



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0039517

(51)<sup>2019.01</sup> A61K 49/10; C07C 309/14; A61K 49/18 (13) B

(21) 1-2020-00295

(22) 27/06/2018

(86) PCT/JP2018/024416 27/06/2018

(87) WO2019/004297 03/01/2019

(30) 2017-126755 28/06/2017 JP

(45) 25/04/2024 433

(43) 27/04/2020 385

(73) 1. RIKEN (JP)

2-1, Hirosawa, Wako-shi, Saitama 3510198, Japan

2. NATIONAL INSTITUTES FOR QUANTUM AND RADIOLOGICAL SCIENCE  
AND TECHNOLOGY (JP)

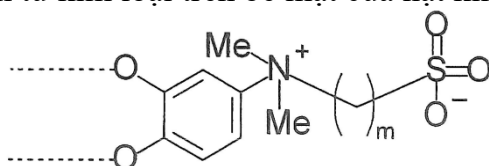
4-9-1, Anagawa, Inage-ku, Chiba-shi, Chiba 2638555, Japan

(72) MIYAJIMA, Daigo (JP); TAKEUCHI, Toshiaki (JP); SIM, Seunghyun (KR); AIDA, Takuzo (JP); AOKI, Ichio (JP).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

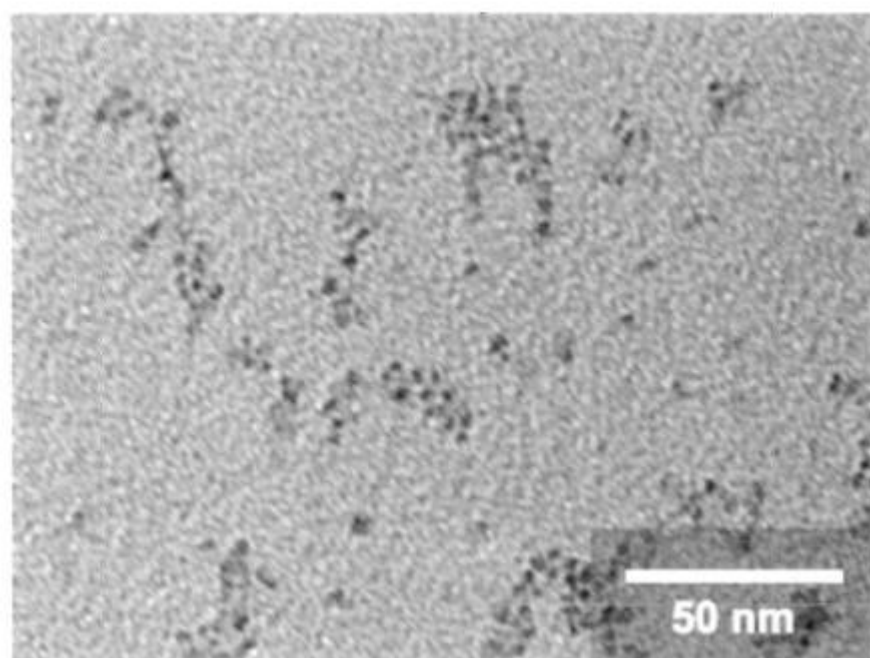
(54) HẠT NANO, CHẤT TƯƠNG PHẢN ỨNG TẠO ẢNH CỘNG HƯỞNG TỪ CHỨA HẠT NANO NÀY VÀ HỢP CHẤT PHỐI TỬ

(57) Sáng chế đề cập đến hạt nano mới, chất tương phản để tạo ảnh cộng hưởng từ chứa hạt nano này, và hợp chất phối tử được sử dụng để sản xuất hạt nano này. Sáng chế cũng đề cập đến hạt nano bao gồm: hạt kim loại chứa oxit sắt; và phối tử mà được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này và được biểu diễn bằng công thức (3):



(3)

trong đó m là số nguyên từ 1 đến 4, và đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.



### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến hạt nano mới, chất tương phản để tạo ảnh cộng hưởng từ chứa hạt nano này, và hợp chất phối tử được sử dụng để sản xuất hạt nano này.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Việc tạo ảnh cộng hưởng từ (Magnetic resonance imaging - MRI), đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán hình ảnh lâm sàng, cũng đang trở thành một công cụ quan trọng trong lĩnh vực nghiên cứu y sinh trong nhiều năm gần đây.

Việc chẩn đoán hình ảnh và chất tương phản được sử dụng cho việc chẩn đoán hình ảnh là kỹ thuật được sử dụng để kiểm tra cơ quan, mô, và các bộ phận tương tự của sinh vật sống. MRI, cụ thể, là kỹ thuật mà, trên cơ sở các tính chất từ của các nguyên tử, tạo ra một ảnh mặt cắt chi tiết và ảnh ba chiều chi tiết của mô và cơ quan của sinh vật sống bằng việc sử dụng từ trường mạnh và tín hiệu vô tuyến cao tần.

MRI là một kỹ thuật hiệu quả để thu được hình ảnh hai hoặc ba chiều của tất cả các mô hoặc cơ quan chứa nước.

Khi các xung sóng điện từ hội tụ đi vào các nguyên tử hydro mà được sắp thẳng hàng bởi từ tính trong mô đích, các nguyên tử hydro trả lại tín hiệu là kết quả của sự hồi giãn của các proton. Trên cơ sở về sự khác biệt nhỏ giữa các tín hiệu từ các mô khác nhau, MRI có thể xác định một cơ quan và chỉ ra sự tương phản tiềm năng giữa mô lành tính và mô ác tính. MRI hữu dụng để phát hiện khối u, sự chảy

máu, chứng phù, và dạng tương tự.

Lưu ý là "chất tương phản cho MRI" để chỉ được chất mà cho phép phát hiện vùng thương tổn hoặc kiểm tra lưu lượng máu trong mạch máu, chức năng của từng cơ quan, và tương tự, bằng (i) việc thay đổi các thời gian hồi giãn ( $T_1$ ,  $T_2$ ) của nước trong sinh vật sống chủ yếu bằng cách rút ngắn các thời gian hồi giãn ( $T_1$ ,  $T_2$ ) này và (ii) vì thế tăng cường sự tương phản giữa các mô khác nhau.

Chất tương phản để MRI được kỳ vọng là có các tính chất sau đây: chất tương phản thể hiện hiệu ứng tương phản nhanh sau khi sử dụng; chất tương phản không có tác dụng bất lợi trên sinh vật sống; và 100% chất tương phản được đào thải khỏi sinh vật sống. Chất tương phản để MRI có thể được phân phối trong máu và dịch ngoại bào bằng cách, ví dụ, dùng trong tĩnh mạch. Sau đó, chất tương phản được bài tiết vào nước tiểu qua gan tốt hơn là trong vòng 2 giờ, tốt hơn nữa là trong vòng 1 giờ. Chất tương phản được phân phối vào dịch ngoại bào bản thân nó không trực tiếp được tạo ảnh bởi MRI. Chất tương phản thúc đẩy quá trình hồi giãn của các proton trong mô tại khu vực mà trong đó chất tương phản được phân phối vào. Đây chủ yếu được gọi là tác dụng rút ngắn  $T_1$ , và cho phép chất tương phản thể hiện hiệu ứng tương phản trong hình ảnh trọng  $T_1$  (tín hiệu được tăng cường). Chất tương phản gây ra sự thay đổi về thời gian hồi giãn của mô bị chiếm chỗ bởi chất tương phản này.

Mặt khác, trong trường hợp nồng độ của chất tương phản được tăng đến một mức nhất định hoặc cao hơn, tín hiệu bị giảm dần bởi tác dụng rút ngắn  $T_2$  và  $T_2^*$ . Như vậy, nồng độ tối ưu để cho phép cường độ tín hiệu được tăng lên khác nhau phụ thuộc vào mục đích thực hiện việc tạo ảnh tương phản.

Mức độ của tác dụng rút ngắn thời gian hồi giãn  $T_1$  và  $T_2$  trong vật thể có

từ tính, tức là các tác dụng rút ngắn các thời gian hồi giãn của các proton được biểu diễn là tốc độ hồi giãn ( $R$ ). Tốc độ hồi giãn  $R_1$  và tốc độ hồi giãn  $R_2$  được biểu diễn dưới dạng sự tương hỗ của thời gian hồi giãn dọc  $T_1$  và sự tương hỗ của thời gian hồi giãn ngang  $T_2$ , lần lượt, của MRI ( $R_1 = 1/T_1$ ,  $R_2 = 1/T_2$ ). Tốc độ hồi giãn trên mỗi đơn vị nồng độ được biểu diễn là độ hồi giãn ( $r$ ). Độ hồi giãn dọc được biểu diễn là  $r_1$ , và độ hồi giãn ngang được biểu diễn là  $r_2$ . Tỷ lệ  $R_1/R_2$  và tỷ lệ  $r_1/r_2$  là mỗi tỷ lệ được sử dụng làm thông số để đánh giá độ hồi giãn của chất tương phản để MRI.

Cụ thể, chất tương phản mà sử dụng thời gian hồi giãn  $T_1$  và được sử dụng nhằm mục đích tăng cường tín hiệu trên hình ảnh trọng  $T_1$  được gọi là chất tương phản rút ngắn  $T_1$  hoặc chất tương phản dương tính. Chất tương phản dương tính gây tăng tín hiệu ở mô được chiếm chỗ bởi chất tương phản dương tính này. Một chất tương phản mà sử dụng thời gian hồi giãn  $T_2$  và được sử dụng nhằm mục đích làm giảm dần tín hiệu trên hình ảnh trọng  $T_2$  được gọi là chất tương phản rút ngắn  $T_2$  hoặc chất tương phản âm tính. Chất tương phản âm tính làm giảm tín hiệu trong mô được chiếm chỗ bởi chất tương phản âm tính này.

MRI trọng  $T_1$  đã thu hút sự chú ý trong những năm gần đây bởi vì, khi được so sánh với MRI trọng  $T_2$ , thì MRI trọng  $T_1$  có ít thành phần lạ và thể hiện độ phân giải không gian cao. Để thu được hình ảnh MR trọng  $T_1$  thể hiện độ tương phản cao, cần phải sử dụng chất tương phản dương tính mà tăng cường độ tương phản MRI bằng cách thay đổi các thời gian hồi giãn của proton nước.

Cụ thể, tỷ lệ  $r_1/r_2$  của chất tương phản là giá trị quan trọng để đánh giá chất tương phản. Tỷ lệ  $r_1/r_2$  cao của chất tương phản dương tính cho phép cung cấp hình ảnh MR trọng  $T_1$  tốt.

Chelat trên cơ sở gadolini (Gd) và hạt nano oxit gadolini có thể được sử dụng lâm sàng làm chất tương phản dương tính, và thể hiện giá trị tương phản  $T_1$  vượt trội do có  $r_1$  cao và  $r_2$  thấp (tức là, tỷ lệ  $r_1/r_2$  cao). Tuy nhiên, các hợp chất trên cơ sở Gd được biết là có độc tính đối với người cao tuổi và bệnh nhân bị suy thận.

Mặt khác, các hợp chất dựa trên oxit sắt có độc tính cực kỳ thấp so với các hợp chất dựa trên Gd. Do đó, việc nghiên cứu và phát triển đang được tiến hành đối với các hạt nano dựa trên oxit sắt như một vật liệu thay thế cho Gd, vốn là xu hướng chủ đạo hiện nay trên thị trường (Tài liệu phi sáng chế 1).

Cho đến nay, việc nghiên cứu và phát triển đã được tiến hành trên hạt nano để được áp dụng nhằm sử dụng trong y tế (ví dụ, để chẩn đoán, điều trị, hoặc dạng tương tự). Với vai trò là một khía cạnh của hạt nano để được áp dụng cho sinh vật sống, người ta đã biết rằng một hạt nano bao gồm (i) hạt lõi chứa vật liệu kim loại và (ii) phân tử của nhiều loại khác nhau, chẳng hạn polyme, mà bề mặt của hạt lõi được bọc bằng phân tử này. Ví dụ, người ta đã báo cáo (i) phương pháp sản xuất hạt oxit sắt (các ESION) có kích cỡ là 4 nm hoặc nhỏ hơn và (ii) chất tương phản dương tính cho MRI mà chất tương phản dương tính chứa các hạt nano bao gồm (a) các ESION và (b) polyetylen glycol phosphat (PO-PEG) mà được bọc lên ESION này (Tài liệu phi sáng chế 2). Người ta cũng đã thông báo rằng hạt nano có cấu trúc trong đó dopamin sulfonat ion lưỡng tính (ZDS) được liên kết với bề mặt của hạt nano oxit sắt được sử dụng làm hạt lõi (Tài liệu phi sáng chế 3 và Tài liệu sáng chế 1). Các tính chất của các hạt nano (ZDS-SPION) như vậy khi được sử dụng làm chất tương phản dương tính cũng đã được thông báo (Tài liệu sáng chế 2 và Tài liệu phi sáng chế 4).

## Danh sách tài liệu trích dẫn

### Tài liệu sáng chế

[Tài liệu sáng chế 1]

Công bố đơn Quốc tế số WO2013/090601 (Ngày công bố: 20/6/2013)

[Tài liệu sáng chế 2]

Công bố đơn Quốc tế số WO2016/044068 (Ngày công bố: 24 Tháng Ba 2016)

### Tài liệu phi sáng chế (NPL - Các tài liệu phi sáng chế)

[Tài liệu phi sáng chế 1]

Corot et al., Advanced Drug Delivery Reviews, 58, 1471-1504, 2006

[Tài liệu phi sáng chế 2]

Byung Hyo Kim et al., J Am. Chem. Sci., 133, 12624-12631, 2011

[Tài liệu phi sáng chế 3]

He Wei et al., Integr. Biol., 5, 108-114, 2013

[Tài liệu phi sáng chế 4]

He Wei et al., Proc. Natr. Acad. Sci., 114(9), 2325-2330, 2017

## **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

### Vấn đề kỹ thuật

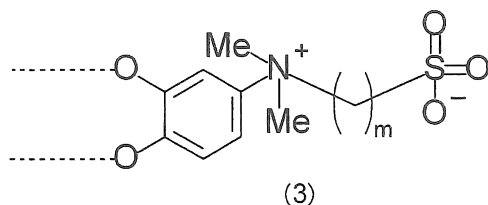
Vẫn có nhu cầu về (i) hạt nano mới mà đủ đáp ứng được các điều kiện sau đây: thể hiện độ ổn định động thái ở sinh vật sống đồng thời có khả năng tương phản vượt trội; có độc tính thấp với sinh vật sống; và có độ ổn định bảo quản tốt và (ii) hợp chất phối tử để bọc hạt nano này. Ngoài ra, có nhu cầu để phát triển chất

tương phản để chụp ảnh cộng hưởng từ chứa hạt nano này.

Giải pháp kỹ thuật của sáng chế

Để giải quyết vấn đề trên, sáng chế bao gồm trong phạm vi của nó một khía cạnh bất kỳ dưới đây.

<1> Hạt nano, bao gồm: hạt kim loại chứa oxit sắt; và phối tử mà được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này và được biểu diễn bằng công thức (3):

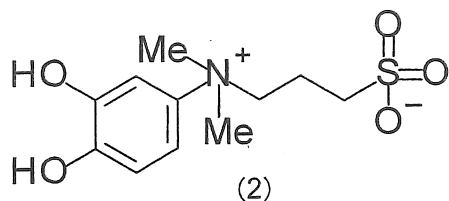


trong đó m là số nguyên từ 1 đến 4, và đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.

<2> (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni.

Lưu ý là công thức cấu tạo của (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl) (3-sulfonat propyl)amoni được biểu diễn bằng công thức (2). Trong bản mô tả của đơn này, hợp chất nêu trên có thể được viết tắt là "DDSA", và phối tử được biểu diễn bằng công thức (1) (được mô tả dưới đây) mà phối tử là hợp chất nêu trên ở trạng thái trong đó hợp chất trên được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại có thể cũng được viết tắt là "DDSA".





### Các ưu điểm của sáng chế

Sáng chế được kỳ vọng là cho phép tạo ra (i) hạt nano mới, (ii) chất tương phản để chụp ảnh cộng hưởng từ chứa hạt nano này, cụ thể, chất tương phản dương tính có độ hồi giãn tốt, và (iii) hợp chất phối tử mới được sử dụng để sản xuất hạt nano này.

### Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là ảnh của hạt nano (hạt oxit sắt (SNP)-phối tử (DDSA)) theo sáng chế được quan sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (transmission electron microscope - TEM).

Fig. 2 là hình minh họa kết quả ước lượng độ hồi giãn của SNP-DDSA trong PBS trong trường hợp trong đó MRI có cường độ từ trường 1 tesla (T) được sử dụng, SNP-DDSA bao gồm hạt oxit sắt có đường kính là 1,8 nm làm lõi. (a) của Fig. 2 minh họa kết quả đo các thời gian hồi giãn trong PBS của SNP-DDSA thu được bằng cách pha loãng SNP-DDSA theo thứ tự. (b) của Fig. 2 là mỗi kết quả thu được bằng cách vẽ đồ thị thời gian hồi giãn liên quan đến nồng độ nguyên tử sắt trong SNP-DDSA. (c) của Fig. 2 thể hiện các giá trị của độ hồi giãn  $r_1$  và  $r_2$  được xác định từ độ dốc của đường được vẽ đồ thị trên (b) của Fig. 2, và giá trị  $r_1/r_2$ .

(a) của Fig. 3 thể hiện các hình ảnh của băng quang chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được

là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian, lần lượt ở các thời điểm sau đây: trước khi sử dụng (trước), ngay sau khi sử dụng (sau), 30 phút sau khi sử dụng (30 phút), và 3 giờ sau khi sử dụng (3 giờ). (a) Fig. 3 thể hiện các hình ảnh của bàng quang chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian, lần lượt ở các thời điểm sau đây: trước khi sử dụng (trước), ngay sau khi sử dụng (sau), 1 giờ sau khi sử dụng (1 giờ), và 2 giờ sau khi sử dụng (2 giờ).

(a) của Fig. 4 thể hiện các hình ảnh của thận chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian, lần lượt ở các thời điểm sau đây: trước khi sử dụng (trước), ngay sau khi sử dụng (sau), 30 phút sau khi sử dụng (30 phút), và 3 giờ sau khi sử dụng (3 giờ). (b) của Fig. 4 thể hiện các hình ảnh của thận chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian, lần lượt ở các thời điểm sau đây: trước khi sử dụng (trước), ngay sau khi sử dụng (sau), 1 giờ sau khi sử dụng (1 giờ), và 2 giờ sau khi sử dụng (2 giờ).

Fig. 5 thể hiện các hình ảnh của gan chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian.

Fig. 6 thể hiện các hình ảnh của mạch máu của chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc chụp mạch máu MR được thực hiện theo thời gian.

## Mô tả chi tiết sáng chế

Phần mô tả dưới đây đề cập cụ thể đến một phương án của sáng chế.

[Định nghĩa các thuật ngữ]

Thông thường, thuật ngữ "hạt nano" để chỉ hạt có đường kính hạt theo thứ tự nanomet, và thường để chỉ hạt có đường kính hạt nhỏ hơn 1  $\mu\text{m}$ . Chi tiết về đường kính hạt sẽ được thảo luận sau trong phần đường kính hạt.

Thuật ngữ "phối tử" hoặc "hợp chất phối tử" để chỉ hợp chất mà (i) có nhóm có khả năng tạo thành liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại và (ii) được sử dụng làm chất cải biến trên bề mặt của hạt kim loại để cho phép hạt kim loại này được phân tán ổn định trong nước. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "phối tử" hoặc "hợp chất phối tử" để chỉ (i) trường hợp trong đó hợp chất không được liên kết bằng liên kết phối trí với bề mặt của hạt kim loại và/hoặc (ii) trường hợp trong đó hợp chất này có cấu trúc phân tử trong đó hợp chất được liên kết bằng liên kết phối trí với bề mặt của hạt kim loại.

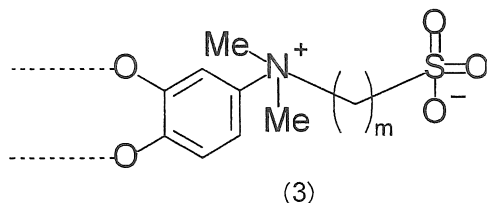
Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "đối tượng" để chỉ sinh vật cho trước mà chất tương phản để MRI, hạt nano, hoặc chế phẩm chứa hạt nano của sáng chế có thể được sử dụng nhằm mục đích, ví dụ, thử nghiệm, chẩn đoán, và/hoặc điều trị. Với vai trò là một ví dụ, đối tượng này là người.

Phần mô tả dưới đây sẽ thảo luận về hạt nano, chất tương phản để MRI, và hợp chất theo sáng chế.

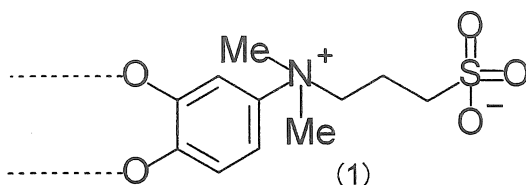
[1. Hạt nano]

Hạt nano theo sáng chế là hạt nano bao gồm: hạt kim loại chứa oxit sắt; và phối tử mà được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này

và được biểu diễn bằng công thức (3) sau đây, trong đó phối tử này tốt hơn là phối tử được biểu diễn bằng công thức (1) dưới đây.



Trong công thức (3) nêu trên, m là số nguyên từ 1 đến 4, và đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.



Trong công thức (1) nêu trên, đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.

Ngoài ra, hạt nano theo một khía cạnh khác của sáng chế là hạt nano bao gồm: hạt kim loại chứa oxit sắt; và phối tử mà được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại và được biểu diễn bằng công thức (3) nêu trên, trong đó m là số nguyên bằng 1, 2, hoặc 4.

Theo một phương án của sáng chế, hạt nano của sáng chế là hạt nano bao gồm: hạt kim loại chứa oxit sắt; và phối tử mà được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại và được biểu diễn bằng công thức (3) nêu trên, trong đó m bằng 2 hoặc 4, tốt hơn nữa là bằng 4.

Như vậy, hạt nano theo sáng chế là hạt mà bao gồm hạt kim loại trong phần

trung tâm (lõi) của hạt và trong đó hợp chất phối tử được liên kết với bề mặt ngoài của hạt kim loại sao cho bọc được hạt kim loại này.

Hạt nano theo sáng chế cho phép ngăn chặn được sự kết tụ của các hạt nano, và thể hiện tính chất ổn định của hạt ngay cả trong, ví dụ, dung dịch chứa hạt nano ở nồng độ cao. Hạt nano như vậy có thể được kỳ vọng là vừa (i) đảm bảo sự từ hóa bão hòa thấp và vì thế cho phép thu được hình ảnh trọng T1 rõ ràng vừa (ii) hỗ trợ việc bài tiết qua thận và vì thế tạo khả năng thanh thải qua thận tốt.

(Hạt kim loại)

Hạt kim loại chứa oxit sắt. Theo một phương án của sáng chế, hạt kim loại là hạt oxit sắt chỉ chứa oxit sắt.

Theo một phương án của sáng chế, hạt kim loại có thể chứa oxit sắt và ít nhất một dẫn xuất kim loại khác ngoài oxit sắt. Ngoài ra, hạt kim loại có thể chứa ít nhất một nguyên tố kim loại khác ngoài sắt (Fe). Với vai trò là nguyên tố kim loại khác, hạt kim loại có thể còn chứa, nếu cần, ít nhất một kim loại được chọn từ nhóm bao gồm gadolini (Gd), mangan (Mn), coban (Co), niken (Ni), và kẽm (Zn).

Theo một phương án khác nữa của sáng chế, hạt kim loại có thể chứa oxit sắt đơn độc hoặc có thể chứa ferit có nguồn gốc từ oxit sắt. Ferit là oxit được biểu diễn bằng công thức:  $(\text{Fe}^{2+}, \text{M})_3\text{O}_4$  trong đó M tốt hơn là ion kim loại chuyển tiếp được chọn từ  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , và  $\text{Ni}^{2+}$ .

Một vật liệu được biết là oxit sắt siêu thuận từ (paramagnetic iron oxit - SPIO) cũng có thể thích hợp được sử dụng. Vật liệu như vậy được biểu diễn bằng công thức chung:  $[\text{Fe}_2\text{O}_3]_x[\text{Fe}_2\text{O}_3(\text{M}^{2+}\text{O})]_{1-x}$  (trong đó  $x = 0$  hoặc 1).  $\text{M}^{2+}$  có thể là ion kim loại hóa trị hai, ví dụ, Fe, Mn, Ni, Co, Zn, magie (Mg), đồng (Cu), hoặc tổ

hợp của chúng. Lưu ý là vật liệu là magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) trong trường hợp trong đó ion kim loại ( $\text{M}^{2+}$ ) là sắt (II) ( $\text{Fe}^{2+}$ ) và  $x = 0$ , và vật liệu là maghemit ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) trong trường hợp trong đó  $x = 1$ .

Theo một phương án của sáng chế, oxit sắt là oxit sắt từ, và có thể là magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), maghemit ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), hoặc hỗn hợp của chúng. Hạt oxit sắt từ là hạt nano siêu thuận từ.

Theo một phương án khác nữa của sáng chế, trong trường hợp trong đó hạt oxit sắt chứa (các) dẫn xuất của một hoặc nhiều nguyên tố kim loại khác ngoài sắt, (các) dẫn xuất này của (các) nguyên tố kim loại tương ứng có thể khác nhau về loại. Như vậy, hạt oxit sắt có thể chứa oxit, nitrua, và dạng tương tự. Theo một phương án khác của sáng chế, hạt lõi có thể chứa dẫn xuất (ví dụ,  $\text{FePt}$  và  $\text{FeB}$ ) của sắt khác ngoài oxit sắt mà dẫn xuất có nguyên tố sắt khác ngoài oxit sắt.

Hạt kim loại theo một phương án của sáng chế có thể là hạt kim loại được sản xuất bằng phương pháp được biết rõ như phương pháp được bộc lộ trong Tài liệu sáng chế 1, Tài liệu phi sáng chế 2, Tài liệu phi sáng chế 3, hoặc dạng tương tự, hoặc có thể là hạt kim loại có bán trên thị trường. Ví dụ, hạt kim loại có thể là hạt oxit sắt được sản xuất bằng phương pháp kết tủa đồng thời hoặc phương pháp khử.

(Đường kính hạt của hạt kim loại)

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "đường kính hạt" để chỉ "đường kính hạt trung bình" trừ khi được lưu ý khác.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "đường kính hạt" có nghĩa là đường kính của đường tròn nội tiếp tối đa của hình dạng hai chiều của hạt được quan sát

bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Ví dụ, trong trường hợp trong đó hình dạng hai chiều của hạt về cơ bản là hình tròn, thì "đường kính hạt" có nghĩa là đường kính của hình tròn này. Trong trường hợp trong đó hình dạng hai chiều của hạt về cơ bản là hình elip, thì "đường kính hạt" có nghĩa là trục nhỏ của hình elip này. Trong trường hợp trong đó hình dạng hai chiều của hạt về cơ bản là hình vuông, thì "đường kính hạt" có nghĩa là chiều dài của một cạnh của hình vuông này. Trong trường hợp trong đó hình dạng hai chiều của hạt về cơ bản là hình chữ nhật, thì "đường kính hạt" có nghĩa là chiều dài của cạnh ngắn của hình chữ nhật này.

Các ví dụ về phương pháp khẳng định giá trị của đường kính hạt trung bình là trong khoảng định trước bao gồm phương pháp quan sát 100 hạt bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) để đo đường kính hạt của từng hạt và tìm giá trị trung bình về đường kính hạt của 100 hạt này.

Hạt oxit sắt theo một phương án của sáng chế tốt hơn là có đường kính là 5 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là có đường kính là 4 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là có đường kính là 3 nm hoặc nhỏ hơn, còn tốt hơn nữa là có đường kính là 2 nm hoặc nhỏ hơn, và tốt nhất là có đường kính hạt là 1 nm hoặc nhỏ hơn. Việc đường kính hạt là 2 nm hoặc nhỏ hơn khiến cho hạt oxit sắt hữu dụng hơn để làm chất tương phản dương tính cho MRI từ trường cao là 3 tesla (T) hoặc lớn hơn. Ngoài ra, hạt oxit sắt có đường kính hạt là 2 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 1 nm hoặc nhỏ hơn, cho phép đạt được tỷ lệ tín hiệu/nhiều cao hơn khi được sử dụng cho MRI từ trường cao là 7 T hoặc lớn hơn. Điều này có thể cho phép đo với độ phân giải không gian cao hơn và trong khoảng thời gian ngắn hơn.

Hạt oxit sắt theo sáng chế có đường kính hạt trung bình tốt hơn là 5 nm

hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 4 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 3 nm hoặc nhỏ hơn, còn tốt hơn nữa là 2 nm hoặc nhỏ hơn. Với vai trò là một ví dụ, đường kính hạt trung bình là 1,8 nm. Tốt hơn là đường kính hạt trung bình của hạt oxit sắt càng nhỏ càng tốt. Với vai trò là một ví dụ, đường kính hạt trung bình là 0,5 nm hoặc lớn hơn, hoặc 0,6 nm hoặc lớn hơn.

Theo một phương án của sáng chế, tốt hơn là các tính chất của hạt nano được chứa trong chất tương phản để MRI càng đồng đều càng tốt giữa các hạt nano riêng lẻ. Do đó, tốt hơn là hạt kim loại sử dụng làm lõi của hạt nano đồng đều về kích cỡ và hình dạng. Với vai trò là một ví dụ, độ đồng nhất của hạt kim loại về đường kính hạt nằm trong khoảng  $\pm 1$  nm theo đường kính hạt trung bình của hạt kim loại này. Với vai trò là một ví dụ khác, độ đồng nhất của hạt kim loại về đường kính hạt nằm trong khoảng  $\pm 0,5$  nm theo đường kính hạt trung bình của hạt kim loại này. Theo một phương án khác của sáng chế, tốt hơn là càng nhiều hạt nhỏ càng tốt được chứa trong mỗi hạt là hạt kim loại được sử dụng làm lõi của hạt nano được chứa trong chất tương phản để MRI. Với vai trò là một ví dụ, tỷ lệ giữa số lượng hạt kim loại có cỡ hạt là 5 nm hoặc lớn hơn và số lượng tất cả các hạt kim loại là 30% hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 10% hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 5% hoặc nhỏ hơn. Với vai trò là một ví dụ khác, tỷ lệ giữa số lượng các hạt kim loại có cỡ hạt là 4 nm hoặc lớn hơn và số lượng tất cả các hạt kim loại là 30% hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 10% hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 5% hoặc nhỏ hơn. Với vai trò là một ví dụ khác, tỷ lệ giữa số lượng hạt kim loại có cỡ hạt là 3 nm hoặc lớn hơn và số lượng tất cả các hạt kim loại là 30% hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 10% hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 5% hoặc nhỏ hơn.

(Đường kính hạt của hạt nano)

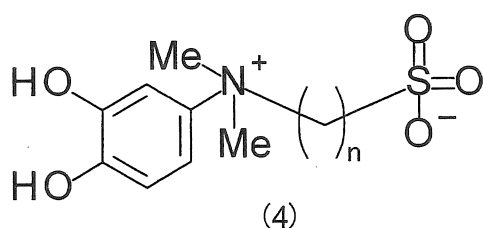


Đường kính hạt của hạt nano tăng khi độ dày của phôi tử mà hạt kim loại được bọc bằng phôi tử đó tăng. Tuy nhiên, việc đo đường kính hạt của hạt nano là khó. Thông thường, đường kính thủy động học (hydrodynamic diameter - HD) của hạt nano khi được đo trong dung dịch hạt nano được xử lý là một chỉ số về kích cỡ của hạt nano. Với vai trò là một ví dụ, hạt nano có HD trung bình là 30 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 10 nm hoặc nhỏ hơn. Với vai trò là một ví dụ khác, hạt nano có HD trung bình là 7 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 6 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 5 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 4 nm hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là 3 nm hoặc nhỏ hơn.

Lưu ý là người ta đã khẳng định được rằng khả năng tương phản của chất tương phản để MRI bị ảnh hưởng bởi đường kính hạt của hạt kim loại được sử dụng làm lõi.

(Phôi tử)

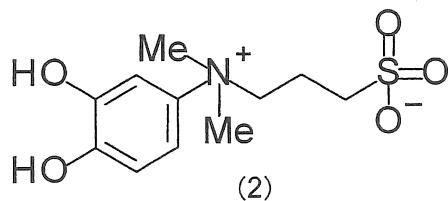
Hợp chất phôi tử theo sáng chế là hợp chất được biểu diễn bằng công thức (4) dưới đây:



trong đó  $n$  là số nguyên từ 1 đến 4.

Theo một khía cạnh của sáng chế, hợp chất phôi tử theo sáng chế là (3,4-dihydroxyphenyl)(dimethyl)(3-sulfonat propyl)amoni (DDSA) được biểu diễn bằng công thức (2) dưới đây. Trong phản ứng thể phôi tử (được mô tả sau đây), ion hydro được nhả ra từ hai nhóm hydroxyl của hợp chất này, và mỗi nguyên tử oxy còn lại

tạo thành liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này. Vì thế đã tạo thành hạt nano theo sáng chế. Phối tử được liên kết bởi liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại có công thức cấu tạo được biểu diễn bằng công thức (1) nêu trên.



Lưu ý là nguyên tử kim loại với nguyên tử oxy của phối tử của sáng chế tạo thành liên kết phối trí là nguyên tử được nằm trên bề mặt của hạt kim loại được sử dụng làm lõi. Ví dụ, nguyên tử kim loại là nguyên tử sắt.

Phối tử theo sáng chế có cấu trúc trong đó nhóm amoni được liên kết trực tiếp với vòng benzen. Điều này cho phép phối tử của sáng chế có chuỗi phân tử ngắn hơn chuỗi phân tử của phối tử đã biết thông thường, và do đó cho phép lớp phối tử mỏng hơn. Ngoài ra, đặc trưng của phối tử theo sáng chế là phối tử này có điện tích dương trên phía hạt kim loại và điện tích âm trên bề mặt ngoài của hạt lõi. Như vậy người ta kỳ vọng rằng hạt nano theo sáng chế ít có khả năng trải qua sự kết tụ của các hạt lõi trong dịch thể và do đó có độ ổn định cao. Ngoài ra, độ mỏng của lớp phối tử theo sáng chế làm giảm khoảng cách với nguyên tử kim loại. Do đó có thể dự tính được rằng hạt nano theo sáng chế thể hiện khả năng tương phản vượt trội do việc tăng số lượng phân tử nước bị ảnh hưởng bởi hạt lõi, và tương tự.

Số lượng (số lượng của các phối tử) của phân tử phối tử được phối trí trên bề mặt của hạt kim loại khác nhau phụ thuộc vào kích cỡ, diện tích bề mặt, và tương tự của hạt kim loại này. Ví dụ, trong trường hợp trong đó hạt kim loại có đường

kính hạt là 1,8 nm, số lượng của các phối tử cho mỗi hạt kim loại tốt hơn là 5 đến 200, tốt hơn nữa là 10 đến 50.

(Phương pháp sản xuất phối tử)

Phương pháp sản xuất phối tử không bị giới hạn cụ thể. Phối tử có thể dễ dàng được sản xuất từ các hợp chất vật liệu thô đã được biết rõ bằng phản ứng đã được biết rõ với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, phối tử có thể được sản xuất bằng cách tham khảo phương pháp được mô tả trong Wei H. et al., Nano Lett. 12, 22-25, 2012.

Với vai trò là một ví dụ, phương pháp tổng hợp được mô tả trong phần ví dụ có thể được sử dụng thích hợp.

(Hợp chất được liên kết với hạt kim loại khác ngoài phối tử)

Hạt nano theo sáng chế có thể chứa thành phần khác ngoài phối tử theo sáng chế. Theo một phương án của sáng chế, hạt nano có thể là (i) hạt nano trong đó bản thân hạt lõi có tính chất huỳnh quang hoặc (ii) hạt nano còn chứa phân tử như phân tử huỳnh quang, phân tử thuốc nhuộm, hoặc dạng tương tự được liên kết với bề mặt của hạt lõi. Trong trường hợp trong đó bản thân hạt lõi có tính chất huỳnh quang hoặc trong trường hợp trong đó phân tử huỳnh quang hoặc phân tử thuốc nhuộm được đưa vào hạt nano, thì hạt nano có thể không chỉ được sử dụng làm chất tương phản để MRI mà còn làm chất tương phản cho hình ảnh quang học. Theo một phương án khác của sáng chế, hạt nano theo sáng chế có thể bao gồm phân tử huỳnh quang hoặc phân tử thuốc nhuộm mà được liên kết bằng liên kết cộng hóa trị với phối tử của sáng chế và được liên kết với hạt oxit sắt thông qua phối tử này. Sau khi hạt nano được tiêm vào cơ thể, phân tử huỳnh quang có mặt trên bề mặt của hạt oxit sắt. Vì thế phân tử huỳnh quang có thể được sử dụng để tạo hình ảnh hiển vi

và kiểm tra sự định vị của hạt nano. Các ví dụ về phân tử huỳnh quang và phân tử thuốc nhuộm bao gồm rhodamin, florescein, nitrobenzoxadiazol (NBD), xyanin, protein huỳnh quang xanh lá cây-GFP), coumarin, và dẫn xuất của chúng.

Theo một phương án khác của sáng chế, hạt nano theo sáng chế có thể bao gồm ít nhất một chất được liên kết với bề mặt của hạt kim loại này. Các ví dụ về chất này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, peptit, axit nucleic, phân tử nhỏ, hoặc dạng tương tự.

Ngoài ra, phối tử khác với phối tử theo sáng chế có thể được liên kết với bề mặt của hạt nano. Ví dụ, trong trường hợp trong đó phối tử có tính chất được tích lũy đặc biệt vào khối u được liên kết với hạt nano theo sáng chế, thì hạt nano này có tính chất gắn kết chọn lọc khối u.

Việc truyền tính đặc hiệu mô như vậy cho chất tương phản tốt hơn là để (i) tăng cường tín hiệu ở phần mà là đối tượng của việc đo MRI và (ii) nhờ đó thu được thông tin về tình trạng bệnh lý cụ thể hoặc tương tự. Việc phân phối chất tương phản vào trong sinh vật sống phụ thuộc vào đường kính hạt, điện tích, hóa học bề mặt, đường dùng, và đường đào thải.

Ngoài ra, hạt nano theo sáng chế có độc tính cực thấp với sinh vật sống. Do đó, hạt nano có độ an toàn cao và phải đối mặt với một số hạn chế để đưa vào các sử dụng khác nhau.

## [2. Phương pháp sản xuất hạt nano]

Phần mô tả dưới đây sẽ đề cập đến phương pháp sản xuất hạt nano. Phương pháp sản xuất hạt nano không bị giới hạn cụ thể, và có thể là phương pháp đã được biết rõ.

Ví dụ, hạt nano có thể được sản xuất bằng cách tham khảo phương pháp được bộc lộ trong ấn phẩm của Kim et al., J Am. Chem. Sci. 2011, 133, 12624-12631, Kim et al., J Am. Chem. Sci., 2013, 135, 2407-2410, và phương pháp được bộc lộ trong ấn phẩm của Hyeon et al., J. Am. Chem. Soc., 133, 12624, 2011.

Phương pháp theo một phương án của sáng chế để sản xuất hạt nano bao gồm các bước (a) cho muối kim loại phản ứng với muối kim loại kiềm của axit carboxylic có 18 nguyên tử cacbon để tạo ra phức hợp kim loại-axit carboxylic, (b) gai nhiệt phức hợp kim loại-axit carboxylic để tổng hợp hạt kim loại mà sử dụng làm lõi của hạt nano và bề mặt của nó được bọc bằng phối tử kỵ nước, (c) chuyển hóa phối tử kỵ nước trên bề mặt của hạt kim loại được dùng làm lõi thành phối tử ưa nước có nhóm carboxyl để tạo ra hạt có thể phân tán trong dung môi phân cực mạnh, và (d) cho hạt kim loại được bọc bằng phối tử ưa nước phản ứng với hợp chất phối tử theo sáng chế để thế phối tử ưa nước trên bề mặt của hạt kim loại bằng phối tử theo sáng chế. Phần sau đây mô tả chi tiết từng bước.

(Bước (a))

Bước (a) là bước trong đó muối kim loại được phản ứng với muối kim loại kiềm của axit carboxylic có 18 nguyên tử cacbon để tạo ra phức hợp kim loại-axit carboxylic.

Đầu tiên, muối kim loại và muối kim loại kiềm của axit carboxylic có 18 nguyên tử cacbon được phân tán trong dung môi. Các ví dụ về muối kim loại được sử dụng để điều chế phức hợp kim loại-axit carboxylic bao gồm sắt (III) clorua hexahydrat  $[\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ . Các ví dụ về muối kim loại kiềm của axit carboxylic có 18 nguyên tử cacbon bao gồm natri oleat. Các ví dụ về dung môi bao gồm etanol, nước, hexan, và hỗn hợp của chúng. Với vai trò là một ví dụ, sắt(III) clorua

hexahydrat và natri oleat được phân tán trong hỗn hợp của etanol, nước, và hexan. Sau đó, dung dịch tạo thành được khuấy trong khi được gia nhiệt, tốt hơn là ở 70°C, trong thời gian từ 1 giờ đến 10 giờ, tốt hơn là trong 4 giờ, và lớp hữu cơ được thu gom. Lớp hữu cơ này được rửa bằng nước một lần hoặc nhiều hơn, tốt hơn nữa là 3 lần đến 4 lần. Lớp hữu cơ thu được này được làm khô tùy ý

(Bước (b))

Bước (b) là bước trong đó phức hợp thu được trong bước (a) được phản ứng với phối tử kị nước để tổng hợp hạt nano trong đó bề mặt của hạt kim loại được sử dụng làm lõi được bọc bằng phối tử kị nước.

Ví dụ, trong môi trường khí được chọn từ argon (Ar) và nitơ, (i) và (ii) sau đây được bổ sung vào phức hợp thu được trong bước (a): (i) ít nhất một chất tẩy rửa được chọn từ nhóm bao gồm axit béo có 18 nguyên tử cacbon, rượu béo có 18 nguyên tử cacbon, amin béo có 18 nguyên tử cacbon và (ii) dung môi được chọn từ diphenyl ete và phenyloctyl ete. Với vai trò là một ví dụ, chất tẩy rửa có thể là rượu oleylic và dung môi có thể là diphenyl ete. Sau đó, hỗn hợp thu được theo cách này được gia nhiệt từ nhiệt độ trong phòng đến nhiệt độ từ 180°C đến 300°C, và sau đó tùy ý được khuấy ở trạng thái này trong 10 phút đến vài giờ. Với vai trò là một ví dụ, hỗn hợp được gia nhiệt từ 30°C đến 250°C ở tốc độ 10°C /phút, và được khuấy ở 250°C trong 30 phút. Với vai trò là một ví dụ khác, hỗn hợp được gia nhiệt từ 30°C đến 200°C ở tốc độ 10°C /phút, và được khuấy ở 200°C trong 30 phút.

Dung dịch phản ứng thu được được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Sau đó, axeton được bổ sung, hỗn hợp tạo thành được ly tâm, và dịch nổi được loại bỏ. Công đoạn này được lặp lại 2 lần đến 3 lần, tốt hơn là 4 lần đến 5 lần. Do đó dung dịch thu được được làm khô tùy ý. Với vai trò là một ví dụ, công đoạn bổ sung

axeton, thực hiện việc ly tâm, và loại bỏ dịch nổi được lặp lại 3 lần.

(Bước (c))

Bước (c) là bước trong đó phối tử kỵ nước, với bề mặt của hạt nano thu được trong bước (b) được bọc, được thế bằng phối tử ưa nước có nhóm carboxyl để tạo ra hạt có thể được phân tán trong dung môi phân cực mạnh.

Ví dụ, trong môi trường khí được chọn từ Ar và nitơ, hạt nano được bọc bằng phối tử kỵ nước được phân tán trong dung môi, và sau đó phối tử ưa nước có nhóm carboxyl được bổ sung. Các ví dụ về phối tử ưa nước có nhóm carboxyl bao gồm axit 2-[2-(2-metoxietoxy)etoxy]axetic (MEEA). Metanol thích hợp làm dung môi.

Dung dịch phản ứng được phản ứng ở nhiệt độ trong phòng hoặc trong khi được gia nhiệt, tốt hơn là ở 25°C đến 80°C trong khoảng 1 giờ đến 15 giờ, tốt hơn là 5 giờ đến 10 giờ. Với vai trò là một ví dụ, phản ứng được thực hiện bằng cách khuấy dung dịch phản ứng ở 50°C trong 7 giờ. Với vai trò là một ví dụ, phản ứng được thực hiện bằng cách khuấy dung dịch phản ứng ở 70°C trong 10 giờ. Với vai trò là một ví dụ khác, phản ứng được thực hiện bằng cách khuấy dung dịch phản ứng ở 70°C trong 5 giờ.

Dung dịch phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Sau đó, dung môi được chọn từ axeton và hexan được bổ sung, hỗn hợp thu được được ly tâm, và dịch nổi được loại bỏ. Công đoạn này có thể được lặp lại 2 lần đến 3 lần, tốt hơn là 4 lần đến 5 lần. Do đó dung dịch thu được có thể được làm khô tùy ý. Với vai trò là một ví dụ, công đoạn trên được lặp lại 3 lần.

(Bước (d))

Bước (d) là bước trong đó hạt kim loại thu được trong bước (c) và được bọc bằng phối tử ưa nước được phản ứng với hợp chất phối tử của sáng chế để thu được hạt nano trong đó bề mặt của hạt kim loại được bọc bằng hợp chất phối tử của sáng chế.

Lưu ý là hạt kim loại được bọc bằng phối tử ưa nước được phản ứng với hợp chất phối tử của sáng chế bằng cách được khuấy trong thời gian từ 1 giờ đến vài chục giờ trong môi trường khí được chọn từ Ar và nitơ và ở nhiệt độ trong phòng hoặc trong khi được gia nhiệt. Với vai trò là một ví dụ, phản ứng trên được thực hiện trong môi trường Ar. Nhiệt độ phản ứng là từ 25°C đến 80°C là một ví dụ, và 50°C đến 70°C là một ví dụ khác. Thời gian khuấy là 5 giờ đến 7 giờ là một ví dụ, và 24 giờ là một ví dụ khác. Với vai trò là một ví dụ, việc khuấy được thực hiện ở 70°C trong 12 giờ. Sau đó, dung dịch phản ứng thu được được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và dung môi được bổ sung. Hỗn hợp thu được được ly tâm, và dịch nổi được loại bỏ. Dung môi không bị giới hạn cụ thể, và có thể được chọn từ axeton, hexan, và loại tương tự. Với vai trò là một ví dụ, dung môi là axeton. Công đoạn bổ sung dung môi, thực hiện việc ly tâm, và loại bỏ dịch nổi có thể được lặp lại nhiều lần. Ví dụ, công đoạn này có thể được lặp lại 4 lần đến 5 lần. Với vai trò là một ví dụ, công đoạn trên được lặp lại 3 lần. Sau đó, dung dịch tạo thành chứa hạt nano được bọc bằng hợp chất phối tử của sáng chế có thể được cô bằng cách sử dụng cột cô hoặc dạng tương tự của thiết bị siêu lọc ly tâm hoặc tương tự. Công đoạn cô này có thể được lặp lại nhiều lần, trong đó dung dịch như PBS có thể được bổ sung vào một thời điểm nào đó, và sau đó công đoạn cô có thể được lặp lại.

Theo một khía cạnh của sáng chế, phần mô tả dưới đây sẽ đề cập đến một phương pháp khác để sản xuất hạt nano có hạt oxit sắt làm lõi.



Hạt oxit sắt (SNP-OA) được bọc bằng axit oleic được tạo huyền phù trong dung dịch hexan. Thể huyền phù tạo thành được trộn với 1,7% dung dịch nước tetrametylamoni hydroxit (TMA(OH)), và nó được lắc mạnh. Dung dịch tạo thành được ly tâm để tách lớp nước, và axeton được bổ sung. Hỗn hợp thu được được ly tâm ở 8000 vòng/phút đến 12000 vòng/phút trong thời gian từ 5 phút đến 10 phút, và dịch nổi được loại bỏ để thu được kết tủa. 2 mL dung dịch TMA(OH) 0,1% được bổ sung và được phân tán trong kết tủa, axeton được bổ sung lần nữa với lượng là 10 mL, và hỗn hợp thu được được cho phép kết tủa. Công đoạn này có thể được lặp lại nhiều lần, và được lặp lại tốt hơn là 3 lần đến 4 lần. Vì thế dung dịch thu được được phân tán trong dung dịch TMA(OH) 0,1% và được kết tủa.

Dung dịch TMA(OH) 0,1% được điều chế theo cách này trong quy trình trên, dung dịch của hợp chất phối tử, mà dung dịch được điều chế bằng việc sử dụng dung dịch TMA(OH) 0,1% đến 2% để đạt được độ pH là khoảng 8 đến 12, được bổ sung. Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ đến 24 giờ, và axeton được bổ sung. Hỗn hợp thu được được cho phép kết tủa và được ly tâm ở tốc độ 8000 vòng/phút đến 12000 vòng/phút trong thời gian từ 3 phút đến 10 phút, và dịch nổi được loại bỏ. Vì thế kết tủa thu được được phân tán trong dung dịch đệm phosphat, và dung dịch tạo thành được ly tâm ở 7000 vòng/phút đến 12000 vòng/phút với việc sử dụng cột cô để làm giảm lượng dung dịch. Dung dịch đệm phosphat được bổ sung lần nữa, và hỗn hợp thu được được ly tâm ở tốc độ 7000 đến 12000 vòng/phút trong thời gian từ 10 phút đến 20 phút để cô. Công đoạn này có thể được lặp lại nhiều lần, và được lặp lại tốt hơn là 3 lần đến 4 lần, tốt hơn nữa là 5 lần đến 10 lần. Dung dịch thu được theo cách này là dung dịch hạt oxit sắt được bọc bằng phối tử. Dung dịch này có thể được pha loãng bằng PBS và được

bảo quản.

### [3. Chất tương phản để chụp ảnh cộng hưởng từ (chất tương phản để MRI)]

Sáng chế cũng đề cập đến chất tương phản để chụp ảnh cộng hưởng từ mà chất tương phản này bao gồm hạt nano đã được mô tả ở trên.

Phần mô tả dưới đây sẽ bàn luận chi tiết về chất tương phản để MRI.

(Các thành phần khác nhau được chứa trong chất tương phản để MRI)

= Hạt nano =

Theo một phương án của sáng chế, chất tương phản để MRI theo sáng chế được đặc trưng bởi việc chứa ít nhất một loại hạt nano được mô tả ở trên. Theo một phương án khác của sáng chế, chất tương phản để MRI theo sáng chế có thể bao gồm tổ hợp của hai hoặc nhiều loại hạt nano được mô tả ở trên.

Ngoài ra, chất tương phản để MRI có thể chứa, nếu cần, dung môi và chất phụ gia được đựng ngoài hạt nano. Theo một phương án của chất tương phản để MRI theo sáng chế, chất tương phản này có thể còn chứa dung môi thích hợp và/hoặc ít nhất một chất được chọn từ các chất phụ gia như chất mang, chất dẫn, phức chất và dạng tương tự.

= Dung môi =

Các ví dụ về dung môi được chứa trong chất tương phản để MRI bao gồm nước, dung dịch đệm, và chất tương tự. Ngoài ra, các ví dụ về dung dịch đệm bao gồm nước muối sinh lý, dung dịch đệm phosphat, dung dịch đệm tris, dung dịch đệm axit boric, dung dịch Ringer, và chất tương tự. Trong trường hợp trong đó dạng liều lượng là chế phẩm tiêm, các ví dụ của dung môi có thể ưu tiên bao gồm nước, dung dịch Ringer, nước muối sinh lý, và chất tương tự.

Như vậy, chất tương phản để MRI theo sáng chế có thể là dung dịch thu được bằng cách tạo huyền phù hạt nano theo sáng chế trong dung dịch có chế phẩm mong muốn. Cụ thể, chất tương phản có thể là ở dạng dung dịch đậm như dung dịch đậm phosphat, dung dịch đậm tris, hoặc dung dịch đậm axit boric trong đó hạt nano được phân tán.

= Chất phụ gia =

Các ví dụ về chất phụ gia như chất mang, phức chất, và chất dẫn được chứa trong chất tương phản để MRI bao gồm chất mang, chất dẫn, và chất tương tự mà thường được sử dụng trong các lĩnh vực dược phẩm hoặc công nghệ sinh học. Các ví dụ về chất mang bao gồm polyme như polyetylen glycol, và hạt kim loại mịn, và chất tương tự. Các ví dụ về phức chất bao gồm axit diethylentriaminpentaaxetic (DTPA), axit 1,4,7,10-tetraazaxyclododecan-1,4,7,10-tetraaxetic (DOTA), và chất tương tự. Các ví dụ về chất dẫn bao gồm vôi, soda khan, natri silicat, tinh bột, keo, gelatin, tanin, cây mè riu, và chất tương tự.

Ngoài ra, chất tương phản để MRI theo sáng chế có thể còn chứa tá dược, chất làm trơn, chất thấm ướt, chất nhũ hóa, huyền phù, chất bảo quản, chất điều chỉnh độ pH, và chất kiểm soát áp suất thẩm thấu, và chất tương tự.

(Dạng liều lượng)

Dạng liều lượng của chất tương phản để MRI theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, và có thể là chất lỏng, chất rắn hoặc chất bán rắn, hoặc chất bán lỏng. Các dạng liều lượng này có thể dễ dàng được bào chế theo phương pháp được biết rõ với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Trong trường hợp trong đó dạng liều lượng là chất lỏng, chất lỏng này có thể là chất lỏng mà thu được bằng cách phân tán, tạo huyền phù, hoặc hòa tan hạt nano theo sáng chế trong, ví dụ,

dung môi nước sao cho chất lỏng này chứa hạt nano. Ngoài ra, chất tương phản có thể ở dạng chất đông khô, và được phân tán, được tạo huyền phù, hoặc được hòa tan khi được sử dụng.

(Nồng độ của hạt nano)

Nồng độ của hạt nano trong chất tương phản để MRI được xác định là thích hợp theo mục đích, mô được tạo ảnh, và tương tự. Ví dụ, nồng độ được chọn sao cho nồng độ được chọn trong khoảng trong đó (i) khả năng tương phản thích hợp được thể hiện và (ii) mức độ ảnh hưởng lên sinh vật sống là có thể dung chịu.

Hạt nano theo sáng chế, ngay cả khi được chứa ở nồng độ cao, ít có khả năng bị kết tụ và do đó có khả năng duy trì sự ổn định. Theo đó, hạt nano của sáng chế có thể duy trì, ổn định và trong một thời gian dài, khả năng tương phản MRI cao hơn so với hạt nano đã được biết rõ.

Ví dụ, trong trường hợp trong đó chất tương phản để MRI là chất lỏng là dung dịch nước, các ví dụ về nồng độ của hạt nano trong chất lỏng khi, ví dụ, chất lỏng được sử dụng là chế phẩm tiêm thông thường bao gồm 0,1 mM Fe/mL đến 1000 mM Fe/mL, tốt hơn là 1,0 mM Fe/mL đến 500 mM Fe/mL, tốt hơn nữa là 5,0 mM Fe/mL đến 100 mM Fe/mL, và, theo một khía cạnh, 10 mM Fe/mL đến 500 mM Fe/mL, và, theo một khía cạnh khác, 5,0 mM Fe/mL đến 50 mM Fe/mL.

(Đối tượng sử dụng)

Đối tượng sử dụng mà chất tương phản theo sáng chế được sử dụng có thể là, ví dụ, một sinh vật nhất định không phải người hoặc là người. Các ví dụ về sinh vật mà không phải là người bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, động vật có vú (ví dụ, loài gặm nhấm, chuột nhắt, chuột cống, thỏ, khỉ, chó, mèo, cừu, bò, động

vật linh trưởng, lợn, và tương tự), chim, bò sát, lưỡng cư, cá, côn trùng, và thực vật. Theo một khía cạnh, động vật có thể là động vật chuyển gen, động vật được thiết kế di truyền, hoặc động vật vô tính. Ngoài ra, đối tượng sử dụng có thể là đối tượng mà không phải là sinh vật sống, ví dụ, mẫu mô hoặc vật liệu sinh học bao gồm tế bào.

(Cách sử dụng chất tương phản để MRI được áp dụng)

Như được mô tả ở trên, có hai loại chất tương phản để MRI, cụ thể là, chất tương phản dương tính và chất tương phản âm tính.

Theo một phương án của sáng chế, chất tương phản để MRI theo sáng chế là chất tương phản dương tính. Theo một phương án khác, chất tương phản là chất tương phản âm tính.

Chất tương phản để MRI theo sáng chế được sử dụng cho việc, ví dụ, chẩn đoán tổn thương và khối u và tương tự bằng cách sử dụng thiết bị MRI. Ví dụ, chất tương phản có thể dễ dàng được sử dụng để kiểm tra chức năng thận, phát hiện khối u gan, chụp mạch máu trong gan, và tương tự. Lưu ý là thiết bị MRI có thể là thiết bị nhất định, và thiết bị MRI đã được biết rõ có thể được sử dụng. Từ trường được áp dụng có thể là, ví dụ, 1 T, 1,5 T, 3 T, và 7 T. Một ví dụ về phương pháp chẩn đoán bằng cách sử dụng chất tương phản theo sáng chế bao gồm các bước: sử dụng chất tương phản dương tính cho đối tượng sống như người *in vivo* hoặc *in vitro*; và sau đó tạo hình ảnh của đối tượng bằng cách sử dụng thiết bị MRI.

Trong số các chất tương phản đã biết thông thường để MRI, hợp chất thuận từ được sử dụng làm chất tương phản dương tính, và hạt nano siêu thuận từ được sử dụng làm chất tương phản âm tính. Hạt nano theo sáng chế là siêu thuận từ, nhưng có thể cũng được sử dụng làm chất tương phản dương tính. Tính siêu thuận

từ được tạo ra khi vùng chứa tinh thể có các spin không ghép đôi đủ lớn để được coi là đơn độc, miền độc lập về mặt nhiệt động học của hạt được gọi là "miền từ tính". Miền từ tính là lưỡng cực từ thực mà lớn hơn tổng số các không ghép đôi riêng lẻ trong miền từ tính này. Trong khi không có từ trường được áp dụng, tất cả các miền từ tính được định hướng ngẫu nhiên, và theo đó không có sự từ hóa thực. Khi từ trường bên ngoài được áp dụng, các momen lưỡng cực trong tất cả các miền từ tính được tổ chức lại. Kết quả là, momen từ tính thực được tạo ra. Các quy trình hồi giãn  $T_1$ ,  $T_2$ , và  $T_2^*$  được rút ngắn bằng các hạt từ tính. Theo một phương án của sáng chế, chất tương phản theo sáng chế có khả năng tương phản được biểu diễn bằng độ hồi giãn  $r_2$  là  $15 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  đến  $19 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  và độ hồi giãn  $r_1$  là  $9 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  đến  $12 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , ở nhiệt độ trong phòng và với từ trường là 1 T. Theo một phương án khác của sáng chế, chất tương phản theo sáng chế có khả năng tương phản được biểu diễn bằng độ hồi giãn  $r_2$  là  $5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  đến  $7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  và độ hồi giãn  $r_1$  là  $3 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  đến  $5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , ở nhiệt độ trong phòng và trong từ trường là 1 T.

Độ hồi giãn phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau như (i) đường kính hạt của hạt kim loại trong hạt nano của chất tương phản để MRI, (ii) thành phần của kim loại này, (iii) điện tích và các tính chất của bề mặt của hạt này, (iv) độ ổn định của hạt, và (v) sự kết tụ và khả năng kết nối với mô trong sinh vật sống. Tỷ lệ độ hồi giãn  $r_1/r_2$  thường được sử dụng để định lượng một loại tương phản được tạo ra trong MRI, và có thể được sử dụng như là một chỉ số về hiệu suất của chất tương phản.

Tốt hơn là giá trị  $r_1/r_2$  của chất tương phản dương tính để MRI theo sáng chế trong trường hợp trong đó từ trường là 1 T được áp dụng bên ngoài càng cao càng tốt. Ví dụ, giá trị  $r_1/r_2$  trong trường hợp trong đó từ trường là 1 T tốt hơn là 0,5 hoặc lớn hơn, tốt hơn nữa là 0,6 hoặc lớn hơn, và còn tốt hơn nữa là 0,7 hoặc

lớn hơn. Trong trường hợp trong đó giá trị  $r_1/r_2$  là 0,5 hoặc lớn hơn, chất tương phản dương tính thể hiện hiệu ứng T1 (dương tính) vượt trội và, ngay cả trong phép đo MRI với từ trường cao hơn, thể hiện hiệu ứng tương phản cao với độ phân giải cao. Từ quan điểm tăng đáng kể hiệu ứng tương phản và giảm lượng chất tương phản dương tính để MRI được sử dụng, giá trị  $r_1/r_2$  tốt hơn là 0,7 hoặc lớn hơn.

Với hạt nano theo sáng chế, chiều dài chuỗi phân tử của phổi tử ngắn hơn chiều dài của phổi tử thông thường, và vỏ phổi tử mà lõi được bọc bằng vỏ này là mỏng hơn. Độ mỏng của vỏ phổi tử làm giảm khoảng cách giữa hạt kim loại được sử dụng làm lõi và phân tử nước bên ngoài, và cho phép độ hồi giãn được thể hiện một cách hiệu quả.

Trong chất tương phản để MRI theo sáng chế, hạt kim loại có thể có đường kính hạt là 2 nm hoặc nhỏ hơn, hoặc trong một ví dụ, 1 nm hoặc nhỏ hơn. Chất tương phản để MRI theo sáng chế vì thế có thể được sử dụng làm chất tương phản dương tính với thiết bị MRI là 7 T hoặc lớn hơn. Với vai trò là một ví dụ, chất tương phản để MRI theo sáng chế bao gồm chất tương phản dương tính để MRI được sử dụng với thiết bị MRI là 7 T hoặc nhỏ hơn. Với vai trò là một ví dụ, chất tương phản để MRI theo sáng chế bao gồm chất tương phản dương tính để MRI được sử dụng với thiết bị MRI là 3 T hoặc nhỏ hơn.

(Độc tính và độ ổn định)

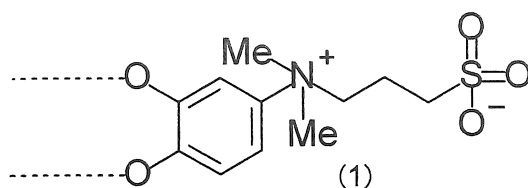
Chất tương phản để MRI theo sáng chế thể hiện độ ổn định cao của hạt nano. Như được thể hiện trong ví dụ 4 (được mô tả dưới đây), người ta đã khẳng định được rằng chất tương phản có thể được bảo quản trong dung dịch trong khoảng thời gian dài ở nhiệt độ trong phòng hoặc ở 4°C mà không diễn ra việc kết tụ. Ngoài ra, chất tương phản có độc tính thấp với sinh vật. Điều này cho phép sử dụng chất

tương phản trong thời gian dài và liên tục cho sinh vật sống.

#### [4. Hợp chất phối tử]

Sáng chế cũng đề cập đến (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl) (3-sulfonat propyl)amoni được biểu diễn bằng công thức (2) nêu trên và sử dụng (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni để sản xuất hạt nano.

Hợp chất trên có thể được sử dụng để sản xuất hạt nano theo sáng chế. Cụ thể, hợp chất được phản ứng với hạt kim loại được bọc bằng phối tử ưa nước hoặc chất tương tự để gây ra phản ứng thế phối tử. Việc này tạo ra hạt nano trong đó hạt kim loại được bọc bằng phối tử theo sáng chế mà phối tử có công thức cấu tạo được biểu diễn bằng công thức (1) dưới đây:

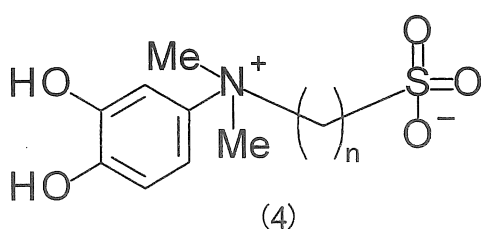


trong đó đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.

Theo một phương án của sáng chế, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng làm phối tử mà được liên kết với hạt kim loại được sử dụng làm lõi trong hạt nano được chế tạo từ (i) kim loại được chọn từ Fe, Gd, và Mn, (ii) dẫn xuất kim loại của nó, và (iii) tổ hợp của (i) và (ii). Các ví dụ về dẫn xuất kim loại bao gồm oxit, nitrua, carbua, và sulfua. Ví dụ, hạt kim loại và hợp chất được liên kết với nhau bằng liên kết phối trí giữa nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại và nguyên tử oxy.



Theo một khía cạnh khác của hợp chất phối tử theo sáng chế, hợp chất phối tử là hợp chất được biểu diễn bằng công thức (4) dưới đây. Trong phản ứng thế phối tử nêu trên, ion hydro được nhả ra từ hai nhóm hydroxyl của hợp chất này, và mỗi nguyên tử oxy còn lại tạo thành liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này. Vì thế đã tạo thành hạt nano theo một khía cạnh khác của sáng chế.



trong đó  $n$  là số nguyên từ 1 đến 4.

Hợp chất theo một khía cạnh khác của sáng chế là hợp chất mà được biểu diễn bằng công thức (4) nêu trên trong đó  $n$  bằng 1, 2, hoặc 4, tốt hơn là bằng 2 hoặc 4, và tốt hơn nữa là bằng 4.

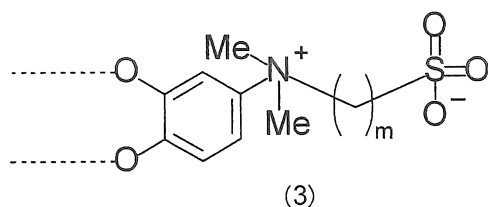
Hợp chất được biểu diễn bằng công thức (4) nêu trên được sử dụng một cách thích hợp làm vật liệu để sản xuất hạt nano theo một khía cạnh khác của sáng chế mà hạt nano bao gồm (i) hạt kim loại chứa oxit sắt và (ii) phối tử mà được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại và được biểu diễn bằng công thức (3) nêu trên.

[5. Các ví dụ về các khía cạnh cụ thể theo sáng chế]

Để giải quyết vấn đề trên, sáng chế bao gồm trong phạm vi của nó một khía cạnh bất kỳ dưới đây.

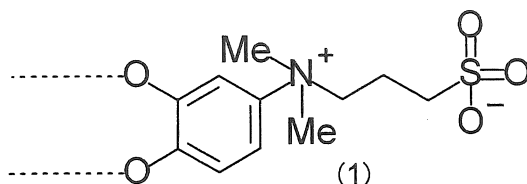
<1> Hạt nano bao gồm: hạt kim loại chứa oxit sắt; và phối tử mà được liên

kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại và được biểu diễn bằng công thức (3):



trong đó m là số nguyên từ 1 đến 4, và đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.

<2> Hạt nano như được nêu trong mục <1> ở trên, trong đó phối tử được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại là phối tử được biểu diễn bằng công thức dưới đây (1):



trong đó đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.

<3> Hạt nano như được nêu trong mục <1> ở trên, trong đó m bằng 1, 2, hoặc 4 trong công thức (3) nêu trên.

<4> Hạt nano như được nêu trong mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <3> ở trên, trong đó hạt kim loại chứa oxit sắt là hạt oxit sắt.

<5> Hạt nano như được nêu trong mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <4> ở trên, trong đó hạt kim loại có đường kính hạt trung bình là 5 nm hoặc nhỏ

hơn.

<6> Hạt nano như được nêu trong mục <5> ở trên, trong đó hạt kim loại có đường kính hạt trung bình là 4 nm hoặc nhỏ hơn.

<7> Hạt nano như được nêu trong mục <5> ở trên, trong đó hạt kim loại có đường kính hạt trung bình là 3 nm hoặc nhỏ hơn.

<8> Chất tương phản để tạo ảnh cộng hưởng từ, chứa hạt nano được nêu trong mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> ở trên.

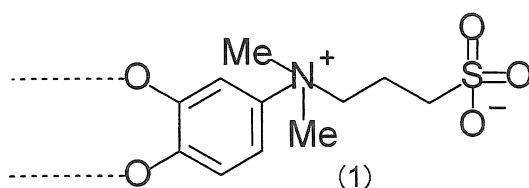
<9> Chất tương phản như được nêu trong mục <8> ở trên, trong đó chất tương phản này là chất tương phản dương tính.

<10> Sử dụng (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni để sản xuất hạt nano được nêu trong mục <2> ở trên.

<11> (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni.

Ngoài ra, sáng chế bao gồm trong phạm vi của nó các khía cạnh sau đây là các khía cạnh khác của sáng chế:

<12> Hạt nano, bao gồm: hạt kim loại chứa oxit sắt; và phối tử mà được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này và được biểu diễn bằng công thức (1):



trong đó đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.

<13> Hạt nano như được nêu trong mục <12> ở trên, trong đó hạt kim loại chứa oxit sắt là hạt oxit sắt.

<14> Hạt nano như được nêu trong <12> hoặc <13> ở trên, trong đó hạt kim loại có đường kính hạt trung bình là 5 nm hoặc nhỏ hơn.

<15> Chất tương phản để tạo ảnh cộng hưởng từ, chứa hạt nano được nêu trong mục bất kỳ trong số các mục từ <12> đến <14> ở trên.

<16> Chất tương phản như được nêu trong mục <15> ở trên, trong đó chất tương phản này là chất tương phản dương tính.

<17> Sử dụng (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni để sản xuất hạt nano được nêu trong mục bất kỳ trong số các mục từ <12> đến <14> ở trên.

<18> (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni.

Sáng chế không bị giới hạn bởi các phương án này, mà có thể được thay đổi bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ. Sáng chế còn bao hàm, trong phạm vi kỹ thuật của nó, phương án bất kỳ được tạo ra bằng cách kết hợp các phương pháp kỹ thuật được bộc lộ trong các phương án khác nhau. Ngoài ra, cũng có thể tạo thành dấu hiệu kỹ thuật mới bằng cách kết hợp các phương pháp kỹ thuật được bộc lộ trong các phương án tương ứng.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

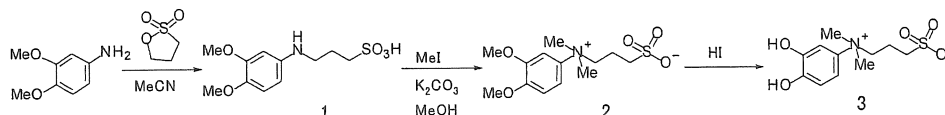
Phần dưới đây sẽ đưa ra các ví dụ để mô tả sáng chế một cách cụ thể hơn.

[Ví dụ 1. Quy trình tổng hợp 1 để tổng hợp hợp chất phối tử]

Theo sơ đồ 1 dưới đây, (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni (DDSA; hợp chất 3 của sơ đồ 1), là hợp chất phối tử theo sáng chế,

được tổng hợp.

### Sơ đồ 1



Phản sau đây mô tả chi tiết từng bước.

1,3-propan sulton (5,98 g, 49,0 mmol) được bổ sung vào axetonitril (100 mL) dung dịch 3,4-dimetoxyanilin (5,00 g, 32,6 mmol), và hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong môi trường argon trong 48 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc sạch, được rửa bằng axetonitril, và sau đó được làm khô. Hợp chất thu được theo cách này là axit 3-(3,4-dimetoxyanilino)propan-1-sulfonic (hợp chất 1) ở dạng bột màu xám (4,97 g, hiệu suất: 55%).

Hợp chất 1 thu được theo cách này (2,00 g, 7,26 mmol), kali cacbonat (2,01 g, 14,5 mmol), và iodometan (8,25 g, 58,1 mmol) được hòa tan trong metanol (50 mL), và hỗn hợp thu được được gia nhiệt đến nhiệt độ hồi lưu trong môi trường argon trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, và được tinh chế bằng sắc ký cột pha đảo (nước/axetonitril). Hợp chất thu được theo cách này là (3,4-dimetoxypheyl)(dimetyl) (3-sulfonat propyl)amoni (hợp chất 2) (2,16 g, hiệu suất: 98%).

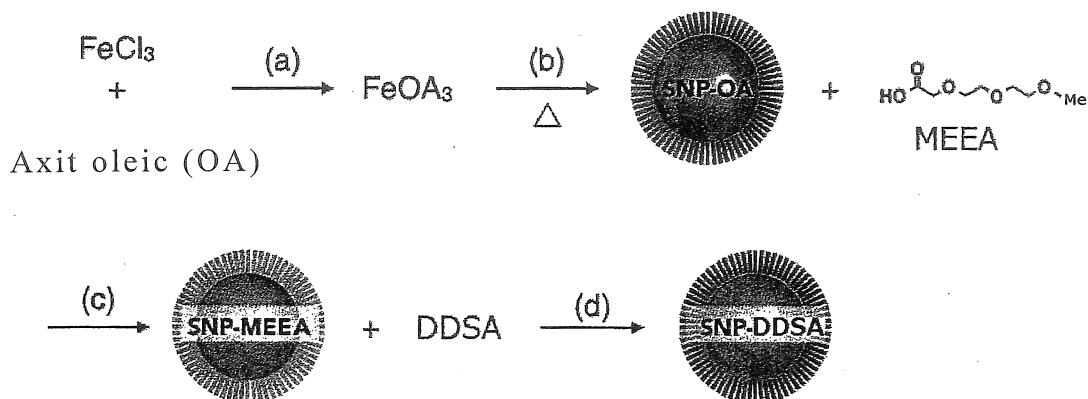
Hợp chất 2 thu được theo cách này (1,34 g, 4,42 mmol) được hòa tan trong axit hydriodic (10 mL), và hỗn hợp thu được được gia nhiệt đến nhiệt độ hồi lưu trong môi trường argon trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt trong chân không được làm khô, và sau đó nước (10 mL) được bổ sung. Một lần nữa, dung dịch thu được theo cách này được gia nhiệt trong chân không được làm khô. Sau đó một lần nữa phần cặn thu được được hòa tan trong nước (5 mL), và axeton (300

mL) được bổ sung. Hỗn hợp thu được được cho phép kết tủa, và sau đó kết tủa được lọc sạch. Hợp chất thu được theo cách này là (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl) (3-sulfonat propyl)amoni (DDSA, hợp chất 3) ở dạng bột màu trắng (420 mg, hiệu suất: 35%).

[Ví dụ 2. Quy trình sản xuất 1 để sản xuất hạt nano]

Theo quy trình được thể hiện trên sơ đồ 2, hạt nano (SNP-DDSA) mà (i) được bao gồm hạt nano oxit sắt (SNP) có đường kính hạt trung bình là 1,8 nm và sử dụng làm hạt lõi và (ii) được bọc bằng DDSA, được sản xuất.

Sơ đồ 2



Dưới đây mô tả các bước từ (a) đến (d) trong sơ đồ 2 một cách chi tiết.

<Bước (a)>

Bước (a) là bước trong đó axit oleic (OA) được bổ sung vào sắt(III) clorua để tạo phức ( $\text{FeOA}_3$ ) chứa axit oleic và ion sắt.

Sắt(III) clorua hexahydrat (2,16 g, 8 mmol), natri oleat (7,3 g, 24 mmol), 16 mL etanol, 12 mL nước, và 28 mL hexan được trộn trong bình 100-mL, và hỗn hợp thu được được khuấy ở  $70^\circ\text{C}$  trong 4 giờ. Lớp hữu cơ được thu thập và được chuyển sang phễu tách, 30 mL nước được bổ sung, phễu tách được lắc mạnh, và

lớp hữu cơ được thu gom. Công đoạn này được lặp lại 3 lần, và lớp hữu cơ thu được được làm khô. Vì thế thu được phức ( $\text{FeOA}_3$ ) chứa axit oleic và ion sắt.

#### <Bước (b)>

Bước (b) là bước trong đó  $\text{FeOA}_3$  được phản ứng với rượu oleylic để sản xuất hạt oxit sắt (SNP-OA) mà bề mặt của nó được bọc bằng axit oleic.

$\text{FeOA}_3$  (1,8 g, 2 mmol) thu được trong bước (a), rượu oleylic (3,22 g, 12 mmol) và 10 g diphenyl ete được bổ sung trong môi trường Ar. Hỗn hợp thu được được khử khí ở  $90^\circ\text{C}$  trong khi khuấy, và sau đó được gia nhiệt đến  $200^\circ\text{C}$  ở tốc độ  $10^\circ\text{C}/\text{phút}$ . Việc khuấy được tiếp tục ở  $200^\circ\text{C}$  trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và 50 mL axeton được bổ sung. Hỗn hợp thu được được ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 20 phút, và dịch nổi được lấy ra. Cho đến khi kết tủa thu được được phân tán hoàn toàn, cloroform được bổ sung (khoảng 0,5 mL). Ngoài ra, 10 mL axeton được bổ sung, sau đó hỗn hợp thu được được ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 20 phút, và dịch nổi được lấy ra. Công đoạn này được lặp lại 3 lần, và dịch nổi thu được được làm khô.

#### <Bước (c)>

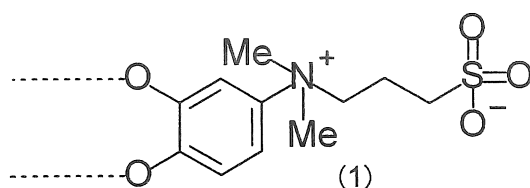
Bước (c) là bước trong đó axit oleyl, mà được bọc lên bề mặt của SNP-OA thu được trong bước (b), được thế bằng axit 2-[2-(2-metoxietoxy)etoxy]axetic (MEEA) để tạo ra hạt nano (SNP-MEEA) được bọc bằng phối tử ưa nước.

Trong môi trường Ar, 10 mg SNP-OA được phân tán trong 0,9 mL metanol, và 0,1 mL MEEA được bổ sung. Hỗn hợp thu được được khuấy ở  $70^\circ\text{C}$  trong 4 giờ. Dung dịch tạo thành được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và sau đó 8 mL axeton và 2 mL hexan được bổ sung. Hỗn hợp thu được được ly tâm ở 5800

vòng/phút trong 3 phút, và dịch nổi được lấy ra. Công đoạn này được lặp lại 3 lần, và dịch nổi thu được được làm khô. Hợp chất thu được theo cách này là SNP-MEEA. Ngoài ra, 300  $\mu$ L nước và 600  $\mu$ L DMF được bổ sung vào SNP-MEEA. Dung dịch tạo thành dưới đây được gọi là "dung dịch SNP-MEEA".

<Bước (d)>

Bước (d) là bước trong đó SNP-MEEA thu được trong bước (c) được phản ứng với (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonatpropyl) amoni (DDSA) để tạo ra hạt nano (SNP-DDSA) trong đó hạt oxit sắt được bọc bằng DDSA. Lưu ý là phối tử DDSA mà được bọc trên bề mặt của hạt oxit sắt trong hạt nano (SNP-DDSA) có công thức cấu tạo được biểu diễn bằng công thức (1) dưới đây.



trong đó đường nét đứt là liên kết phối trí giữa nguyên tử sắt trên bề mặt của hạt oxit sắt và nguyên tử oxy.

85 mg DDSA được bổ sung dưới dạng hợp chất phối tử vào 1 mL dung dịch SNP-MEEA trong môi trường Ar, và hỗn hợp thu được được khuấy ở 50°C trong 12 giờ. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và 20 mL axeton được bổ sung. Hỗn hợp thu được được ly tâm ở 5800 vòng/phút trong 3 phút, và dịch nổi được lấy ra. Kết tủa thu được được phân tán trong 2 mL dung dịch nước muối được đệm phosphat (PBS). Dung dịch thu được được ly tâm ở 8000 vòng/phút trong khoảng 30 phút bằng cách sử dụng thiết bị lọc siêu ly tâm Amicon 3K (Merck Millipore, dưới đây được viết tắt là "thiết bị lọc 3K") để giảm thể tích



của dung dịch đến khoảng 1/5. PBS được bổ sung sao cho tổng thể tích của dung dịch tạo thành là khoảng 2 mL, và dung dịch được ly tâm. Công đoạn này được lặp lại khoảng từ 5 lần đến 8 lần cho đến khi dung dịch nhỏ giọt tạo thành dịch lọc hoàn toàn không màu. Dung dịch thu được được pha loãng bằng PBS sao cho dung dịch tạo thành có thể tích 1 mL đến 1,5 mL. Dung dịch thu được theo cách này là dung dịch SNP-DDSA.

Dung dịch SNP-DDSA thu được trong bước (d) được bảo quản ở 4°C. Ngoài ra, nồng độ sắt trong dung dịch SNP-DDSA được xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử plasma kết hợp cảm ứng (inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy - ICP-AES). Fig. 1 là ảnh của SNP-DDSA được quan sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Từ kết quả quan sát bằng TEM, người ta ước lượng được rằng, dựa trên giá trị trung bình của đường kính lõi của 100 hạt, SNP-DDSA thu được có đường kính của hạt oxit sắt, mà được sử dụng làm lõi, có giá trị trung bình là 1,8 nm.

[Ví dụ 3. Phép đo đánh giá độ hồi giãn MR của hạt nano]

Hạt nano thu được trong ví dụ 2, SNP-DDSA, mà được bao gồm hạt oxit sắt có đường kính là 1,8 nm làm lõi, được sử dụng trong thử nghiệm dưới đây.

Đầu tiên, SNP-DDSA được pha loãng trong PBS để thay đổi nồng độ SNP-DDSA theo trình tự. Các dung dịch thu được từ đó được sử dụng làm các mẫu thử nghiệm. Đối với mỗi mẫu, độ hồi giãn được ước lượng bằng thiết bị MRI có cường độ từ trường 1 T.

Thứ nhất, hình ảnh trọng T1 thu được trong thiết bị MRI có cường độ từ trường 1 T. Các điều kiện đo T<sub>1</sub> và T<sub>2</sub> là như sau.

<Thiết bị MRI có cường độ từ trường 1 T>

Hình ảnh trọng T1

Chuỗi xung: MSME, TR = 400 miligiây, TE = 10 miligiây, độ dày lát cắt = 2 mm, số lát = 1, kích thước ma trận =  $256 \times 256$ , FOV =  $38,4 \times 38,4 \text{ mm}^2$ , thời gian quét = 1 phút 42 giây.

Đo T<sub>2</sub> (kỹ thuật chuỗi xung điểm vang spin điểm vang- multi echo spin echo technique)

Chuỗi xung: MSME, TR = 15000 miligiây, TE = 20 miligiây (chu trình TR và TE được lặp lại 256 lần (sử dụng các xung mao)), độ dày lát cắt = 2 mm, số lát cắt = 1, FOV =  $38,4 \times 38,4 \text{ mm}^2$ , kích thước ma trận =  $64 \times 64$ , thời gian quét = 16 phút 00 giây.

Đo T<sub>1</sub> (khôi phục đảo ngược)

Xung: SE-RARE, TR = 20000 giây, TE = 17 miligiây, NEX = 1, hệ số RARE = 4, số lát cắt = 1, độ dày lát cắt = 2 mm, FOV =  $38,4 \times 38,4 \text{ mm}^2$ , kích thước ma trận =  $64 \times 64$ . Thời gian quét cho mỗi lần quét = 21 phút 20 giây, thời gian đảo ngược = 45, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200, 6400, 8000, 10000, 12000 (11 lần đo)

Kết quả được thể hiện trên Fig. 2. (a) của Fig. 2 minh họa thể hiện kết quả đo các thời gian hồi giãn trong dung dịch PBS của SNP-DDSA thu được bằng cách pha loãng SNP-DDSA theo thứ tự. (b) của Fig. 2 là mỗi kết quả thu được bằng cách vẽ đồ thị thể hiện thời gian hồi giãn liên quan đến nồng độ nguyên tử sắt trong SNP-DDSA. Người ta khẳng định được từ hình (b) của Fig. 2 rằng mỗi T<sub>1</sub> và T<sub>2</sub> tương quan tuyến tính với nồng độ SNP. (c) của Fig. 2 thể hiện các giá trị của độ hồi giãn r<sub>1</sub> và r<sub>2</sub> được xác định từ độ dốc của đường được vẽ đồ thị trên (b) của Fig. 2, và

giá trị  $r_1/r_2$ .

Theo các kết quả trên, giá trị  $r_1/r_2$  ở 1 T là 0,71. Giá trị này là cao nhất giữa các giá trị  $r_1/r_2$  thu được bằng các SNP được báo cáo thông thường bao gồm hạt oxit sắt làm lõi, sau khi sự ảnh hưởng của độ mạnh từ trường được điều chỉnh. Điều này chỉ ra rằng SNP-DDSA hứa hẹn sẽ được áp dụng để sử dụng làm chất tương phản dương tính.

[Ví dụ 4. Thử nghiệm đánh giá độ ổn định]

Để chất tương phản chứa hạt nano thể hiện tính năng kỳ vọng, điều cần thiết là hạt nano phải được phân tán ổn định trong dung dịch. Người ta cũng mong muốn rằng thể phân tán của hạt nano được duy trì trong khoảng thời gian dài ngay cả ở trạng thái trong đó hạt nano được bao gồm ở nồng độ cao.

Thông thường, độ ổn định phân tán của hạt nano được đánh giá bằng phương pháp sắc ký loại trừ theo kích thước (size exclusion chromatography - SEC) hoặc tán xạ ánh sáng động học (dynamic light scattering - DLS).

SEC là một kỹ thuật phân tích trong đó (i) mẫu được làm cho chạy qua cột được điền đầy chất mang có các lỗ xốp và (ii) kích cỡ của mẫu được ước lượng trên cơ sở thời gian mà mẫu cần để thoát ra khỏi cột này. Các khối kết tụ lớn không thể đi vào các lỗ xốp của chất mang, và vì thế nhanh chóng được thoát ra khỏi cột. Các hạt nano nhỏ đi qua các lỗ xốp này của chất mang, và vì thế được thoát ra khỏi cột chậm do theo lộ trình dài hơn trước khi được thoát ra khỏi cột. Do đó, có thể kiểm tra động thái kết tụ trên cơ sở thay đổi thời gian cần để mẫu được thoát ra.

DLS là phương pháp ước lượng bán kính thủy động lực của đối tượng trong dung dịch trên cơ sở tốc độ thay đổi thời gian về cường độ và hướng của ánh sáng

được tán xạ bởi đối tượng trong dung dịch. Có thể kiểm tra động thái kết tụ trên cơ sở phân bố và giá trị trung bình của bán kính thủy động lực thu được bằng phép đo này.

Để kiểm tra độ ổn định của hạt nano, SNP-DDSA thu được trong ví dụ 2 nêu trên được làm đông khô và sau đó được phân tán trong PBS để đạt được nồng độ ion Fe là 100 mM. Dung dịch thu được theo cách này được sử dụng làm mẫu thử nghiệm.

Mẫu thử nghiệm được để yên ở 4°C và ở nhiệt độ trong phòng (20°C), lần lượt. 1 ngày, 7 ngày, và 28 ngày sau đó, mỗi mẫu thử nghiệm được tiến hành phương pháp SEC và DLS để kiểm tra mức độ kết tụ. Các điều kiện đo SEC và điều kiện đo DLS là như sau.

<Điều kiện SEC>

Lưu lượng: 0,3 mL/phút

Dung môi rửa giải: PBS

Cột: Shodex KW403-4F

Bộ dò: UV 280 nm, PDA 200 nm đến 650 nm

<Điều kiện DLS>

Thiết bị: Malvern Zetasizer nano

Dung dịch được pha loãng sao cho đạt được nồng độ ion Fe là khoảng 1 mM, và được tiến hành đo.

Việc quan sát đối tượng bằng SEC và DLS trong 28 ngày cho thấy rằng, ở cả 4°C và nhiệt độ trong phòng, (i) không có sự xuất hiện của một đỉnh mới cũng

như không có sự dịch chuyển của đỉnh diễn ra trong quá trình đo bằng SEC và (ii) sự phân bố và giá trị trung bình của bán kính thủy động lực khó bị thay đổi trong quá trình đo bằng DLS. Không có sự kết tụ của SNP-DDSA quan sát được theo cách này, và người ta khẳng định được rằng hạt nano có độ ổn định vượt trội.

[Ví dụ 5. Đo MRI bằng cách sử dụng chuột]

Chất tương phản chứa SNP-DDSA (hạt nano bao gồm hạt oxit sắt có đường kính là 1,8 nm làm lõi) được tạo ra trong ví dụ 2 được sử dụng cho chuột cống, và các hình ảnh trọng T1 thu được bằng cách sử dụng thiết bị MRI 1 T. Các điều kiện đo như sau.

Động vật: Chuột C57BL/6j jms, đực, có thể trọng là 27,8 g

Nồng độ của hạt nano được sử dụng: 40 mM

Liều lượng: 200  $\mu$ L

Cường độ từ trường: 1 T

Chế độ tạo ảnh: Hình ảnh trọng T<sub>1</sub> (các Fig. 3 đến 5), chụp mạch MR (Fig. 6)

Thiết bị được sử dụng: Hệ thống MRI có cường độ từ trường 1 T (được sản xuất bởi Bruker Biospin, ICON, cuộn dây solenoit)

<Thiết bị MRI có cường độ từ trường 1 T>

Các hình ảnh trọng T1

Chuỗi xung: MSME (Mulch Slice Mulch Echo - nhiều lát cắt nhiều điểm vang), hướng lát cắt = mặt cắt ngang, TE/TR = 10,464 / 400 miligiây, quang trường = 40  $\times$  40 mm<sup>2</sup>, kích thước ma trận = 256  $\times$  256, số lát cắt = 15, độ dày lát cắt = 1 mm, khoảng trống giữa các lát cắt = 2 mm, số trung bình = 8, thời gian quét = 13 phút

39 giây

<Chụp mạch MR>

Chuỗi xung: FLASH (Fast Low Angle Shot - chụp góc thấp nhanh), hướng lát cắt = mặt cắt ngang, TE/TR = 5,954 / 15 miligiây, quang trường =  $28,8 \times 28,8 \text{ mm}^2$ , kích thước ma trận =  $192 \times 192$ , số lát cắt = 1, độ dày lát cắt = 1 mm, số trung bình = 32, thời gian quét = 1 phút 32 giây

Lưu ý là một lát cắt hình ảnh được chụp ở 3 phần riêng biệt, do việc thực hiện tạo ảnh cùng một lúc sẽ làm giảm tín hiệu từ máu.

Việc tạo hình ảnh được thực hiện trước khi dùng chất tương phản, và sau đó 200  $\mu\text{L}$  dung dịch SNP-DDSA 40 mM được dùng trong tĩnh mạch. Sau đó, việc tạo hình ảnh được thực hiện ở các thời điểm khác nhau để tiến hành quan sát theo dõi đến 3 giờ sau khi sử dụng.

Các kết quả được thể hiện trên các Fig. 3 đến 6.

(a) của Fig. 3 thể hiện các hình ảnh của bàng quang chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian, lần lượt ở các thời điểm sau đây: trước khi sử dụng (trước), ngay sau khi sử dụng (sau), 30 phút sau khi sử dụng (30 phút), và 3 giờ sau khi sử dụng (3 giờ). (a) Fig. 3 thể hiện các hình ảnh của bàng quang chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian, lần lượt ở các thời điểm sau đây: trước khi sử dụng (trước), ngay sau khi sử dụng (sau), 1 giờ sau khi sử dụng (1 giờ), và 2 giờ sau khi sử dụng (2 giờ). Thực tế là việc tích lũy nước tiểu đã được quan sát từ ngay sau khi sử dụng

đã đề xuất rằng chất tương phản được bài tiết dưới dạng nước tiểu từ thận.

Hình (a) của Fig. 4 thể hiện các hình ảnh của thận chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian, lần lượt ở các thời điểm sau đây: trước khi sử dụng (trước), ngay sau khi sử dụng (sau), 30 phút sau khi sử dụng (30 phút), và 3 giờ sau khi sử dụng (3 giờ). (b) của Fig. 4 thể hiện các hình ảnh của thận chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian, lần lượt ở các thời điểm sau đây: trước khi sử dụng (trước), ngay sau khi sử dụng (sau), 1 giờ sau khi sử dụng (1 giờ), và 2 giờ sau khi sử dụng (2 giờ). Thực tế là cả hai tín hiệu từ bể thận và tín hiệu từ vỏ thận đều tăng ngay sau khi sử dụng đã đề xuất rằng chất tương phản được bài tiết dưới dạng nước tiểu qua thận. Ngoài ra, việc quan sát các tín hiệu này đã đề xuất rằng chất tương phản có thể có tiềm năng được sử dụng trong việc kiểm tra chức năng thận.

Fig. 5 thể hiện các hình ảnh của gan chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc xác định MRI được thực hiện theo thời gian. Các tín hiệu từ gan giảm dần từ ngay sau khi sử dụng (trong các hình ảnh, các phần ban đầu trông có vẻ hơi trắng bị thâm dần từ ngay sau khi sử dụng). Việc giảm tín hiệu này được tin là do việc rút ngắn thời gian hồi giãn T2 do nồng độ và sự tích tụ của chất tương phản trong hệ thống lưới nội mô của gan. Do hiện tượng này không diễn ra trong trường hợp ung thư gan, nên người ta đã đề xuất rằng chất tương phản có thể được sử dụng để phát hiện khối u gan.

Ngoài ra, các tín hiệu từ nhiều mạch máu của gan được tăng lên. Điều này

đã đề xuất rằng chất tương phản cho phép tạo ảnh có độ tương phản cao đối với mạch máu của gan.

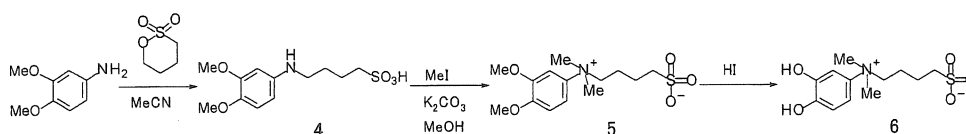
Fig. 6 thể hiện các hình ảnh mạch máu của chuột mà trong đó chất tương phản chứa SNP-DDSA của ví dụ 2 được sử dụng, mà các hình ảnh thu được là kết quả của việc chụp mạch máu MR được thực hiện theo thời gian.

Trong chụp mạch máu, như được chỉ ra trong trong các mặt cắt ngang trên Fig. 6, các tín hiệu từ mạch máu tăng ngay sau khi sử dụng, và tình trạng này tăng liên tục trong thời gian không ít hơn 30 phút.

[Ví dụ 6. Quy trình tổng hợp 2 để tổng hợp hợp chất phối tử]

Theo sơ đồ 3 dưới đây, (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(4-sulfonat butyl)amoni (C4-DDSA; hợp chất 6), là hợp chất phối tử theo một khía cạnh khác của sáng chế, trong khía cạnh này  $n = 4$  trong công thức (4) nêu trên, được tổng hợp.

### Sơ đồ 3



Phần sau đây mô tả chi tiết từng bước.

1,4-Butansulton (1,60 mL) được bổ sung vào hỗn hợp của 3,4-dimetoxyanilin (2,00 g) và axetonitril (50 mL), và hỗn hợp thu được được khuấy ở 115°C. Trong khi khuấy, 1,4-butansulton (1,33 mL) được bổ sung hai lần. Việc khuấy được thực hiện trong thời gian tổng cộng là 24 giờ. Sau khi hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, chất rắn được lọc sạch, được rửa bằng



axetonitril, và sau đó được làm khô ở 50°C trong áp suất giảm để thu được axit 4-(3,4-dimetoxyanilino) butan-1-sulfonic (2,97g).

MASS (ESI+): 290

Với hỗn hợp của hợp chất 4 thu được theo cách này (2,97 g), kali cacbonat (3,40 g), và metanol (45 mL), iodometan (5,76 mL) được bổ sung. Hỗn hợp thu được được khuấy ở 50°C trong 3 ngày. Hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và sau đó được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel pha đảo (axetonitril/nước) để thu được (3,4-dimetoxyphenyl)(dimetyl)(4-sulfonat butyl)amoni (3,12 g).

MASS (ESI+): 318

Hỗn hợp của hợp chất 5 thu được theo cách này (3,12 g) và axit hydriodic 57% (13 mL) được khuấy ở 110°C. Trong khi khuấy, axit hydriodic 57% (13 mL) được bổ sung. Việc khuấy được thực hiện trong thời gian tổng cộng là 16 giờ. Sau khi hỗn hợp thu được được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, nước (20 mL) được bổ sung và hỗn hợp thu được được cô. Nước (20 mL) được bổ sung lần nữa, và hỗn hợp thu được được cô. Với phần cặn thu được, nước (2 mL) và axeton (35 mL) được bổ sung. Hỗn hợp thu được được khuấy trong 30 phút trong điều kiện làm lạnh bằng nước đá, và dịch nổi được loại bỏ. Ngoài ra, với phần cặn thu được, nước (2 mL) và axeton (25 mL) được bổ sung, và hỗn hợp thu được được khuấy trong 30 phút trong điều kiện làm lạnh bằng nước đá, và dịch nổi được loại bỏ. Công đoạn này được lặp lại một lần nữa, và sản phẩm tạo thành được làm khô ở 50°C dưới áp suất giảm để thu được (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(4-sulfonat butyl)amoni (C4-DDSA, hợp chất 6) (2,50 g).

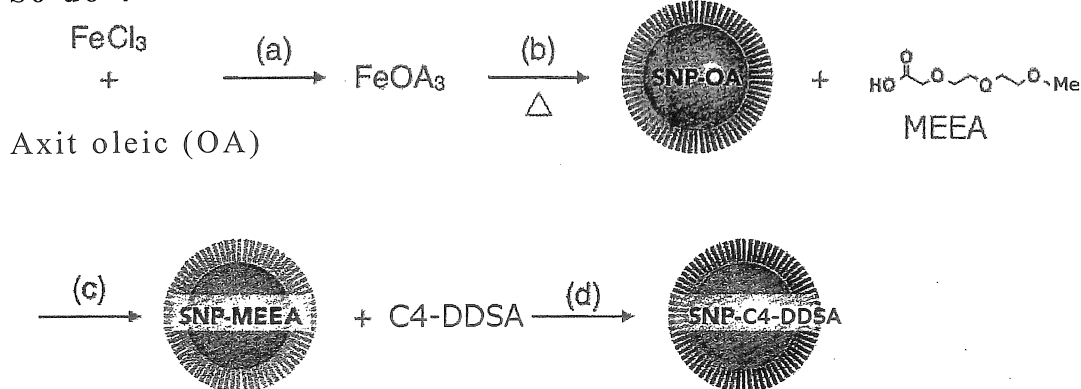
MASS (ESI+): 290

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,36 - 1,57 (4 H, m) 2,32 - 2,41 (2 H, m) 3,41 - 3,48 (6 H, m) 3,69 - 3,86 (2 H, m) 6,86 (1 H, d,  $J = 8,8$  Hz) 7,07 (1 H, dd,  $J = 8,8, 3,1$  Hz) 7,23 (1 H, d,  $J = 3,1$  Hz) 9,57 (1 H, br s) 9,80 (1 H, br s)

[Ví dụ 7. Quy trình sản xuất 2 để sản xuất hạt nano]

Theo sơ đồ 4 dưới đây, hạt nano (SNP-C4-DDSA) mà được bao gồm hạt nano oxit sắt (SNP) sử dụng làm hạt lõi và được bọc bằng C4-DDSA được sản xuất.

Sơ đồ 4



Dưới đây mô tả các bước từ (a) đến (d) trong sơ đồ 4 nêu trên một cách chi tiết.

<Bước (a)>

Bước (a) là bước trong đó axit oleic (OA) được bổ sung vào sắt(III) clorua để tạo phức (FeOA<sub>3</sub>) chứa axit oleic và ion sắt. Bước (a) có thể được thực hiện theo bước (a) trong sơ đồ 2 được mô tả ở trên.

<Bước (b)>

Bước (b) là bước trong đó FeOA<sub>3</sub> được phản ứng với rượu oleylic để tạo ra SNP-OA.

FeOA<sub>3</sub> (6,00 g), rượu oleylic (10,7 g), và diphenyl ete (33,5 g) được bổ

sung. Hỗn hợp thu được được khử khí ở 90°C dưới áp suất giảm trong 2 giờ trong khi khuấy. Sau đó, áp suất được thay đổi đến áp suất bình thường bằng cách sử dụng argon, và hỗn hợp được gia nhiệt đến 230°C trong khoảng thời gian 16 phút và được khuấy ở 230°C trong 37 phút (trong 30 phút sau khi nhiệt độ bên trong vượt quá 220°C). Sau đó, hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và sau đó hexan (5 mL) và axeton (150 mL) được bổ sung. Hỗn hợp thu được được ly tâm ở 8000 vòng/phút và 10°C trong 10 phút, và dịch nổi được loại bỏ. Hexan (24 mL) và axeton (150 mL) được bổ sung, hỗn hợp thu được được ly tâm trong cùng điều kiện, và dịch nổi được loại bỏ. Công đoạn này được lặp lại một lần nữa để thu được SNP-OA (1,02 g).

#### <Bước (c)>

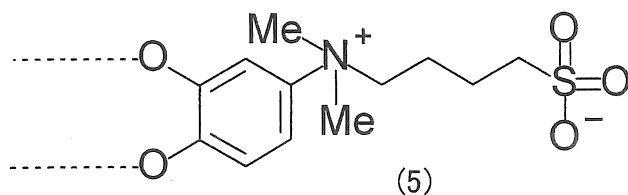
Bước (c) là bước trong đó axit oleyl, mà được bọc trên bề mặt SNP-OA thu được trong bước (b), được thế bằng MEEA để tạo ra SNP-MEEA.

Trong môi trường Ar, hỗn hợp của SNP-OA (20 mg), MEEA (500  $\mu$ L), và metanol (1,5 mL) được khuấy ở 70°C trong 6 giờ. Sau khi hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, axeton (4 mL) và hexan (16 mL) được bổ sung, hỗn hợp thu được được ly tâm ở 7800 vòng/phút và 10°C trong 10 phút, và dịch nổi được lấy ra. Công đoạn này được lặp lại 3 lần với việc sử dụng axeton (1 mL) và hexan (4 mL) để thu được SNP-MEEA.

#### <Bước (d)>

Bước (d) là bước trong đó SNP-MEEA thu được trong bước (c) được phản ứng với C4-DDSA để tạo ra hạt nano (SNP-C4-DDSA) trong đó hạt oxit sắt được bọc bằng C4-DDSA. Lưu ý là phối tử DDSA mà với bề mặt của hạt oxit sắt được bọc trong hạt nano (SNP-C4-DDSA) có công thức cấu tạo được biểu diễn bằng

công thức dưới đây (5).



trong đó đường nét đứt là liên kết phối trí giữa nguyên tử sắt trên bề mặt của hạt oxit sắt và nguyên tử oxy.

C4-DDSA (250 mg) được hòa tan trong nước (3,3 mL) trong khi được gia nhiệt, và natri hydro cacbonat (50 mg) được bổ sung. Dung dịch tạo thành được bổ sung vào SNP-MEEA thu được trong bước (c), và DMF (6,7 mL) được bổ sung thêm. Hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở 50°C. Hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và sau đó nước (1,5 mL) và axeton (60 mL) được bổ sung. Hỗn hợp thu được được chia thành hai phần, mỗi phần được ly tâm ở 7800 vòng/phút và 10°C trong 10 phút. Dịch nổi được lấy ra. Kết tủa tạo thành được được phân tán trong PBS, và dung dịch tạo thành được ly tâm ở tốc độ 5800 vòng/phút và 10°C trong 30 phút bằng cách sử dụng thiết bị lọc siêu ly tâm Amicon 100K (Merck Millipore). PBS được bổ sung thêm, và dung dịch tạo thành được ly tâm. Công đoạn này được lặp lại 3 lần nữa. Dịch lọc thu được được ly tâm ở tốc độ 5800 vòng/phút và 10°C trong 30 phút bằng cách sử dụng thiết bị lọc siêu ly tâm Amicon 10K (Merck Millipore, dưới đây được viết tắt là "thiết bị lọc 10K"). Nước được bổ sung thêm, và dung dịch tạo thành được ly tâm. Công đoạn này được lặp lại 3 lần nữa. Chất lỏng cô đặc thu được được lọc qua thiết bị lọc đôi YMC Duo Filter (XQ DUO 15, kích thước lỗ: 0,2 µm) và được làm đông khô để thu được SNP-C4-DDSA (10 K) (1,9 mg). Dịch lọc từ thiết bị lọc 10K được ly tâm ở tốc độ

5800 vòng/phút và 10°C trong 1 giờ bằng cách sử dụng thiết bị lọc 3K. Nước được bổ sung thêm, và dung dịch tạo thành được ly tâm. Công đoạn này được lặp lại 8 lần nữa. Chất lỏng cô đặc thu được được lọc qua thiết bị lọc đôi YMC Duo-Filter và được làm đông khô để thu được SNP-C4-DDSA (3 K) (0,5 mg). Lưu ý là "(10K)" và "(3K)" kèm theo mỗi thuật ngữ "SNP-C4-DDSA" chỉ ra loại thiết bị lọc mà được sử dụng lần cuối.

Trong trường hợp trong đó (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl) (1-sulfonat metyl)amoni (C1-DDSA), mà được biểu diễn bằng công thức (4) nêu trên trong đó  $n = 1$  hoặc (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl) (2-sulfonat metyl)amoni (C2-DDSA), mà được biểu diễn bằng công thức (4) nêu trên trong đó  $n = 2$  được sử dụng làm phối tử và được kết hợp với các bước trên sơ đồ 2 hoặc 4 nêu trên hoặc bằng kỹ thuật tương đương hoặc đã được biết rõ, có thể tạo ra (i) hạt nano (SNP-C1-DDSA) mà bao gồm hạt nano oxit sắt (SNP) được sử dụng làm hạt lõi và được bọc bằng C1-DDSA hoặc (ii) hạt nano (SNP-C2-DDSA) mà bao gồm hạt nano oxit sắt (SNP) được sử dụng làm hạt lõi và được bọc bằng C2-DDSA, lần lượt.

#### Khả năng áp dụng công nghiệp

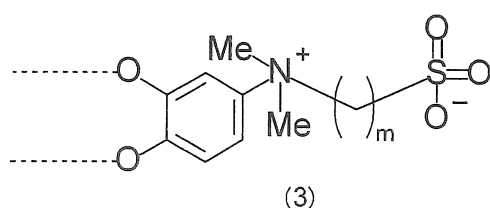
Chất tương phản để MRI theo sáng chế có thể thích hợp được sử dụng làm chất tương phản để MRI trong từ trường. Hạt nano và hợp chất theo sáng chế có thể áp dụng trong các dược phẩm khác nhau và dạng tương tự, bao gồm chất tương phản để MRI, và có thể được sử dụng rộng rãi trong các lĩnh vực dược phẩm, công nghệ sinh học, và tương tự, bao gồm các phương pháp chẩn đoán và các thuốc thử kiểm tra khác nhau.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hạt nano, bao gồm:

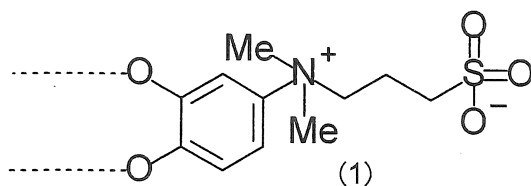
hạt kim loại chứa oxit sắt; và

phôi tử mà được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này và được biểu diễn bằng công thức (3):



trong đó m là số nguyên từ 1 đến 4, Me là nhóm methyl và đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.

2. Hạt nano theo điểm 1, trong đó phôi tử được liên kết với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại là phôi tử được biểu diễn bằng công thức (1):



trong đó Me là nhóm methyl, đường nét đứt là liên kết phối trí với nguyên tử kim loại trên bề mặt của hạt kim loại này.

3. Hạt nano theo điểm 1, trong đó m bằng 1, 2, hoặc 4 trong công thức (3).

4. Hạt nano theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó hạt kim loại chứa oxit sắt là hạt oxit sắt.

5. Hạt nano theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó hạt kim loại có

đường kính hạt trung bình là 5 nm hoặc nhỏ hơn.

6. Hạt nano theo điểm 5, trong đó hạt kim loại có đường kính hạt trung bình là 4 nm hoặc nhỏ hơn.

7. Hạt nano theo điểm 5, trong đó hạt kim loại có đường kính hạt trung bình là 3 nm hoặc nhỏ hơn.

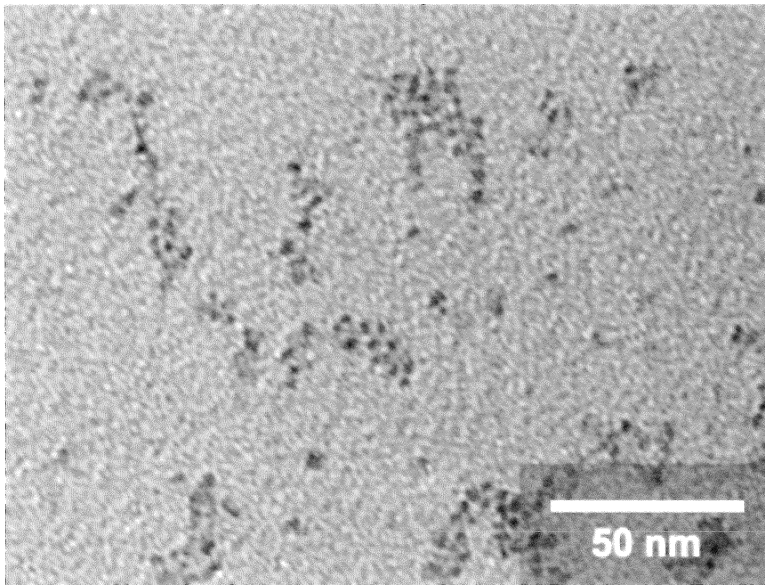
8. Chất tương phản để tạo ảnh cộng hưởng từ, chứa hạt nano theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7.

9. Chất tương phản theo điểm 8, trong đó chất tương phản là chất tương phản dương tính.

10. Phương pháp sản xuất hạt nano nêu trong điểm 2, bao gồm bước cho (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni phản ứng với hạt kim loại được bọc bằng phối tử ưa nước để tạo ra phản ứng thế phối tử và thu được hạt nano nêu trong điểm 2.

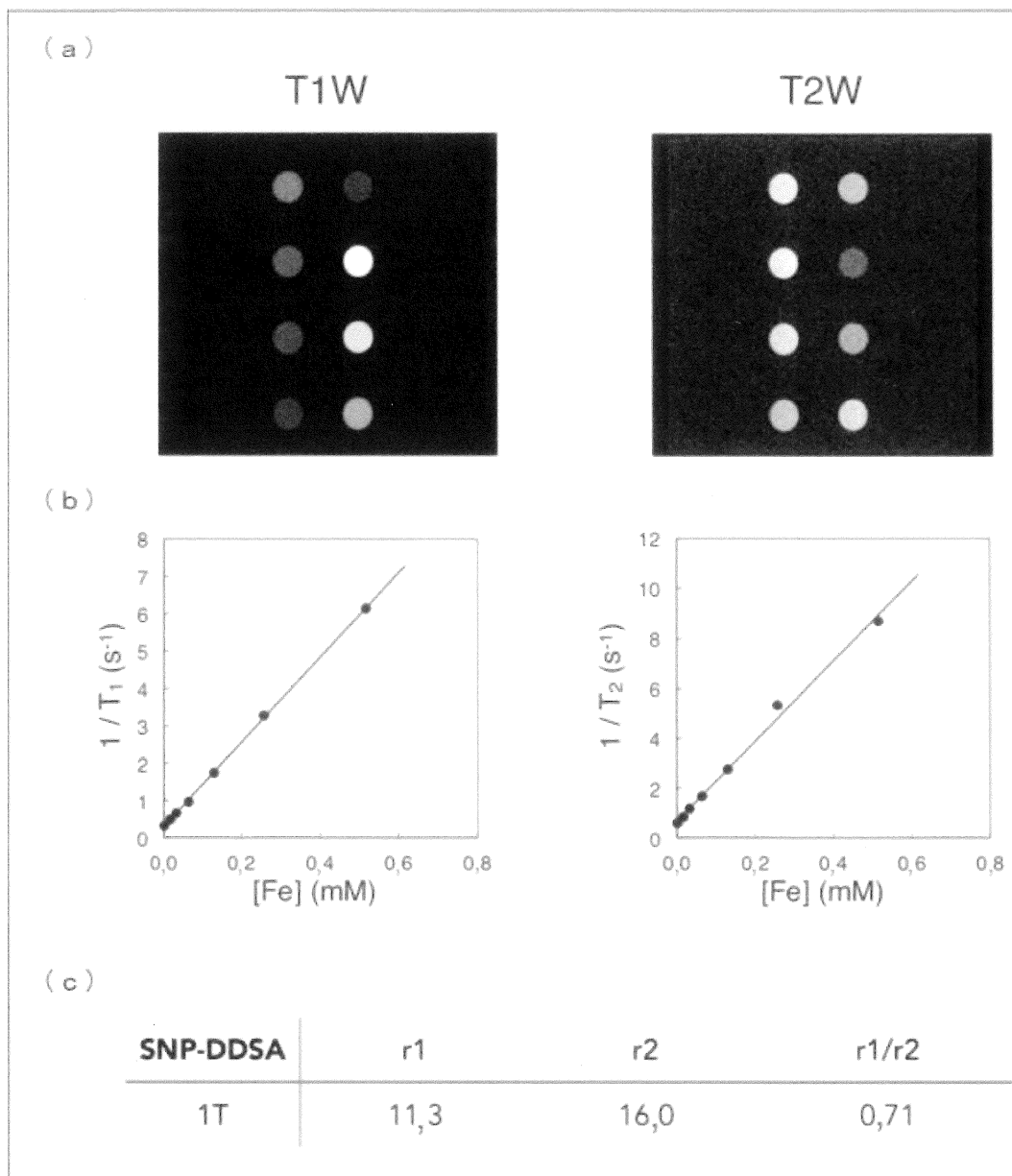
11. Hợp chất (3,4-dihydroxyphenyl)(dimetyl)(3-sulfonat propyl)amoni.

[FIG. 1]



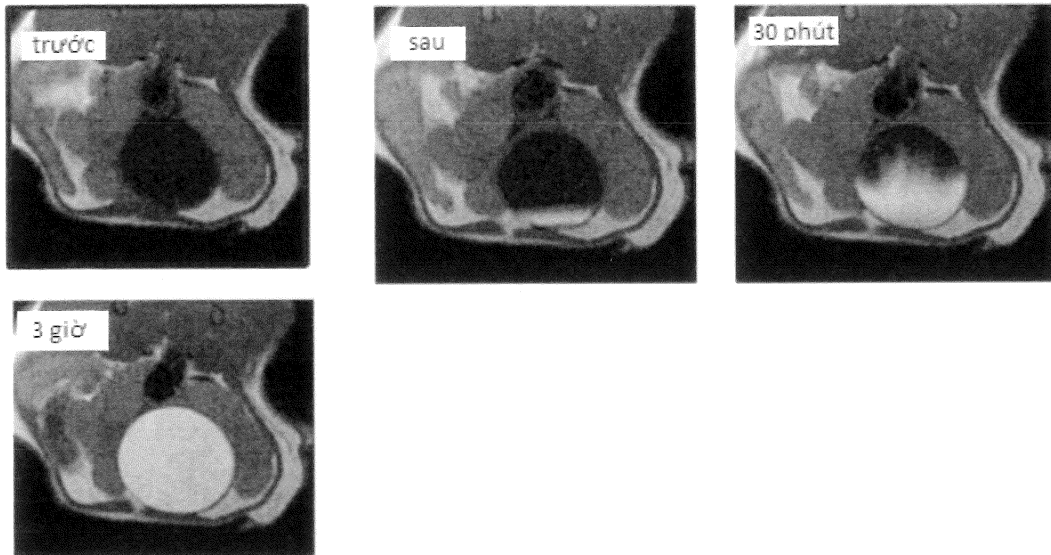


[FIG. 2]

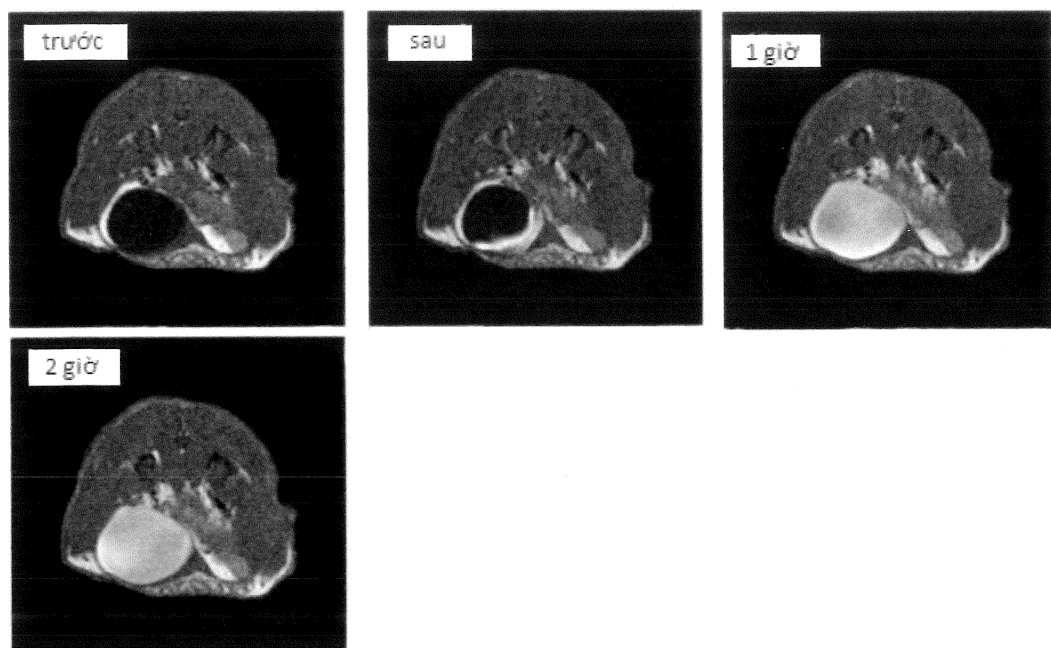


[FIG. 3]

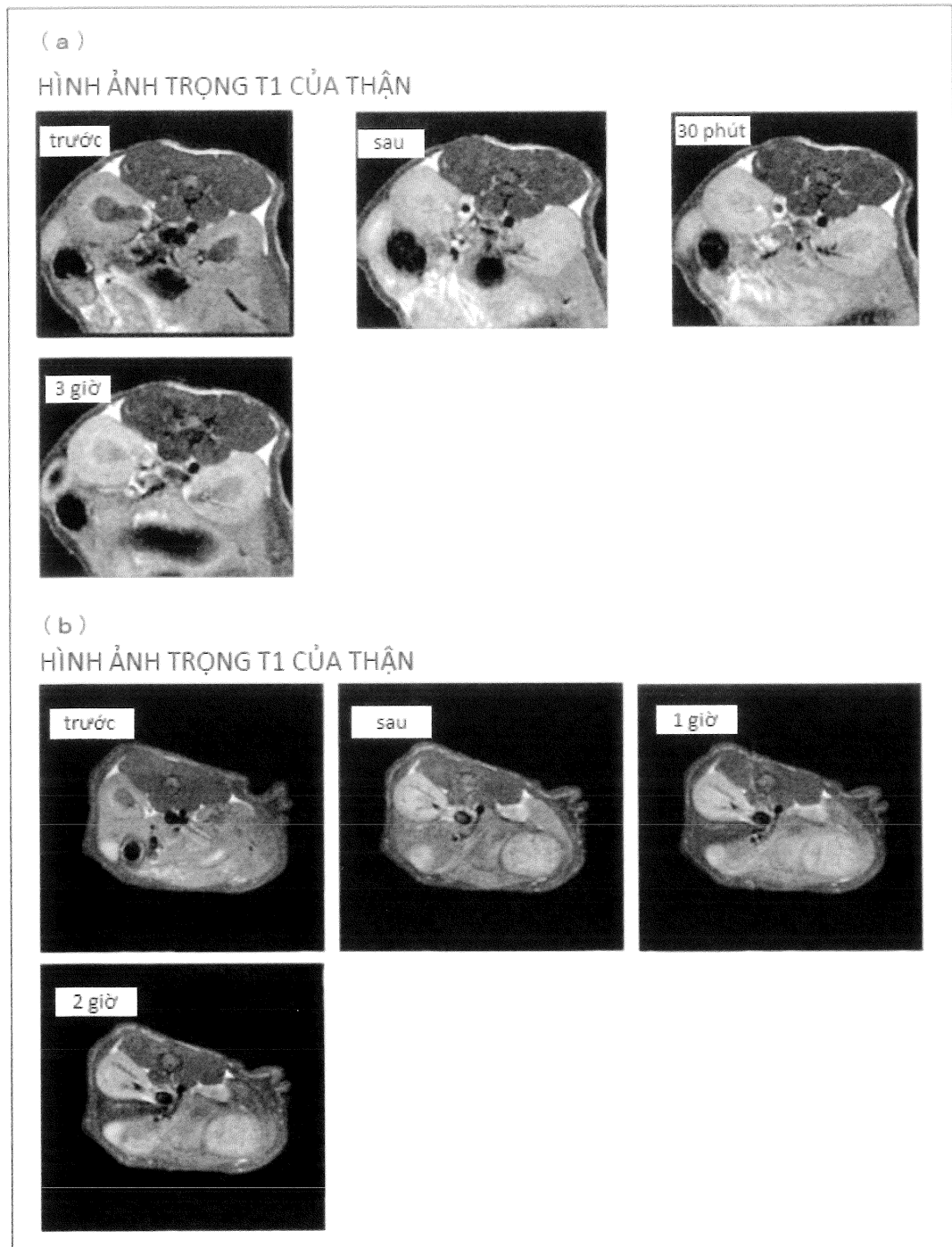
(a)  
HÌNH ẢNH TRỌNG T1 CỦA BÀNG QUANG



(b)  
HÌNH ẢNH TRỌNG T1 CỦA BÀNG QUANG



[FIG. 4]



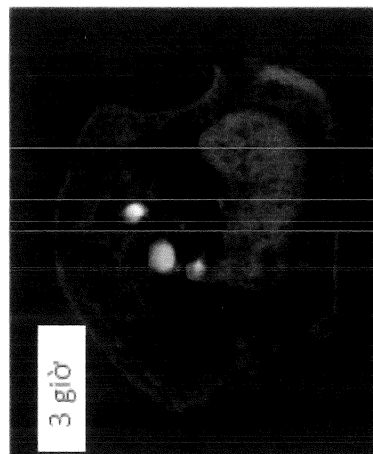
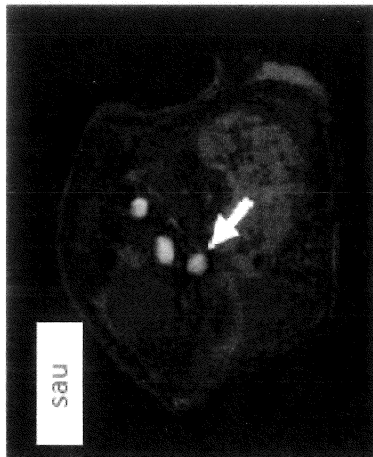
[FIG. 5]



HÌNH ẢNH TRỌNG T1 CỦA GAN



[FIG. 6]



HÌNH ẢNH CHỤP MẠCH MÁU 2D