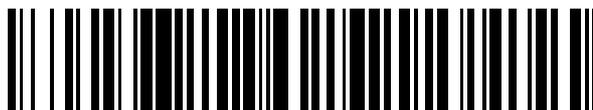


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 006**

51 Int. Cl.:

A61N 1/40 (2006.01)

A61K 41/00 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08807232 .7**

96 Fecha de presentación: **25.07.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2192953**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.06.2010**

54 Título: **Dispositivos de hipertermia que usan nanopartículas y nanopartículas para su uso en hipertermia**

30 Prioridad:
26.07.2007 ES 200702084

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.12.2012

73 Titular/es:
**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTIFICAS (100.0%)
SERRANO N 117
28006 MADRID, ES**

72 Inventor/es:
**MUNOZ MARQUEZ, MIGUEL, ANGEL;
GUERRERO GARCIA, ESTEFANIA y
FERNANDEZ CAMACHO, MARIA, ASUNCION**

74 Agente/Representante:
PONTI SALES, Adelaida

ES 2 392 006 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivos de hipertermia que usan nanopartículas y nanopartículas para su uso en hipertermia

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a dispositivos de hipertermia, y más en particular a dispositivos de hipertermia para su uso en el campo de la nanotecnología y la modificación de sistemas nanoestructurados en aplicaciones en las que es necesario calentar un área específica de un modo controlado.

10

Antecedentes de la invención

[0002] La terapia térmica consiste en elevar la temperatura de tejidos vivos hasta que se destruyen. Este tipo de tratamiento puede dividirse en dos grupos principales: hipertermia en la que las temperaturas alcanzan 46°C y ablación térmica en la que la temperatura supera 47°C. La terapia térmica, y en particular la hipertermia, se han usado para intensificar los tratamientos de radio y quimioterapia; los tejidos tumorales son más sensibles al calor que los tejidos sanos y además el aumento de temperatura sensibiliza las células cancerosas a los tratamientos de quimioterapia y radiación. En oncología experimental y clínica, los tratamientos de hipertermia ya se han usado para elevar la temperatura de zonas tumorales a 42-46°C.

20

[0003] Otra posible aplicación de la hipertermia en el campo de la biomedicina consiste en controlar la agregación de proteínas que forman depósitos en los tejidos llamados amiloides. Si se acumulan en cantidad suficiente, estos depósitos pueden alterar el funcionamiento normal del tejido. La amiloidosis está involucrada en enfermedades como diabetes mellitus, tuberculosis y artritis reumatoide, y existen también evidencias de relación de la amiloidosis con enfermedades neurodegenerativas como las enfermedades de Alzheimer y de Parkinson.

25

[0004] Se han usado nanopartículas magnéticas en el diagnóstico y la monitorización del crecimiento de tumores. Estas partículas, debido a sus propiedades magnéticas, han servido enormemente para mejorar el contraste en las imágenes de resonancia magnética nuclear. Otro campo en el que se han usado nanopartículas es en la liberación controlada de fármacos, concentrándolos en el área afectada mediante el uso de campos magnéticos.

30

[0005] En la actualidad, existen varios dispositivos de hipertermia de microondas usados para el tratamiento de tejidos tumorales. Estos dispositivos no usan nanopartículas y, en su lugar, irradian directamente los tejidos enfermos con un campo de microondas que tiene efectos destructivos a nivel local. Este procedimiento es conocido por el nombre de hipertermia intersticial.

35

[0006] Los sistemas de hipertermia intersticial son bastante agresivos para el sujeto ya que, para un control máximo de la zona irradiada, deben implantarse antenas en los tejidos por procedimientos quirúrgicos, por ejemplo por medio de un catéter (véase el documento US-6.097.985), o mediante la inserción de un electrodo de radiofrecuencia activo en el tejido tumoral que libera la energía del campo electromagnético (véase el documento US-5.507.743).

40

[0007] Como alternativa a estas técnicas agresivas, se han propuesto varios tratamientos de hipertermia que se basan en el uso de fluidos magnéticos como un medio para disipar el calor en los tejidos vivos. Estos fluidos están hechos de nanopartículas o partículas finas magnéticas biocompatibles que son estabilizadas para evitar que formen agregados.

45

[0008] Este tipo de procedimiento tiene la ventaja de que no implica la implantación quirúrgica de antenas o electrodos en los tejidos enfermos, sino que usa fluidos magnéticos como, por ejemplo, nanopartículas formadas a partir de magnetita (R. Hergt, W. Andrä, C.G. d'Ambly, I. Hilger, W.A. Kaiser, U. Richter, H-G. Schmidt, IEEE Trans. Mag. 34 (1998) 3745), un material que tiene una biocompatibilidad aceptable, lo que hace de él un candidato ideal para la preparación de fluidos magnéticos. En este caso, los mecanismos para la disipación de la energía en forma de calor están relacionados principalmente con pérdidas debidas a histéresis y pérdidas debidas a relajación y rozamiento, sin que existan pérdidas debidas a corrientes de Foucault inducidas. A continuación se expone más en detalle cada uno de estos fenómenos.

55

[0009] Pérdidas debidas a histéresis: La histéresis es la tendencia de un material a conservar una de sus propiedades, en este caso la magnetización (M), en ausencia del estímulo que ha producido un cambio en esa propiedad, en este caso un campo magnético externo (H). En otras palabras, si se aplica un campo magnético externo a un material magnético, su magnetización aumentará si el campo se incrementa hasta un valor máximo (H_{max}). Si a continuación se reduce el campo, la magnetización no disminuirá con la misma rapidez con la que aumentó. Si se representan los valores del campo magnético externo en comparación con la magnetización, puede observarse que la relación entre M y H no sólo no es lineal, sino que tampoco tiene un único valor. Si se reduce el campo hasta un valor mínimo ($H_{min} = -H_{max}$) y a continuación se cambia la dirección del campo para hacer que aumente de nuevo hasta H_{max} , la curva M con respecto a H pasa a ser una curva cerrada conocida como curva o

60

65

ciclo de histéresis (representado en la fig. 1). En todos los sistemas con histéresis, existe una conversión irreversible de energía (o trabajo) en calor en el curso de un ciclo completo. En este caso, ello implica una conversión de energía magnética en calor; este calor es igual al área confinada por la curva de histéresis.

5 **[0010]** Pérdidas debidas a corrientes de Foucault inducidas: Cuando un conductor eléctrico está en un campo magnético variable con el tiempo ($B(t)$), el flujo magnético ($F(t)$) que pasa a través del conductor también será variable con el tiempo. Esta variación en el tiempo induce una corriente en el conductor, cuya dirección se opone a la variación del flujo magnético. La corriente inducida tiene su origen en un campo eléctrico generado que produce un movimiento de cargas libres en el conductor metálico, para generar en última instancia corrientes que, como consecuencia del efecto Joule, disiparán energía en forma de calor.

15 **[0011]** Pérdidas debidas a relajación y rozamiento: En materiales magnéticos, se forman dominios con diferentes orientaciones del momento magnético (m). En los límites de grano de estos dominios, puede considerarse que existen dos estados metaestables de m , y a cada estado le corresponde un nivel de energía, correspondiéndose la diferencia con la energía de anisotropía del sistema (E_{anis}). En presencia de un campo magnético externo (H), existe la probabilidad de una transición de un estado al otro, lo que dará origen a una pérdida de energía en forma de calor, conociéndose también este mecanismo como relajación debido al efecto Néel. En el caso de ferrofluidos con un índice de viscosidad, la relajación también puede producirse a causa de movimientos brownianos rotacionales de las partículas magnéticas, un fenómeno muy importante cuando la dirección del momento magnético está fuertemente acoplada con la partícula y los movimientos debidos a la relajación de m producen rozamiento de las nanopartículas con el medio circundante y/u otras nanopartículas.

25 **[0012]** Las propiedades magnéticas de las nanopartículas dependen sustancialmente de su tamaño y su estructura. Los ferrofluidos magnéticos han sido objeto de investigación en relación con la hipertermia inducida por radiofrecuencia en células *in vitro* (N.A. Brusentsov, V.V. Gogosov, T.N. Brusentsova, A.V. Sergeev, N.Y. Jurchenko, A.A. Kuznetsov, O.A. Kutnetsov, L.I. Shumakov, J. Magn. Mater. 225 (2001) 113) y en tumores sólidos en seres humanos (A. Jordan, R. Scholz, K. Maier-Hauff, M. Johannsen, P. Wust, J. Nadobny, H. Schirra, H. Schmidt, S. Deger, S. Loening, W. Lanksch, R. Felix, J. Magn. Mater. 225 (2001) 118).

30 **[0013]** Por desgracia, el control de la temperatura en el área de un tumor ha demostrado ser, hasta el momento, muy complicado de conseguir. Existe el riesgo de que se produzca un sobrecalentamiento, lo que conduce asimismo a que los tejidos sanos resulten dañados. Con el fin de resolver este problema, se han realizado recientemente intentos para desarrollar un tipo diferente de nanopartícula magnética con una temperatura de Curie (es decir, la temperatura por encima de la cual un cuerpo ferromagnético pierde su magnetismo, para comportarse de la misma forma que un material puramente paramagnético) de entre 40 y 46°C para su posible aplicación en tratamientos médicos de hipertermia (Y. Haik, C.-J. Chen, Publicación de EE.UU. nº 2005/0.249.817). Sin embargo, los efectos en los organismos vivos del campo de radiofrecuencia necesario para producir un cambio significativo en la temperatura todavía no se conocen plenamente. Además, los materiales usados en nanopartículas con una temperatura de Curie controlada son metales de transición, como, por ejemplo: níquel, cobre, cromo, gadolinio, cobalto, manganeso y cinc que son altamente tóxicos para los seres vivos.

45 **[0014]** Por otra parte, existen observaciones indirectas en relación con el calentamiento de nanopartículas de oro metálico bajo la acción de un campo electromagnético alterno (K. Hamad-Schifferli, J.J. Schwartz, A.T. Santos, S. Zhang, J.M. Jacobson, Nature 415 (2002) 152; M.J. Kogan, N.G. Bastus, R. Amigo, D. Grillo-Bosch, E. Araya, A. Turiel, A. Labarta, E. Giral, V.F. Puentes, Nanoletters 6 (2006) 110). El cambio estructural de las proteínas o la deshibridización de las cadenas de ADN unidas a las nanopartículas de oro metálico se han atribuido a la disipación de calor debido al efecto Joule de las corrientes de Foucault inducidas en las nanopartículas por la aplicación de un campo electromagnético. La disipación de calor, con el consiguiente aumento de la temperatura del medio, siempre se ha determinado en estos sistemas a partir de observaciones indirectas relacionadas con el cambio en la estructura de los compuestos con los que se combinan las nanopartículas. Por tanto, no se consigue un control exacto y preciso de la temperatura alcanzada, dado que sólo es posible estimarla indirectamente.

60 **[0015]** En el campo de la liberación controlada de fármacos, se ha propuesto la hipertermia para su uso en dosificación de fármacos. Existen estudios relativos a la liberación de fármacos a partir de liposomas (A.M. Ponce, B.L. Viglianti, D. Yu, P.S. Yarmolenko, C.R. Michelich, J. Woo, M.B. Bally, M.W. Dewhirst, J. Natl. Cancer Inst. 99 (2007) 53), que demuestran que la dosificación de los fármacos es mucho más homogénea y eficaz que por el procedimiento convencional. Sin embargo, la aplicación del campo electromagnético según se efectúa hasta ahora en estos sistemas implica el uso de técnicas excesivamente agresivas como la implantación quirúrgica de una antena de microondas para irradiar el área afectada e inducir la liberación del fármaco.

65 **[0016]** Además, en muchos casos, existen fármacos que no pueden atravesar las barreras biológicas de los organismos vivos, por ejemplo, la membrana celular o la barrera hematoencefálica; sin embargo dichos fármacos podrían realizar funciones terapéuticas muy importantes dentro de la célula o el cerebro. Las nanopartículas unidas a dichos fármacos con un recubrimiento biocompatible son capaces de atravesar las barreras biológicas mencionadas anteriormente; una vez atravesada la barrera y con la aplicación de un campo de radiofrecuencia, el recubrimiento biocompatible modifica su estructura como consecuencia de la elevación de temperatura, liberando el

fármaco en el lugar deseado.

[0017] En consecuencia, sigue existiendo un problema en la técnica en cuanto al empleo de la hipertermia en aplicaciones en las que es necesario calentar un área específica de un modo controlado.

5

Resumen de la invención

[0018] En sentido extenso, la presente invención se refiere a un dispositivo de hipertermia que es susceptible de ser usado en el campo de la biomedicina, normalmente en combinación con el uso de nanopartículas, cuyo funcionamiento es compatible con sistemas biológicos y en el que la administración del efecto hipertérmico es controlable.

[0019] En consecuencia, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un dispositivo de hipertermia que comprende un generador de campos electromagnéticos de radiofrecuencia, un amplificador de esta señal, un transmisor del campo electromagnético de radiofrecuencia generado y un sistema de medida de temperatura directa, que se usa junto con una o más nanopartículas tal como se expone en las reivindicaciones.

[0020] Además, y específicamente para cuando se usan frecuencias muy altas, el dispositivo de la invención incluye también una jaula de Faraday para evitar daños en el equipo o el personal como consecuencia de los efectos perniciosos de altas dosis de radiación.

[0021] El generador que forma parte del dispositivo de la invención puede ser un analizador de red que, además de generar la señal, sirve para determinar impedancias, coeficientes de reflexión, transmisión y pérdidas debidas a inserción, y permite así realizar investigaciones en cuanto a la fuente del calentamiento de una o más nanopartículas bajo la acción de campos electromagnéticos. Mediante la medida de los coeficientes y pérdidas mencionados anteriormente, es posible determinar la atenuación de la señal y, así, calcular la energía disipada por la nanopartícula o nanopartículas para una frecuencia del campo dada.

[0022] La nanopartícula o nanopartículas que pueden usarse en el dispositivo de la invención son todas aquellas que pueden ser calentadas bajo la acción de un campo electromagnético de radiofrecuencia, como, por ejemplo, nanopartículas de metales nobles funcionalizadas por medio de enlaces metal-azufre con moléculas orgánicas o biomoléculas, nanopartículas de metales nobles funcionalizadas por medio de enlaces metal-ligando, nanopartículas de metales nobles protegidas por moléculas de tensioactivo con estabilización a través de interacciones bipolares, nanopartículas magnéticas funcionalizadas directamente o funcionalizadas por medio de un recubrimiento de metal noble. Estas nanopartículas se calientan (hipertermia) bajo la acción de campos electromagnéticos a través de pérdidas debidas a histéresis, corrientes de Foucault o por causa de relajación y rozamiento. En los documentos WO-2002/032.404, WO-2004/108.165, WO-2005/116.226 y WO-2005/091.704 se desvelan ejemplos de nanopartículas preferidas especialmente que pueden emplearse con los dispositivos de hipertermia de la presente invención.

40

[0023] El campo electromagnético de radiofrecuencia producido por el generador tiene una intensidad y una frecuencia controladas, estando comprendida la segunda entre los valores para señales de frecuencia muy baja (VLF) y señales de frecuencia superalta (SHF).

[0024] El sistema para transmisión del campo electromagnético de radiofrecuencia que forma parte del dispositivo de la invención es capaz de enfocar y concentrar el campo electromagnético en una región específica.

[0025] La modificación geométrica de los dispositivos de transmisión dará origen a varias formas de propagación del campo electromagnético en el espacio, lo que permitirá llevar a cabo estudios en nuevos sistemas de transmisión de campo para dirigir el campo y concentrarlo en áreas específicas del espacio.

50

[0026] Además, el dispositivo de la presente invención es útil para cualquier aplicación en la que se requiera calentamiento localizado, como, por ejemplo, y sin que esto limite el ámbito de la invención, en cualquier aplicación relacionada con la modificación de sistemas nanométricos o relacionada con la biomedicina.

55

[0027] En consecuencia, el dispositivo de la presente invención puede usarse en aplicaciones biomédicas y supera las restricciones técnicas de los aparatos de hipertermia existentes hasta ahora, dado que, por ejemplo en lo que respecta a la liberación controlada de fármacos, la destrucción de agregados de proteínas en amiloidosis o la destrucción localizada de tumores, evita tener que usar sistemas de hipertermia actuales que impliquen técnicas invasivas, como la implantación de antenas, para inducir la liberación del fármaco o destruir el tumor, evitando así una de las principales desventajas de los sistemas de hipertermia existentes en la actualidad.

60

[0028] En un aspecto adicional, la presente invención proporciona nanopartículas para su uso en un procedimiento de tratamiento de una dolencia que responde a calentamiento hipertérmico de una o más nanopartículas, como el cáncer o una dolencia mediada por amiloidosis, mediante el empleo de un dispositivo según se describe en la presente memoria descriptiva y tal como se expone en las reivindicaciones.

65

[0029] En un aspecto adicional, el dispositivo se usa en un procedimiento de calentamiento de una o más nanopartículas en un lugar, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

5 (i) introducción de la nanopartícula en el lugar; y

(ii) generación de un campo electromagnético de radiofrecuencia usando el dispositivo que tiene una frecuencia y/o una intensidad capaces de calentar las nanopartículas.

10 **[0030]** Estudios experimentales en la literatura especializada muestran que la energía térmica de las nanopartículas puede elevarse irradiándolas con campos electromagnéticos. Sin embargo, hasta la fecha, el control de la temperatura no ha sido óptimo. La medida directa de las variaciones de temperatura tal como se incorpora en el dispositivo de la invención, con medidas realizadas preferentemente por infrarrojo o por procedimientos basados en el efecto Seebeck, es un desarrollo nuevo e importante en el campo de la hipertermia, ya que, hasta la fecha, la
15 evidencia del calentamiento de las nanopartículas se ha obtenido indirectamente. Con el fin de tener alguna probabilidad de observar un cambio macroscópico en la temperatura del medio en el que se colocan las nanopartículas, es necesario tener una alta potencia de campo electromagnético en la región en la que están situadas las nanopartículas. Con el fin de usar una alta potencia de campo de un modo controlado, debe ser posible controlar la energía del campo en un área de espacio, así como ser capaz de modificar y reproducir las condiciones
20 del campo de la misma forma que se consigue con el dispositivo de la presente invención.

[0031] A continuación se describirán formas de realización de la presente invención a modo de ejemplo y no de limitación con referencia a las figuras y los ejemplos adjuntos.

25 **Breve descripción de las figuras**

[0032]

Fig. 1. Representación gráfica de una curva de histéresis.

30

Fig. 2. Diagrama del dispositivo para generar, amplificar y transmitir campos de radiofrecuencia para el calentamiento de nanopartículas, comprendiendo dicho dispositivo los siguientes elementos: (i) un generador de un campo electromagnético de radiofrecuencia, (ii) un amplificador del campo electromagnético de radiofrecuencia, (iii) un transmisor del campo electromagnético de radiofrecuencia, (iv) un sistema de medida de temperatura directa, (v)
35 una jaula de Faraday y (vi) una o más nanopartículas.

Descripción detallada

[0033] El dispositivo de la invención, que se usa junto con una o más nanopartículas (6), comprende los
40 siguientes elementos según se muestra en la fig. 2.

1) Un generador de un campo electromagnético de radiofrecuencia que genera un pulso electromagnético de frecuencia e intensidad controladas que es transmitido a un amplificador de radiofrecuencia. La frecuencia de este campo electromagnético está entre la banda de frecuencias muy bajas (VLF) y la banda de frecuencias superaltas
45 (SHF).

2) Un amplificador de radiofrecuencia de bajo ruido y banda ancha de señales de radiofrecuencia, que trabaja en el intervalo de frecuencias del generador.

50 3) Un transmisor del campo electromagnético de radiofrecuencia que, sin que se limite el ámbito de la presente invención, puede consistir en una antena que, a partir de la señal de salida del amplificador, es capaz de enfocar y concentrar el campo electromagnético de radiofrecuencia generado en una región del espacio.

4) Un sistema de medida de temperatura directa.

55

[0034] Cuando se usan frecuencias que pueden interferir con dispositivos electrónicos y/o afectar al personal, el dispositivo de la invención puede incluir también una jaula de Faraday (5) con fines de protección frente a radiaciones.

60 **[0035]** A modo de ejemplo, el generador que forma parte del dispositivo de la invención puede ser un dispositivo analizador de red que, además de generar la señal, sirve para determinar impedancias, coeficientes de reflexión y transmisión y pérdidas de inserción. Las magnitudes físicas están relacionadas con la energía del campo electromagnético que se disipa y/o se refleja en todo el dispositivo experimental, siendo así posible investigar el origen y los mecanismos de calentamiento de nanopartículas sometidas a la acción de campos electromagnéticos.
65 Por ejemplo, y sin que se limite el ámbito de la presente invención, si se conocen los coeficientes de reflexión, transmisión y pérdidas debidas a inserción, junto con las impedancias de la configuración experimental, es posible

determinar la atenuación de la señal generada y, en consecuencia, conocer con precisión la señal que está siendo transmitida a las nanopartículas. Tomando esto como punto de partida, es relativamente sencillo estimar la energía disipada y, teniendo en cuenta la frecuencia del campo, relacionarla con los diversos mecanismos de calentamiento descritos anteriormente.

5

[0036] El dispositivo de la presente invención genera campos electromagnéticos controlados, de tal manera que la nanopartícula o nanopartículas situadas en dicho campo electromagnético absorben parte de la energía del campo y posteriormente disipan una gran parte de ella en forma de calor, por medio de cualquiera de los siguientes mecanismos: pérdidas debidas a histéresis, pérdidas debidas a corrientes de Foucault inducidas y pérdidas debidas a relajación y rozamiento. Las nanopartículas son colecciones de átomos o moléculas que pueden alcanzar tamaños de 1 a 100 nm (siendo 1 nm 10^{-9} m). En numerosas ocasiones, se usa sólo el criterio del tamaño para definir las. Sin embargo, la característica que las define como "nano", aparte de su tamaño, tiene que ver con sus propiedades físicas. Cuando el tamaño de los bloques elementales de estos sistemas se hace menor que la longitud característica asociada con cualquier propiedad física, dicha propiedad cambia de manera que su comportamiento sólo puede comprenderse a través de la teoría cuántica.

[0037] La nanopartícula o nanopartículas que pueden usarse con el dispositivo de la invención son todas aquellas nanopartículas, metálicas o no metálicas, magnéticas o no magnéticas, o una mezcla de las mencionadas anteriormente, que pueden ser funcionalizadas con moléculas orgánicas o biomoléculas.

20

[0038] Cuando se trabaja con nanopartículas muy pequeñas, puede existir cierta falta de estabilidad en la reducción del número de coordinación de los átomos de los que están compuestas, como consecuencia de lo cual las nanopartículas tenderán a formar agregados. Con el fin de resolver este problema, es posible estabilizar las nanopartículas usando una molécula protectora que se une a los átomos de la superficie. Esto es lo que se conoce como funcionalización de una nanopartícula. Al mismo tiempo, si se elige bien el ligando o la molécula de funcionalización, es posible que una nanopartícula funcionalizada tenga la capacidad de unirse a un tipo particular de célula y/o molécula (dianas muy específicas).

25

[0039] Estas nanopartículas pueden pertenecer, sin que se limite el ámbito de la presente invención, a los siguientes grupos:

30

(a) Nanopartículas de metales nobles (oro, paladio, cobre, etc.) funcionalizadas por medio de enlaces metal-azufre con moléculas orgánicas o biomoléculas. Estas nanopartículas tienen propiedades metálicas y/o magnéticas que dependen del tamaño y de la cadena de funcionalización y pueden calentarse a través de los diversos mecanismos de histéresis, relajación o corrientes inducidas.

35

(b) Nanopartículas de metales nobles funcionalizadas por medio de enlaces metal-ligando. Los ligandos pueden ser fosfinas o haluros, entre otros. Pueden ser funcionalizadas con biomoléculas como resultado de la unión con el ligando y tienen propiedades metálicas y/o magnéticas que dependen del tamaño y del tipo de ligando. Estas nanopartículas pueden calentarse por medio de los diversos mecanismos de histéresis, relajación o corrientes inducidas.

40

(c) Nanopartículas de metales nobles protegidas por moléculas de tensioactivo con estabilización por medio de interacciones dipolares. Tienen propiedades metálicas que dependen del tamaño y pueden calentarse mediante los mecanismos de corrientes inducidas.

45

(d) Nanopartículas magnéticas (por ejemplo, con base de hierro) funcionalizadas directamente o funcionalizadas por medio de un recubrimiento de metal noble. Tienen propiedades magnéticas que dependen del tamaño y pueden ser calentadas mediante los mecanismos de histéresis y relajación magnética. El componente de recubrimiento con metales nobles puede comportarse de manera semejante al tipo de partícula (a) descrito en esta sección.

50

[0040] Tanto el carácter metálico de las nanopartículas de tipo a), b) y c), como el carácter magnético de las nanopartículas de tipo d), y ocasionalmente a) y b), son propiedades que dependen, entre otros, del tamaño de las nanopartículas. En referencia al carácter metálico de las nanopartículas, la presente solicitud se refiere al hecho de que la estructura electrónica de las nanopartículas es similar a la de un sistema sólido del mismo material. Sin embargo, las propiedades magnéticas se refieren a las magnitudes que pueden determinarse por medio de análisis con SQUID (Dispositivo Superconductor de Interferencia Cuántica) que son principalmente magnetización remanente (M_R) y coercitividad (H_C) (representada en la fig. 1); ambas magnitudes proporcionan una idea del carácter magnético de las muestras.

60

[0041] A modo de explicación, los cambios eléctricos acelerados producen un campo electromagnético. En particular, el generador de campo electromagnético de la presente invención produce campos que tienen una frecuencia comprendida entre las señales de frecuencia muy baja (VLF) y las señales de frecuencia superalta (SHF), correspondiendo las segundas a la banda de microondas del medio; dichas señales están comprendidas preferentemente entre la baja frecuencia (LF) y la frecuencia ultraalta (UHF). La Tabla 1 ofrece detalles de los intervalos de radiofrecuencia de cada una de las bandas. Además de controlar la frecuencia, el generador de

65

radiofrecuencia es capaz de producir el campo electromagnético con una intensidad controlada.

Tabla 1. División en bandas del espectro electromagnético de radiofrecuencias

Frecuencia	Abreviatura	Intervalo de frecuencias	Longitud de onda
Extrabaja	ELF	3 - 30 Hz	$10^5 - 10^4$ km
Superbaja	SLF	30 - 300 Hz	$10^4 - 10^3$ km
Ultrabaja	ULF	300 - 3.000 Hz	$10^3 - 10^2$ km
Muy baja	VLF	3 - 30 kHz	$10^2 - 10$ km
Baja	LF	30 - 300 kHz	10 - 1 km
Media	MF	300 - 3.000 kHz	1 - 0,1 km
Alta	HF	3 - 30 MHz	100 - 10 m
Muy alta	VHF	30 - 300 MHz	10 - 1 m
Ultraalta	UHF	300 - 3.000 MHz	1 - 0,100 m
Superalta	SHF	3 - 30 GHz	100 - 10 mm
Extraalta	EHF	30 - 300 GHz	10 - 1 mm

5

[0042] La frecuencia que se aplicará en cada caso en particular depende del tipo de nanopartícula que se desea calentar, como, por ejemplo y sin que se limite el ámbito de la presente invención:

- En el caso de nanopartículas de base magnética que pueden ser funcionalizadas con diversos ligandos, los campos magnéticos necesarios para producir el calentamiento de las mismas deben tener una frecuencia de entre 100 kHz y 1 GHz, con una intensidad de campo magnético de entre 0 y 15 kA/m.
- Las nanopartículas de metales nobles, como, por ejemplo, oro o paladio, pueden ser funcionalizadas con diversos ligandos, entre ellos compuestos de interés biológico, que pueden ser responsables de la aparición de un comportamiento ferromagnético así como del comportamiento metálico típico. En este caso, con el fin de calentarlas, es necesario someterlas a campos electromagnéticos superiores a 1 GHz. En este caso, la combinación de antena/amplificador debe aplicar potencias de hasta 10 W.

[0043] El elemento para transmitir señales de radiofrecuencia que forma parte del dispositivo de la invención puede adoptar diversas formas y tamaños dependiendo de la frecuencia del campo electromagnético que se aplica en cada caso y dependiendo de la geometría del frente de ondas que se transmite. Sin que se limite el ámbito de la presente invención, puede comprender una antena de emisión, una espira, un solenoide o una cavidad resonante. Este transmisor se caracteriza por tener una antena de transmisión capaz de enfocar y concentrar el campo electromagnético generado en una región del espacio. Así, para hacer un buen uso de la producción de energía de las nanopartículas y de la potencia del campo electromagnético generado, es de gran importancia conseguir enfocar y concentrar dicho campo. Al mismo tiempo, esta posibilidad sería muy útil cuando se trabaja con señales que tienen un cierto potencial para dañar tejidos sanos, por lo que cuanto menos se expongan estos tejidos a la radiación mejor será.

[0044] El dispositivo de la invención incluye también un sistema de medida de temperatura directa que, sin que se limite el ámbito de la presente invención, puede consistir en un detector para detectar la radiación infrarroja emitida por las nanopartículas, o puede consistir en un termopar basado en el efecto Seebeck.

[0045] El efecto Seebeck es un efecto termoeléctrico que se deriva del hecho de que una diferencia de temperatura entre dos metales conectados entre sí genera una diferencia de potencia en la unión de los dos metales; a partir de dicha diferencia de potencia y conociendo una de las dos temperaturas, que se toma como referencia, es posible, por tanto, conocer la temperatura del otro metal.

[0046] Opcionalmente, el dispositivo de la invención puede colocarse en una jaula de Faraday, que consiste en un volumen cerrado diseñado para excluir campos electromagnéticos externos y/o para impedir que los campos electromagnéticos generados en su interior escapen al exterior, manteniendo la radiación electromagnética confinada en un volumen sin que afecte al equipo de medida y/o al personal.

[0047] La jaula de Faraday es una aplicación directa de la ley de Gauss. Un material conductor delimita un volumen de manera que cualquier campo electromagnético que intente entrar o salir de él no puede hacerlo debido al hecho de que la carga eléctrica estará distribuida en la superficie del conductor.

[0048] El dispositivo de la invención puede actuar sobre un grupo de una o más nanopartículas, elevando su temperatura en función de la frecuencia y la intensidad del campo, ya sea debido a histéresis, corrientes de Foucault, o rozamiento y relajación; en consecuencia puede usarse para el calentamiento controlado de una zona del espacio en particular, y esto tiene importantes aplicaciones en campos como la modificación de sistemas nanométricos.

En este campo, a modo de ejemplo y sin que se limite el ámbito de la presente invención, existe una aplicación potencial cuando se trata de modificar la estructura en una escala nanométrica de sistemas desarrollados en electrónica molecular usando el aumento en la energía de vibración atómica del sistema al aplicar un campo de radiofrecuencia, así como para modificar las propiedades magnéticas de dichos dispositivos.

[0049] Este dispositivo puede usarse para investigar los mecanismos y la fuente del calentamiento de las nanopartículas en la aplicación de tratamientos de hipertermia en biomedicina, como, por ejemplo, en la destrucción de agregados de proteínas en amiloidosis o en el tratamiento de tumores usando nanopartículas capaces de unirse a dianas muy específicas o en la liberación controlada de fármacos, entre otras aplicaciones.

[0050] Las antenas o dispositivos de transmisión de radiofrecuencia no emiten de forma isotrópica, es decir, de manera uniforme en todas las direcciones del espacio. En estas antenas, existen áreas en las que la radiación se concentra en regiones, normalmente en forma de lóbulos.

[0051] El dispositivo de la invención, a través del diseño geométrico de diferentes antenas, puede usarse para llevar a cabo estudios en nuevos sistemas de transmisión de campo para dirigir dicho campo y concentrarlo en regiones determinadas del espacio de manera que se evite irradiar zonas no deseadas, lo que resulta muy útil cuando se trata de mejorar las aplicaciones de la hipertermia.

[0052] El sistema de medida de temperatura directa incorporado en el dispositivo de la invención, preferentemente mediante el uso de infrarrojo o basado en el efecto Seebeck, permite un mayor control de la temperatura, superando así uno de los principales problemas de la aplicación de los sistemas de hipertermia existentes en la actualidad en biomedicina.

20 A. Prototipo de dispositivo de hipertermia

[0053] Una forma de realización de la invención consiste en el siguiente conjunto de instrumentos: un generador de campo de radiofrecuencia Agilent 8698D que funciona en el intervalo de 9 kHz a 4 GHz con una resolución de 0,001 Hz, cuya señal de salida está en el intervalo de potencia comprendido entre +10 y -136 dBm para todas las frecuencias. El puerto de salida del generador de radiofrecuencia está conectado al puerto de entrada de un amplificador de radiofrecuencia de estado sólido (Amplifier Research 5S1G4) por medio de un cable coaxial. Los puertos de entrada y salida del generador y el amplificador respectivamente, y los extremos del cable coaxial tienen conectores de tipo N; diseñados especialmente para producir pérdidas de inserción mínimas (un máximo de 0,2 dB) en señales de microondas de hasta 10 GHz; la impedancia de los conectores es de 50 Ω.

[0054] El amplificador de radiofrecuencia usado en este ejemplo puede amplificar señales, cuya frecuencia es de 0,8 GHz a 4,2 GHz. Para una señal de entrada que proviene del generador cuya potencia es 1 mW, el amplificador producirá una señal de salida de 6,5 W: equivalente a una ganancia de 37 dB. Una condición que debe cumplir cualquier amplificador usado es la reproducción fidedigna de cualquier modulación de frecuencia, amplitud o pulso de la señal de entrada que proviene del generador de radiofrecuencia. El puerto de salida del amplificador es también de tipo N.

[0055] Por medio de un cable coaxial que tiene conectores de tipo N en los extremos, el puerto de salida del amplificador está conectado con el dispositivo de transmisión, que en este caso consiste en una espira de cobre de 29 mm de diámetro y 2 mm de sección. La espira tiene una frecuencia de resonancia de 2,61 GHz, que está en el intervalo de trabajo del generador y el amplificador. En el caso de una espira, el componente magnético del campo electromagnético en el centro de la misma está determinado por la ley de Biot-Savart: la inducción magnética será perpendicular al plano de la espira y su intensidad y su dirección dependerán de la intensidad y la dirección de la corriente que pasa a través de la espira. La espira se coloca en un soporte de Teflón en forma de disco de 40 mm de diámetro y de 12 mm de grosor (su permeabilidad magnética es muy similar a la del aire), en la que se ha hecho una muesca circular (de 2 mm de profundidad y que tiene un diámetro que coincide con el de la espira) de manera que el plano de la espira coincide con el plano de la superficie de Teflón. En el centro del disco, existe un rebaje circular de 15 mm de diámetro y 1 mm de profundidad en el que pueden colocarse muestras líquidas; su diámetro coincide con el diámetro del círculo que define el área de foco del pirómetro de infrarrojo que se usará como sensor de temperatura. El pirómetro (Fluke 572 CF) tiene una óptica diseñada para captar la radiación infrarroja en una pequeña región de un objeto a una distancia de hasta 30 cm; este dispositivo es capaz de medir temperaturas entre -30 y 900°C. También tiene un haz de láser que define el área en la que se está realizando la medida de la temperatura.

[0056] La combinación de espira de cobre y disco de Teflón se coloca en el interior de una jaula de Faraday; las medidas laterales de la jaula son un orden de magnitud mayores que la longitud de onda característica del campo electromagnético emitido por la espira. Para las frecuencias que se usan en el ejemplo, el campo electromagnético tiene una longitud de onda de aproximadamente 0,1 m; esto significa que la jaula de Faraday debería tener dimensiones laterales en el orden de 1 m. Se realiza una abertura en el lado superior de la jaula para facilitar la medida directa de la temperatura usando el pirómetro. Para evitar que el campo electromagnético se propague a través de la abertura, debería tener un diámetro de menos de 2 cm.

[0057] El termopar se usa para calibrar el pirómetro. Antes de aplicar el campo electromagnético, la temperatura de la muestra se mide directamente usando el termopar. La lectura del pirómetro se ajusta a este valor modificando el valor de la emisividad: cada muestra tiene una emisividad diferente en la región del infrarrojo. En este caso, la emisividad es la intensidad de radiación infrarroja emitida por un cuerpo a una temperatura dada.

5

B. Nanopartículas

[0058] Las nanopartículas usadas en este ejemplo son:

10 (a) Nanopartículas de oro funcionalizadas con ligandos de haluro y trifenilfosfina. Se estudiaron grupos de 55 átomos de oro (Au) que tenían un diámetro de 1,4 nm y grupos de 11 átomos que tenían un diámetro de 0,8 nm. Estas nanopartículas se usaron disueltas en un tampón comercial HEPES-NaOH con un pH = 7,5.

15 (b) Nanopartículas de oro sintetizadas usando una variante de síntesis de Brust (A.C. Templeton, S. Chen, S.M. Gross, R. W. Murray, Langmuir 15 (1999) 66) de manera que son funcionalizadas con una biomolécula que contiene un grupo tiol: tiopronina. Estas nanopartículas son solubles en agua y, por tanto, tienen un interés biológico potencial y sirven como modelo para nanopartículas funcionalizadas con biomoléculas de interés terapéutico.

C. Calentamiento de las nanopartículas:

20

[0059] Con el dispositivo especificado anteriormente, se miden los cambios de temperatura de los dos tipos de nanopartícula de oro según se ha descrito (a y b), aplicando una frecuencia del campo electromagnético de 2,61 GHz, frecuencia que se corresponde con la principal frecuencia de resonancia de la espira; a esta frecuencia, existe una transferencia máxima de energía a la espira de manera que se reducen al mínimo las pérdidas de la

25 señal.

[0060] Los resultados se detallan en la Tabla 2. Esta tabla muestra la potencialidad de las nanopartículas para tratamientos de hipertermia y la funcionalidad del dispositivo diseñado.

30 Tabla 2. Resultados de estudios de hipertermia nanopartículas de oro (Au) funcionalizadas con diversos ligandos

Muestra	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)
Agua	20,0	21,6
Tampón HEPES	20,4	25,5
Au55-fosfina	21,0	31,3
Au55-fosfina diluida	21,4	28,9
Aull-fosfina	18,0	31,0
Au-tiopronina (F _{NP} ~ 3,0 nm)	18,0	21,0
Au-tiopronina (F _{NP} ~ 4,5 nm)	17,8	20,8

[0061] Tal como puede verse en la Tabla 2, en todos los casos existe un calentamiento de las nanopartículas de entre 3,0°C, obtenido para las nanopartículas de Au-tiopronina (F_{NP} ~ 3,0 nm y 4,5 nm), y 13,0°C obtenido para las nanopartículas de Aull-fosfina, lo que nos muestra la potencialidad de todos ellos para ser calentados bajo la acción de campos electromagnéticos de radiofrecuencia y la funcionalidad del dispositivo de la invención.

35

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de hipertermia para calentar una o más nanopartículas, comprendiendo el dispositivo los siguientes elementos:
- 5 (a) un generador (1) de un campo electromagnético de radiofrecuencia;
- (b) un amplificador (2) de un campo electromagnético de radiofrecuencia;
- 10 (c) un transmisor (3) de un campo electromagnético de radiofrecuencia; y
- (d) un sistema de medida de temperatura directa (4),
- en el que el generador (1) del campo electromagnético de radiofrecuencia es un dispositivo analizador de red que,
- 15 además de generar la señal, permite la determinación de impedancias, coeficientes de reflexión y transmisión y pérdidas de inserción.
2. El dispositivo según la reivindicación 1, en el que el dispositivo comprende además una jaula de Faraday (5) que confina los elementos (a) a (d) para protección frente a radiaciones.
- 20 3. El dispositivo según la reivindicación 1 o 2, en el que el generador de campo electromagnético (1) es capaz de generar una señal de radiofrecuencia, que está en el intervalo definido entre señales de frecuencia muy baja (VLF) y señales de frecuencia superalta (SHF), además de producir un campo electromagnético con una intensidad controlada.
- 25 4. El dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el transmisor (3) del campo electromagnético es capaz de enfocar y concentrar el campo electromagnético en una región definida.
5. El dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el sistema (4) para medir directamente la temperatura usa radiación infrarroja, siendo preferentemente un pirómetro de infrarrojo, o un sistema basado en el efecto Seebeck.
- 30 6. El dispositivo según la reivindicación 5, en el que el sistema (4) para medir directamente la temperatura usa un sistema basado en el efecto Seebeck.
- 35 7. Un sistema de hipertermia que comprende un dispositivo según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y una pluralidad de nanopartículas (6), en el que dichas nanopartículas (6) son susceptibles de ser calentadas por la acción de un campo electromagnético de radiofrecuencia generado por el dispositivo.
- 40 8. El sistema según la reivindicación 7, en el que las nanopartículas (6) son metálicas y/o magnéticas.
9. El sistema según la reivindicación 7 u 8, en el que las nanopartículas (6) son nanopartículas funcionalizadas de metales nobles.
- 45 10. El sistema según la reivindicación 9, en el que las nanopartículas (6) son funcionalizadas por medio de enlaces metal-azufre con moléculas orgánicas o biomoléculas.
11. El sistema según la reivindicación 9, en el que las nanopartículas de metales nobles (6) son funcionalizadas por medio de enlaces metal-ligando.
- 50 12. El sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en el que las nanopartículas de metales nobles (6) están protegidas por moléculas de tensioactivo con estabilización por medio de interacciones dipolares.
- 55 13. El sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, en el que las nanopartículas magnéticas (6) son funcionalizadas directamente o funcionalizadas por medio de un recubrimiento de metal noble.
14. El sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en el que las nanopartículas (6) son nanopartículas de oro o paladio.
- 60 15. Nanopartículas para su uso en un procedimiento de tratamiento, en las que el procedimiento emplea un dispositivo que comprende (a) un generador de un campo electromagnético de radiofrecuencia, que comprende un dispositivo analizador de red que, además de generar la señal, permite la determinación de impedancias, coeficientes de reflexión y transmisión y pérdidas de inserción; (b) un amplificador de un campo electromagnético de radiofrecuencia; (c) un transmisor de un campo electromagnético de radiofrecuencia; y (d) un sistema de medida de
- 65 temperatura directa,

comprendiendo el procedimiento las etapas de:

introducción de las nanopartículas en un lugar en un sujeto para un tratamiento en el que las nanopartículas se unen a fármacos, y

5

aplicación de un campo electromagnético de radiofrecuencia a las nanopartículas usando el dispositivo para provocar la liberación controlada de un fármaco.

16. Nanopartículas para su uso en un procedimiento de tratamiento, en las que el procedimiento emplea un dispositivo que comprende (a) un generador de un campo electromagnético de radiofrecuencia, que comprende un dispositivo analizador de red que, además de generar la señal, permite la determinación de impedancias, coeficientes de reflexión y transmisión y pérdidas de inserción; (b) un amplificador de un campo electromagnético de radiofrecuencia; (c) un transmisor de un campo electromagnético de radiofrecuencia; y (d) un sistema de medida de temperatura directa,

15

comprendiendo el procedimiento las etapas de:

introducción de las nanopartículas en un lugar en un sujeto para un tratamiento, y

20 aplicación de un campo electromagnético de radiofrecuencia a las nanopartículas usando el dispositivo para tratar un cáncer o una dolencia derivada de una amiloidosis en el lugar.

17. Las nanopartículas para su uso en un procedimiento de tratamiento según la reivindicación 16, en las que el sujeto tiene un tumor y el calentamiento es para matar las células del tumor.

25

18. Las nanopartículas para su uso en un procedimiento de tratamiento según la reivindicación 16, en las que el tratamiento de una dolencia derivada de una amiloidosis es la destrucción de agregados de proteínas en la amiloidosis.

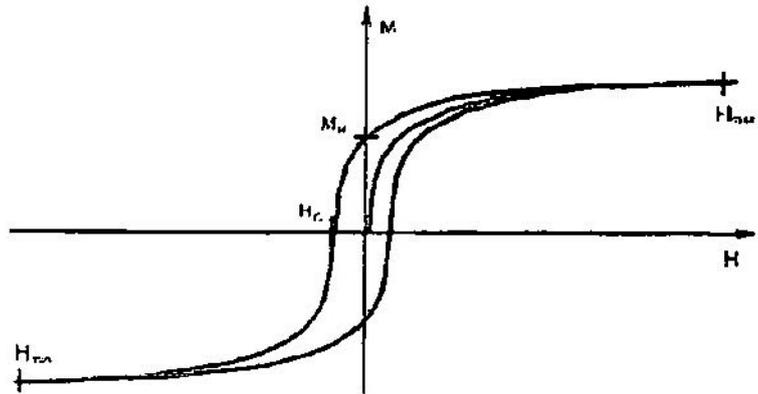


Figura 1

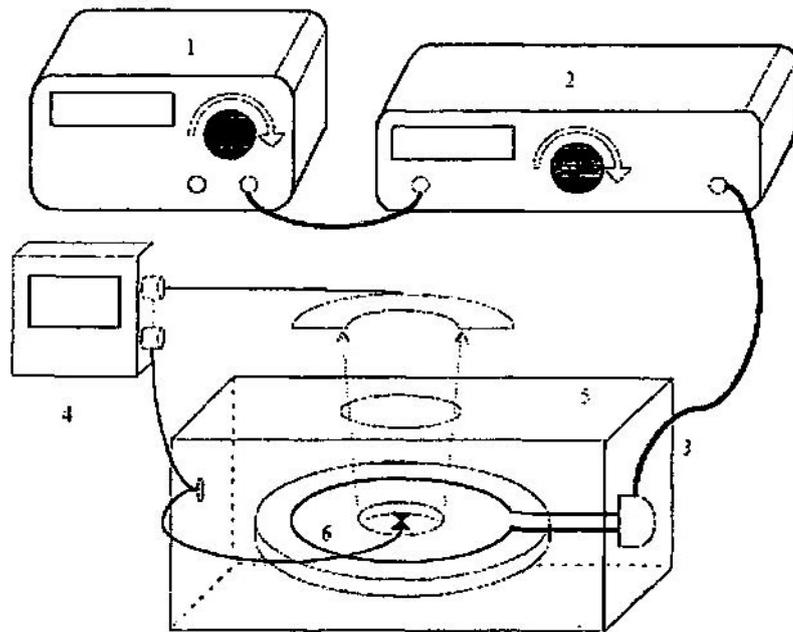


Figura 2