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Angel**; Glorieta Ruben Dario 4, 28010 Madrid (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: TUBULAR NANOSTRUCTURED MATERIALS HAVING ANISOTROPIC MAGNETIC PROPERTIES, METHOD FOR OBTAINING SAME AND USE THEREOF

(54) Título: MATERIALES NANOESTRUCTURADOS TUBULARES CON PROPIEDADES MAGNÉTICAS ANISOTRÓPICAS, PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN Y SUS APLICACIONES

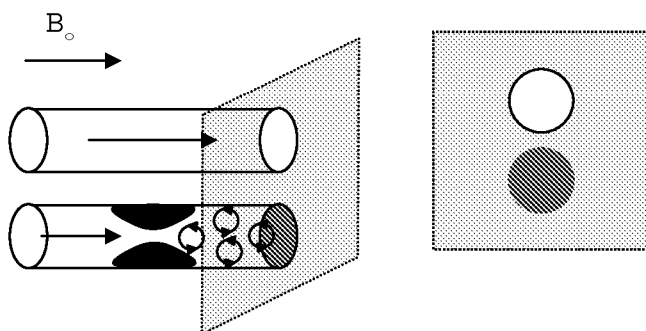


FIG 2

(57) Abstract: The invention relates to a contrast agent comprising a tubularly arranged nanostructured material soluble in aqueous solutions, having anisotropic properties and containing paramagnetic metals or superparamagnetic or ferromagnetic structures, which can be used in the production of an NMR diagnostic pharmaceutical composition for determining the laminar or turbulent flow and/or the rheological properties of fluids flowing through tubular pipes.

(57) Resumen: La presente invención lo constituye un agente de contraste, basado en un material nanoestructurado organizado de forma tubular, soluble en disoluciones acuosas, con propiedades anisotrópicas y con un contenido de metales pa-

ramagnéticos o estructuras superparamagnéticas o ferromagnéticas, que puede emplearse en la elaboración de una composición farmacéutica de diagnóstico de RMN para la determinación del flujo laminar o turbulento y/o las propiedades reológicas de fluidos que circulen en conducciones tubulares.



MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— *antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones*

Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional*

**MATERIALES NANOESTRUCTURADOS TUBULARES CON
PROPIEDADES MAGNÉTICAS ANISOTRÓPICAS, PROCEDIMIENTO
DE OBTENCIÓN Y SUS APLICACIONES**

5

SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención puede aplicarse en muy diversos campos como la biomedicina, en la obtención de imágenes mediante métodos de Resonancia Magnética (RM) para el diagnóstico clínico de enfermedades neurodegenerativas y vasculares, como por ejemplo en el diagnóstico precoz de la aterosclerosis. Asimismo, se puede aplicar en campos como la física o la ingeniería, determinando el flujo laminar o turbulento y, en general, las propiedades reológicas de fluidos que circulen en conducciones tubulares.

15

ESTADO DE LA TÉCNICA

La Imagen por Resonancia Magnética (IRM) constituye una de las herramientas más poderosas en el diagnóstico clínico actual debido principalmente a su naturaleza no invasiva (V. M. Runge, K. L. Nelson. In Magnetic Resonance Imaging; D. D. Stark, W. G. Bradley, Ed.; Mosby: St. Louis, 1999; Vol. 1, pp. 257-275).

Se trata de una técnica que permite obtener imágenes de Resonancia Magnética (RM) de un determinado objeto al introducirlo en un campo magnético estático. De esta manera se obtienen las tres coordenadas del espacio de cada uno de los elementos de volumen de dicho objeto, mediante la aplicación de tres gradientes magnéticos ortogonales y uno o más pulsos selectivos de radiofrecuencia. Así, cada elemento de volumen del objeto queda definido espacialmente por sus tres coordenadas x, y, z, impuestas por la intensidad de los gradientes magnéticos aplicados en cada dirección. El resultado obtenido representa la distribución de las moléculas de agua en el objeto. Cada elemento de la imagen (píxel) tiene una intensidad característica que viene determinada

por la cantidad de agua en el elemento de volumen original (voxel), sus propiedades de relajación magnética longitudinal (r_1) y transversal (r_2) y la dinámica del flujo de agua a través del objeto.

5 Dado que el contenido en agua de los tejidos es muy similar, los principales determinantes del contraste entre dos puntos de una imagen RM son los tiempos de relajación longitudinal (T_1) y transversal (T_2) de los protones del agua (C. Lauterbur, *Nature*, 1973, 242, 190; P. Mansfield, A. A. Maudsley, *British J. Radiol.* 1977, 50, 188).

10 La IRM es una técnica en constante desarrollo; cada vez se obtienen secuencias de imagen más eficaces y se emplean nuevos agentes de contraste (ACs) que permiten aumentar la calidad, resolución y especificidad de las imágenes obtenidas.

15 Los ACs disminuyen considerablemente los tiempos de relajación en los tejidos en donde se distribuyen. En muchos casos, el uso de estos agentes supone una gran mejora en el diagnóstico clínico, en términos de alta especificidad, mejor caracterización de los tejidos, reducción de artefactos en la imagen y aumento de la información funcional de los mismos.

20 Los ACs más empleados en biomedicina son los quelatos paramagnéticos de gadolinio, Gd(III) (H. Gries, *Top. Curr. Chem* 2002, 221, 1; Tóth, E.; Helm, L.; Merbach, A.E. In *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; Merbach, A. E., Toth, E., Ed.; John Wiley&Sons, Ltd.: Chichester, 2001, pp. 45-119). La efectividad de esta familia de compuestos para actuar como ACs se valora, en primer
25 lugar, por su relajatividad, $r_{1(2)}$, es decir, por el incremento neto que inducen en la relajación de los protones del agua. De esta familia de compuestos, los más utilizados en imagen diagnóstica son los complejos de gadolinio derivados del ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) y del ácido 1,4,7,10-tetraaza-1,4,7,10-ciclododecanotetraacético (DOTA) (S.
30 Aime, S. Geninati Crich, E. Gianolio, G. B. Giovenzana, L. Tei, E. Terreno, *Coord. Chem. Rev.* 2006, 250, 1562 ; M. Woods, D. E. Woessner, A. D.

Sherry, Chem. Soc. Rev. 2006, 35, 500; Caravan, P.; Ellison, J. J.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B. Chem. Rev. 1999, 99, 2293; Lauffer, R. B. Chem. Rev. 1987, 87, 901 (Figura 6).

En los últimos 15 años, se han publicado numerosos artículos dirigidos al estudio de la estructura y la dinámica de los complejos de Gd (III) (P. Caravan, Chem. Soc. Rev. 2006, 35, 512-523), proporcionando un gran avance en la comprensión de los parámetros estructurales, dinámicos y electrónicos que determinan la relajatividad de estos complejos. Actualmente, la investigación en este campo se centra en el diseño y síntesis de nuevos agentes quelantes que mantengan gran afinidad por el metal paramagnético correspondiente, así como unas propiedades de relajatividad longitudinal (r_1) o transversal (r_2), mejoradas.

Recientemente, se ha descrito una nueva serie de ácidos pirazoliletildietilentriaminotetraacéticos cuyos complejos de Gd (III) presentan unas propiedades de relajatividad superiores a las de los complejos previamente empleados (P. Ballesteros García, E. Pérez Mayoral, Ligandos heterocíclicos y sus complejos de gadolinio (III) con aplicaciones biomédicas, PCT Int. Appl., (2006) WO 2006051142; P. Ballesteros García, E. Pérez Mayoral, Agentes complejantes derivados de ácidos pirazoliletildietilentriaminotetraacéticos. Complejos de gadolinio (III) con aplicaciones en el diagnóstico clínico por resonancia magnética, P20050245; P. Ballesteros García, E. Pérez Mayoral, Ácidos 1-pirazoliletil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-4,7,10-triacéticos. Aplicación de sus complejos de gadolinio (III) en el diagnóstico clínico, PCT Int. Appl., (2006), WO 2006051142).

Sin embargo, todos los ACs empleados hasta el momento presentan propiedades magnéticas isotrópicas, por lo que no permiten detectar las características físicas del flujo sanguíneo ya que no son capaces de proporcionar imágenes direccionales y/o de diferenciar el flujo laminar o turbulento. Así, la relajatividad observada en la IRM es independiente de la orientación espacial del agente, haciendo imposible distinguir la orientación

y dirección del flujo de la molécula que origina el cambio en relajatividad observado (Figura 1A) lo que dificulta detectar las patologías neurodegenerativas y/o vasculares que lo modifican como por ejemplo la aterosclerosis.

5 Como se ha explicado anteriormente, los ACs que se emplean hasta el momento en Resonancia Magnética (RM) no permiten distinguir la orientación y dirección del flujo de la molécula que origina el cambio en relajatividad que se observa en la imagen de RM. Lo que indica que la relajatividad es independiente de la dirección del campo magnético, observándose la misma intensidad de la señal RM en los tres planos ortogonales de la imagen. Esto hace que los ACs empleados hasta el momento no sirvan para detectar las características físicas del flujo. Lo que supone un gran inconveniente a la hora de diagnosticar de manera temprana algunas enfermedades graves como es el caso de patologías neurodegenerativas y/o vasculares, y más concretamente la aterosclerosis.

La aterosclerosis es una enfermedad sistémica que se caracteriza por la acumulación de placas lipídicas en las paredes de los vasos sanguíneos, constituyendo la principal causa de mortalidad en los países desarrollados a nivel mundial. Para poder hacer un diagnóstico temprano de esta enfermedad, junto con el seguimiento de sus terapias, resulta necesario desarrollar nuevos ACs que permitan distinguir el flujo laminar del turbulento en el sistema vascular.

25 **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

Descripción Breve

Un aspecto de la invención lo constituye un agente de contraste útil para la elaboración de una composición farmacéutica de diagnóstico de RMN, en adelante agente de contraste de la invención, basado en un material nanoestructurado organizado de forma tubular, soluble en disoluciones acuosas, con propiedades anisotrópicas y con un contenido

de metales paramagnéticos o estructuras superparamagnéticas o ferromagnéticas, preferentemente Ti, Fe, Co y Ni.

Un aspecto particular de la invención lo constituye el agente de contraste de la invención en el que el material nanoestructurado es un nanotubo de un material perteneciente, a título ilustrativo y sin que limite el alcance de la invención, al siguiente grupo: carbono (NTCs), silicio, u otros materiales de naturaleza tubular y sus derivados.

Otro objeto de la presente invención lo constituye un nuevo método para obtener y purificar, por intercambio osmótico, el agente de contraste nanoestructurado de la invención mediante el empleo de membranas de diálisis sumergidas en agua desionizada, y renovadas periódicamente hasta que no se observan cambios de pH, simplificando substantivamente la separación de los materiales nanoestructurados, de los subproductos.

Así, otro aspecto de la invención lo constituye una composición farmacéutica útil para el diagnóstico de RMN, en adelante composición farmacéutica de la invención, constituida por una composición que comprende al menos un agente de contraste de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable, ya sea un agente de un único tipo o una mezcla de varios agentes distintos de la invención.

Finalmente, otro aspecto de la presente invención lo constituye el uso de la composición farmacéutica de diagnóstico de la invención, en adelante uso de la invención, en un procedimiento mediante RMN de determinación de un flujo laminar o turbulento y/o las propiedades reológicas de fluidos que circulan en conducciones tubulares.

25

Descripción Detallada

El agente de contraste nanoestructurados de la presente invención solventa los problemas anteriormente descritos, ya que la intensidad de la señal de RM que proporcionan los agentes de contraste nanoestructurados con geometría tubular de la presente invención, depende de la orientación promedio del ACs con respecto al campo

30

magnético aplicado (Figura 1B). Los agentes de la presente invención se alinean espontáneamente con el campo magnético, originando un máximo de relajatividad en la dirección del campo B_0 , y un mínimo, en el plano perpendicular. Esto hace posible determinar la naturaleza laminar o

5 turbulenta del flujo a través de un capilar, mediante medidas de relajatividad magnética por IRM en soluciones de nanotubos, como indica la Figura 1. La magnetización de una solución de nanotubos circulando en flujo laminar a través de un capilar es la resultante del producto vectorial del vector del campo magnético por el del vector del flujo. Dado que

10 ambos mantienen su magnitud y dirección en el tiempo, la resultante es un vector único de magnetización constante durante el tiempo de adquisición RM, que origina una señal RM de relajatividad definida. Sin embargo, cuando la disolución de nanotubos circula en flujo turbulento, el vector de magnetización resultante es menor. Esto se debe a que es el producto

15 vectorial de un vector con dirección y módulo constante (el vector de campo magnético B_0), y un vector de módulo constante (la magnetización del nanotubo) y dirección variable, (la orientación del nanotubo respecto al flujo). En este caso, la magnetización resultante es inferior a la del flujo laminar, debido a la cancelación de los momentos magnéticos de aquellos

20 nanotubos que giran y se mueven en dirección opuesta, debido a la turbulencia.

Así, un aspecto de la invención lo constituye un agente de contraste útil para la elaboración de una composición farmacéutica de diagnóstico de RMN, en adelante agente de contraste de la invención, basado en un

25 material nanoestructurado organizado de forma tubular, soluble en disoluciones acuosas, con propiedades anisotrópicas y en un contenido de metales paramagnéticos o estructuras superparamagnéticas o ferromagnéticas, preferentemente Ti, Fe, Co y Ni.

Un aspecto particular de la invención lo constituye el agente de

30 contraste de la invención en el que el material nanoestructurado es un nanotubo de un material perteneciente, a título ilustrativo y sin que limite el

alcance de la invención, al siguiente grupo: carbono (NTCs), silicio, u otros materiales de naturaleza tubular y sus derivados.

Una realización particular de la invención lo constituye un agente de contraste de la invención en el que los metales paramagnéticos se encuentran en el rango comprendido entre 0-1,5 % de Ti, 0-1 % de Fe, 0-3 % de Co, y 0-1 % de Ni (% en peso). Así, una realización más particular de la invención lo constituye el agente de contraste de la invención en el que los metales paramagnéticos se encuentran en un rango comprendido entre 0-1,5% de Ti, 0-1% de Fe, 0-3% de Co, y 0-1% de Ni (% en peso).

Otro objeto de la presente invención lo constituye un nuevo método para obtener y purificar, por intercambio osmótico, el agente de contraste nanoestructurado de la invención mediante el empleo de membranas de diálisis sumergidas en agua desionizada, y renovadas periódicamente hasta que no se observan cambios de pH, simplificando substantivamente la separación de los materiales nanoestructurados, de los subproductos.

El agente de contraste de la invención, el cual se ha demostrado que es soluble en disoluciones acuosas, puede utilizarse ya sea en forma pura de un tipo de agente o como mezcla de varios de ellos para elaborar una composición farmacéutica conjuntamente con soluciones, suspensiones o preparaciones farmacéuticas, preferentemente de complejos paramagnéticos, estructuras superparamagnéticas o ferromagnéticas, que actúan como vehículos farmacéuticamente aceptables.

Así, otro aspecto de la invención lo constituye una composición farmacéutica útil para el diagnóstico de RMN, en adelante composición farmacéutica de la invención, constituida por una composición que comprende al menos un agente de contraste de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable, ya sea un agente de un único tipo o una mezcla de varios agentes distintos de la invención.

Finalmente, otro aspecto de la presente invención lo constituye el uso de la composición farmacéutica de diagnóstico de la invención, en

adelante uso de la invención, en un procedimiento mediante RMN de determinación de un flujo laminar o turbulento y/o las propiedades reológicas de fluidos que circulan en conducciones tubulares.

Otro aspecto particular lo constituye el uso de la invención en el que el procedimiento consiste en la determinación del flujo laminar y perfusión de fluidos biológicos con el objeto de realizar un diagnóstico clínico en macro- y microvasculatura normal y patológica, y en particular en la caracterización de la neovasculatura tumoral y las microvasculaturas cerebral y cardíaca en enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares, más concretamente, en la detección de placas ateroscleróticas en el sistema vascular, mediante la diferenciación del flujo sanguíneo laminar o turbulento, que caracterizan la microcirculación en la vasculatura normal o aterogénica (Figura 2) y la detección de lesiones en órganos (cerebro, corazón, hígado, riñón, etc.) afectados por cambios en la naturaleza del flujo sanguíneo laminar o turbulento.

Otro aspecto particular lo constituye el uso de la invención en el que el procedimiento de diagnóstico mediante RMN determina la direccionalidad de la relajación magnética anisotrópica, preferentemente mediante la obtención de imágenes RM ortogonales adquiridas en la dirección paralela y perpendicular al campo magnético (B_0).

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Esquema ilustrativo de imágenes ortogonales IRM derivadas de la utilización de agentes de contraste isotrópicos convencionales (A) o de los nuevos agentes de contraste anisotrópicos descritos en la presente invención. (B).

Figura 2. Distinción entre flujo laminar, característico de los capilares normales (panel superior) y flujo turbulento, presente en capilares con placas aterogénicas vulnerables (panel inferior), mediante IRM empleando los nanotubos con relajatividad anisotrópica descritos en la presente invención.

Figura 3. Maniqués conteniendo tubos con disoluciones acuosas de NTCs y agua sobre una plataforma de plastilina, empleados para la adquisición de Imágenes normalizadas ortogonales RM de relatividad anisotrópica.

5 **Figura 4.** Imagen TEM de los NTCs empleados en la presente invención.

Figura 5. A) Imagen normalizada (perpendicular a B_0), B) Imagen normalizada (paralela a B_0) y C) Histograma de intensidades de las imágenes A) y B) normalizadas con respecto al agua.

10 **Figura 6.** Complejos de gadolinio derivados del ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) y del ácido 1,4,7,10-tetraaza-1,4,7,10-ciclododecanotetraacético (DOTA).

EJEMPLOS DE REALIZACIÓN

Ejemplo 1. Obtención y caracterización de los nanotubos

15 Se emplean NTCs comerciales, de pared sencilla, de 0,7-1,2 nm de diámetro y 2-20 μ m de longitud, sintetizados por el método de CVD (método de deposición química en fase de vapor) y con un enriquecimiento en NTCs del 10-40 %. Las muestras comerciales contienen el siguiente porcentaje de metales (% en peso): 1,27% Ti; 0,07% Fe; 2,25% Co y
20 0,75% Ni, identificados mediante de R-X por Reflexión Total (TXRF).

Los NTCs se oxidan mediante el procedimiento descrito por Bourlinos et al. (Bourlinos, A. B., Georgakilas, V., Tzitzios, V., Boukos, N., Herrera, R., Giannelis, E. P. Small 2006, 2, 1188) con variaciones en el aislamiento y purificación de los mismos, que no afectan a sus
25 propiedades tal y como se describe a continuación.

Una suspensión de NTCs comerciales (200 mg) en HNO_3 (25 mL) se calienta a reflujo durante 24 h. La mezcla de reacción se deja enfriar y se diluye con agua desionizada (100 mL). A continuación, la suspensión se centrifuga (3000 rpm durante 10 min), y el precipitado resultante se
30 resuspende en agua desionizada (50 mL), y se introduce en una membrana de diálisis (Spectra/Por 45 mm ancho x 10 cm de largo, 3500

Dalton) que se sumerge en agua desionizada. El agua se renueva periódicamente hasta que alcance un pH ~ 5,5. Seguidamente, la suspensión se centrifuga en las condiciones anteriormente mencionadas y los NTCs se secan en un desecador. Los CNTs utilizados se han

5 caracterizado mediante:

- Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM), empleando un microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM 1010 (100 KV). (ver Figura 4)

10 - Infrarrojo de transformada de Fourier (FT-IR), empleando un equipo FT-IR Bruker vector 22 con accesorio ATR. El IR de los nanotubos de la presente invención revela dos bandas características a 3304 y 1715 cm^{-1} .

15 - Termogravimetría (TG), empleando un equipo de análisis térmico (TG-DTA) TA-SDT Q-600. El perfil termogravimétrico obtenido confirma una pérdida de peso de aproximadamente un 10% en el rango de temperaturas entre 200-300 °C, atribuible a la pérdida de CO_2 .

20 - Fluorescencia de R-X por Reflexión Total (TXRF), empleando un espectrómetro de TXRF EXTRA-II, Rich & Seifert (Germany). Los NTCs oxidados de la presente invención contienen el siguiente porcentaje de metales (% en peso): 1,8% Co y 0,7% Ni.

Ejemplo 2. Métodos de Resonancia Magnética (RM).

Para la obtención de imágenes RM se emplean maniqués (microtubos eppendorf Safe-Lock de 1,5 mL, 38 mm de alto y 10 mm de

25 diámetro interno), insertados en un bloque de plastilina (60 x 30 mm^2 y 25 mm de altura), que contienen tubos con agua y con disoluciones acuosas de CNTs paramagnéticos (2 mg en 1 mL) (Figura 3). Las imágenes RM se adquieren en un espectrómetro Bruker Pharmascan (imán horizontal 7.0 Tesla / 16 cm de diámetro) conectado a una consola Hewlett-Packard

30 (Linux; Bruker Medical GmbH, Ettlingen, Germany). Las imágenes se adquieren con ponderación en T_1 , empleando una secuencia de imagen

SPIN-ECO (MTX = 256 x 256, TR = 500 ms, TE = 10,6 ms; anchura de sección = 1mm, AV = 3, F.O.V = 3,8 x 3,8 cm), realizando cortes de los maniqués en dirección paralela y perpendicular al campo magnético (B_0). El procesado y cuantificado de las imágenes se llevan a cabo utilizando un software desarrollado en el laboratorio de los inventores con el programa MATLAB 7.4.0 (R2007a) (The MathWorks, Inc., copyright 1984-2007; [http:// www.mathworks.com](http://www.mathworks.com)). En la figura 5 se representan las imágenes normalizadas ortogonales de los maniqués estudiados y sus correspondientes histogramas de intensidad de la señal frente a la frecuencia de repetición de la intensidad de la señal.

La Figura 5 ilustra en sus paneles superiores, como la intensidad de la imagen RM, normalizada con respecto al agua, obtenida en la dirección paralela al campo magnético (panel superior derecho) es muy superior a la intensidad de la imagen obtenida en la dirección perpendicular (panel superior izquierdo). De hecho los histogramas de intensidad demuestran que, todos los píxeles de la imagen superior derecha (en rojo), presentan una intensidad superior a los píxeles de la imagen superior izquierda (en azul).

En definitiva, estos resultados muestran que la intensidad de la imagen RM, utilizando los materiales paramagnéticos anisotrópicos de la presente invención, depende de la orientación del corte en la imagen, siendo superior en los cortes paralelos al campo magnético estático, que en los cortes perpendiculares al mismo. Estos datos indican que los nanotubos marcados magnéticamente, se orientan con el campo magnético como si fuesen la aguja de una brújula, marcando la dirección del campo con mayor intensidad.

REIVINDICACIONES

1.- Agente de contraste útil para la elaboración de una composición farmacéutica de diagnóstico de RMN caracterizado porque es un material
5 nanoestructurado organizado de forma tubular, soluble en disoluciones acuosas, con propiedades anisotrópicas y porque contiene metales paramagnéticos o estructuras superparamagnéticas o ferromagnéticas, preferentemente Ti, Fe, Co y Ni

2.- Agente de contraste según la reivindicación 1 caracterizado
10 porque el material nanoestructurado es un nanotubo de un material perteneciente al siguiente grupo: carbono (NTCs), silicio, u otros materiales de naturaleza tubular y sus derivados.

3.- Agente de contraste según la reivindicación 1 caracterizado porque los metales paramagnéticos se encuentran en el rango
15 comprendido entre 0-1,5 % de Ti, 0-1 % de Fe, 0-3 % de Co, y 0-1 % de Ni (% en peso).

4.- Agente de contraste según la reivindicación 1 caracterizado porque es un nanotubo de carbono con un porcentaje, en peso, de metales comprendido en el rango 0-3% para el Co y que es preferentemente del
20 1,8%, y en el rango 0-1% para el Ni, preferentemente del 0,7%.

5.- Método para obtener y purificar un agente de contraste según las reivindicaciones 1 a la 4 caracterizado porque se lleva a cabo por intercambio osmótico, mediante el empleo de membranas de diálisis sumergidas en agua desionizada, y renovadas periódicamente hasta que
25 no se observan cambios de pH.

6.- Composición farmacéutica útil para el diagnóstico de RMN caracterizada porque comprende al menos un agente de contraste de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable, ya sea un agente de un único tipo o una mezcla de varios agentes distintos según las
30 reivindicaciones 1 a la 4.

7.- Uso de la composición farmacéutica de diagnóstico de la invención en un procedimiento mediante RMN de determinación de un flujo laminar o turbulento y/o las propiedades reológicas de fluidos que circulan en conducciones tubulares.

5 8.- Uso según la reivindicación 7 caracterizado porque el procedimiento consiste en la determinación del flujo laminar y perfusión de fluidos biológicos con el objeto de realizar un diagnóstico clínico en macro- y microvasculatura normal y patológica, y en particular en la caracterización de la neovascularidad tumoral y las microvasculaturas
10 cerebral y cardíaca en enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares.

 9.- Uso según la reivindicación 7 caracterizado porque la enfermedad cardiovascular consiste en la detección de placas ateroscleróticas en el sistema vascular, mediante la diferenciación del
15 flujo sanguíneo laminar o turbulento, que caracterizan la microcirculación en la vasculatura normal o aterogénica y la detección de lesiones en órganos (cerebro, corazón, hígado, riñón, etc.) afectados por cambios en la naturaleza del flujo sanguíneo laminar o turbulento.

 10.- Uso según la reivindicación 7 caracterizado porque el
20 procedimiento de diagnóstico mediante RMN determina la direccionalidad de la relajación magnética anisotrópica, preferentemente mediante la obtención de imágenes RM ortogonales adquiridas en la dirección paralela y perpendicular al campo magnético (B_0).

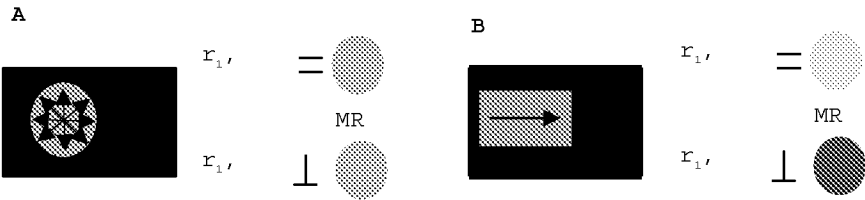


FIG 1

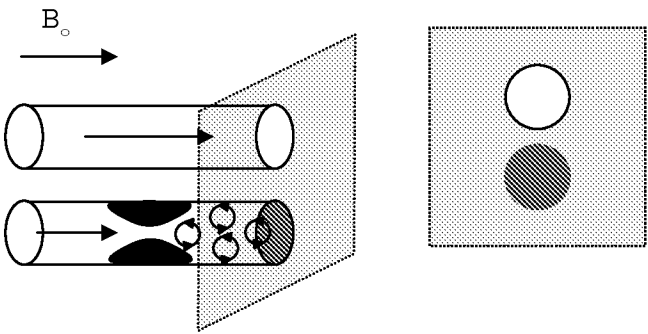


FIG 2

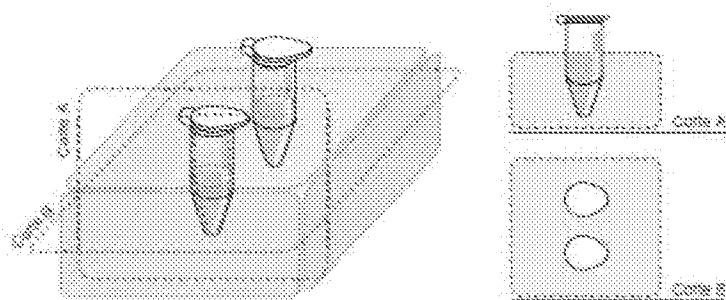


FIG 3

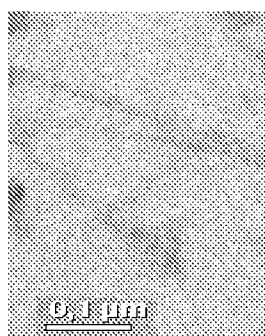


FIG 4

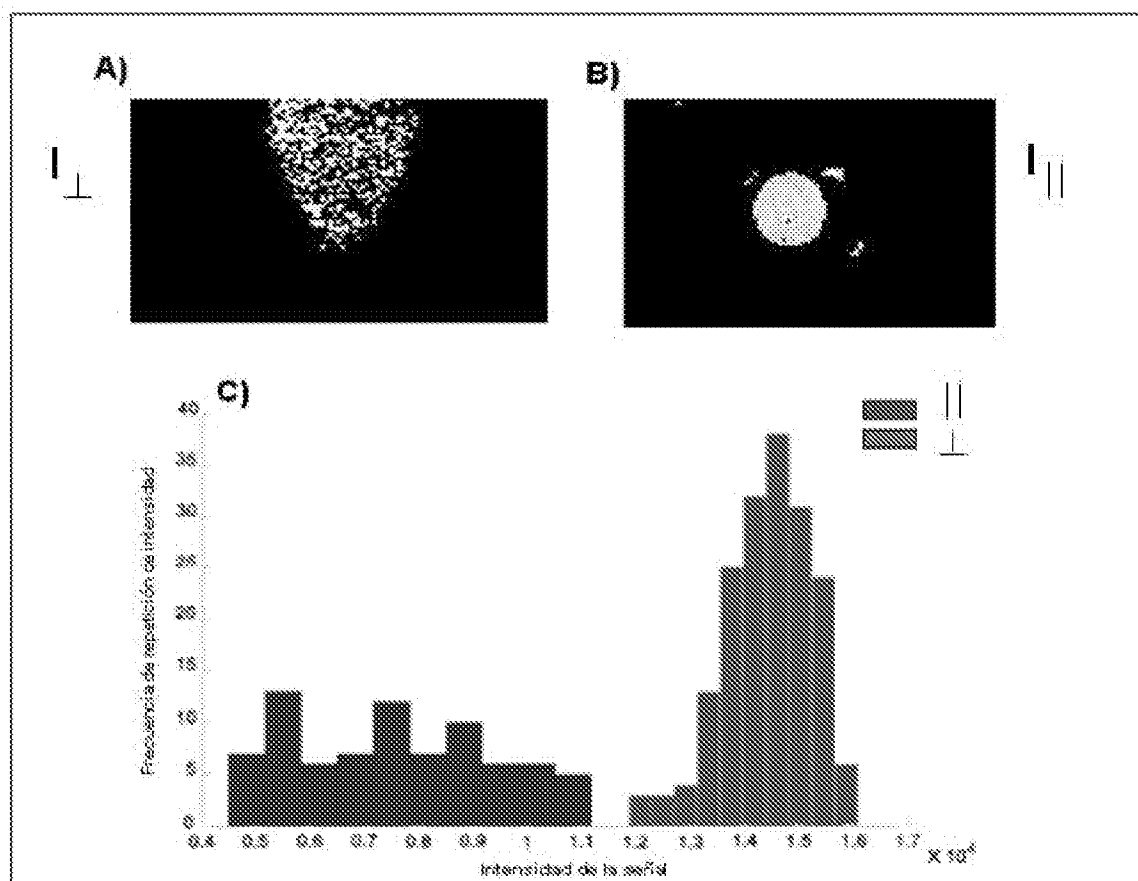


FIG 5

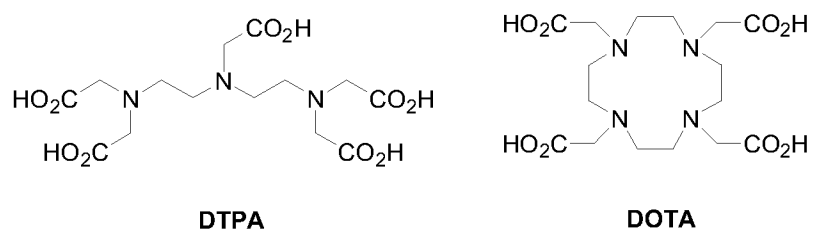


FIG 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ ES 2008/070247

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

see extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, G01R, C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, XPESP, PUBMED, X-PHARM (ScienceDirect)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2006051290 A1 (WILSON et al.) 09.03.2006, paragraph [22]; paragraphs [32-33].	1-6
Y		7-10
Y	EP 0492898 A1 (GEN ELECTRIC) 01.07.1992, page 2, lines 17-23; page 3, lines 25-33.	7-10
X	WO 2007137256 A2 (UNIV RICE WILLIAM M ; WILSON LON J ; KISSELL KYLE RYAN ;) 29.11.2007, page 9, lines 1-11.	1-6
X	US 2007025918 A1 (HURD et al.) 01.02.2007, paragraph [7]; paragraph [15].	1-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.		
"E" earlier document but published on or after the international filing date		
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
	"&"	document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13.May.2009 (13.05.2009)

Date of mailing of the international search report

(19/05/2009)

Name and mailing address of the ISA/
O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.
Facsimile No. 34 91 3495304

Authorized officer

E. Pina Martínez

Telephone No. +34 91 349 85 52

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/ ES 2008/070247

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2006051290 A	09.03.2006	WO 2006017333 AB US 2008003182 A	16.02.2006 03.01.2008
EP 0492898 AB	01.07.1992	EP 19910311517 US 5204625 A JP 6022931 A JP 6085770 B JP 1957552 C DE 69130108 T	11.12.1991 20.04.1993 01.02.1994 02.11.1994 10.08.1995 06.05.1999
US 2007025918 A	01.02.2007	WO 2008008075 A	17.01.2008 17.01.2008 17.01.2008

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2008/070247

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 49/18 (2006.01)

G01R 33/50 (2006.01)

G01R 33/563 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°
PCT/ ES 2008/070247

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver hoja adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, G01R. C07D

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, XPESP, PUBMED, X-PHARM (ScienceDirect)

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
X	US 2006051290 A1 (WILSON et al.) 09.03.2006, párrafo [22]; párrafos [32-33].	1-6
Y		7-10
Y	EP 0492898 A1 (GEN ELECTRIC) 01.07.1992, página 2, líneas 17-23; página 3, líneas 25-33.	7-10
X	WO 2007137256 A2 (UNIV RICE WILLIAM M ; WILSON LON J ; KISSELL KYLE RYAN ;) 29.11.2007, página 9, líneas 1-11.	1-6
X	US 2007025918 A1 (HURD et al.) 01.02.2007, párrafo [7]; párrafo [15].	1-6

☐ En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.		
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.		

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.

13.Mayo.2009 (13.05.2009)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

19 de Mayo de 2009 (19/05/2009)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.
N° de fax 34 91 3495304

Funcionario autorizado

E. Pina Martínez

N° de teléfono +34 91 349 85 52

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional N°

PCT/ES 2008/070247

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
US 2006051290 A	09.03.2006	WO 2006017333 AB US 2008003182 A	16.02.2006 03.01.2008
EP 0492898 AB	01.07.1992	EP 19910311517 US 5204625 A JP 6022931 A JP 6085770 B JP 1957552 C DE 69130108 T	11.12.1991 20.04.1993 01.02.1994 02.11.1994 10.08.1995 06.05.1999
US 2007025918 A	01.02.2007	WO 2008008075 A	17.01.2008 17.01.2008 17.01.2008

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K 49/18 (2006.01)

G01R 33/50 (2006.01)

G01R 33/563 (2006.01)