

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 704**

51 Int. Cl.:

<b>C01G 49/02</b>	(2006.01)
<b>C01G 49/06</b>	(2006.01)
<b>C01G 49/08</b>	(2006.01)
<b>C09C 1/24</b>	(2006.01)
<b>A61K 41/00</b>	(2006.01)
<b>B01J 19/10</b>	(2006.01)
<b>A61K 33/26</b>	(2006.01)
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/14</b>	(2006.01)
<b>B82Y 30/00</b>	(2011.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.01.2009 PCT/DE2009/000038**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.07.2009 WO09086824**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.01.2009 E 09700283 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.03.2017 EP 2176170**

54 Título: **Transductor magnético**

30 Prioridad:

**09.01.2008 DE 102008003615**

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

**03.08.2017**

73 Titular/es:

**MAGFORCE AG (100.0%)  
Max-Planck-Strasse 3  
12489 Berlin , DE**

72 Inventor/es:

**WALDÖFNER, NORBERT y  
STIEF, KERSTIN**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 628 704 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

## Transductor magnético

5 La presente invención se refiere a la fabricación de nanopartículas magnéticas biocompatibles que, cuando son expuestas a un campo magnético alterno, producen una gran cantidad de calor. El calor producido puede utilizarse, por ejemplo, para fines terapéuticos, especialmente para combatir el cáncer.

10 Las nanopartículas magnéticas pueden convertir de diversas maneras la energía de un campo magnético alterno en calor. Además del calentamiento mediante la llamada pérdida por histéresis, las nanopartículas también pueden generar calor por medio de la relajación (relajación de Néel o de Brown). La cantidad de energía calorífica producida depende de la intensidad del campo magnético (amplitud) y de la frecuencia del campo alterno. Para una intensidad y una frecuencia dadas del campo magnético, la eficiencia de la producción de calor puede definirse como valor SAR o SLP (SAR = *Specific Absorption Rate*, SPL = *Specific Power Loss*). Los valores SAR de una sustancia se normalizan respecto a la masa utilizada para la medición (en gramos) y se indican en la unidad «W/g». Sin embargo, el valor SAR de una sustancia magnética depende también de otros factores, como pueden ser el tamaño de las partículas, su forma, la anisotropía y el contenido metálico de la sustancia. El SAR se determina preferentemente conforme a un método desarrollado por Jordan y otros (International Journal of Hyperthermia, 1993, vol. 9, n.º 1, 51-68) para una frecuencia de 100 kHz y una intensidad de hasta 18 KA/m. En este caso, la indicación de valor SAR se realiza, conforme a una normalización respecto al contenido de hierro de la sustancia, en mW/mg Fe.

## Estado de la técnica

20 Las nanopartículas magnéticas biocompatibles con frecuencia se obtienen mediante un llamado procedimiento de precipitación. Existen numerosos ejemplos del mismo en la literatura (p. ej., DE 196 14 136 A1). Dado que dichas partículas se producen en una solución acuosa, se pueden funcionalizar sin problemas y por lo general presentan una buena biocompatibilidad. No obstante, las partículas así generadas ofrecen valores SAR relativamente bajos, por lo que no pueden cumplir el propósito perseguido de la invención.

25 Las nanopartículas magnéticas también pueden producirse mediante las llamadas bacterias magnetotácticas (WO 98/40049), y las nanopartículas así obtenidas presentan un SAR mayor. Sin embargo, este proceso de producción es muy complejo y costoso. Además, las partículas sedimentan con relativa rapidez, lo que limita considerablemente sus posibilidades de aplicación.

30 Desde hace tiempo se conoce que mediante la descomposición térmica de complejos metálicos en disolventes orgánicos se generan coloides o nanopartículas (p. ej., Smith y col., J. Phys. Chem. 1980, 84, 1621-1629). Con el procedimiento publicado por Peng y col. (US 2006/0211152 A1) y Hyeon y col. (WO 2006/057533 A1) pueden producirse partículas monodispersas de diferentes tamaños. Sin embargo, las partículas producidas con este procedimiento solo se pueden dispersar en disolventes orgánicos, por lo que no son biocompatibles. Además, los valores SAR que presentan estas partículas obtenidas conforme a estos procedimientos son reducidos. Es cierto que, en principio, se puede conseguir la dispersión de tales partículas (hidrófobas) en agua mediante una modificación de la envoltura [p. ej., Wang y col., Nano Lett., 2003, 3(11), 1555-1559, o De Palma y col., Chem. Mater, 2007, 19, 1821-1831]. Dichos métodos se basan en un intercambio directo de ligandos hidrófobos por ligandos hidrófilos. Estos métodos de recubrimiento aportan tan solo un fino recubrimiento (monolayer) que no cumple el propósito perseguido con la invención de un recubrimiento biocompatible estable. Además, la estabilidad coloidal de las partículas es reducida, de manera que con este método no se pueden recubrir las partículas de la invención. Por otro lado, solo es posible recubrir dispersiones de partículas muy diluidas. Por lo tanto, no existe ninguna solución técnica satisfactoria para la dispersión de las partículas de la invención a escala industrial. Además, las sustancias o disolventes empleados para la dispersión generalmente presentan una excesiva toxicidad, lo que limita su biocompatibilidad.

45 También se pueden obtener nanopartículas de óxido de hierro biocompatibles conforme al documento DE 196 14 136 A1 por medio de un recubrimiento con silanos, pero este método solo se puede aplicar si las partículas ya están dispersas en agua; mientras que las partículas hidrófobas no pueden recubrirse, sin más, con silanos o sílice.

50 Sun y col. (J. AM. CHEM. SOC. 2004, 126, 273-279) describen un procedimiento para la producción de partículas magnéticas de óxido de hierro, procedimiento que no comprende los pasos del E1 hasta el K1 de la presente invención. La solicitud de patente publicada DE 196 14 136 A1 describe un procedimiento para la producción de nanopartículas de óxido de hierro sin aglomerado con un revestimiento resistente a la hidrólisis. La solicitud de patente publicada 25 43 962 se refiere a unos pigmentos magnéticos de óxido de hierro para la producción de capas magnéticas y describe, en particular, un procedimiento para mejorar la capacidad de dispersión y aumentar la resistencia a la abrasión de pigmentos de óxido de hierro de partícula fina mediante un tratamiento con un silano.

El propósito de la presente invención, por tanto, es proporcionar nanopartículas magnéticas biocompatibles con un elevado valor SAR en un campo magnético alterno, siendo el recubrimiento de las partículas una capa de silicio estable

con un espesor de entre 0,5 y 10 nm, preferiblemente entre 1 y 6 nm, aún más preferiblemente de 3 nm. La intensidad del campo magnético alterno utilizado para la determinación del SAR es de 4 kA/m, y la frecuencia, de 100 kHz.

El mencionado objetivo se consigue mediante el procedimiento de producción conforme a la reivindicación 1, las nanopartículas conforme a la reivindicación 18 y la composición farmacéutica conforme a la reivindicación 25.

- 5 A partir de las reivindicaciones dependientes, los ejemplos, las figuras y la descripción se desprenden otras configuraciones ventajosas.

10 La presente invención se refiere a nanopartículas biocompatibles con una cobertura de silicio estable que presenta un espesor preferiblemente de entre 0,5 y 10 nm, aún más preferiblemente de entre 1 y 6 nm, aún más preferiblemente de entre 2 y 4 nm y, en particular, de 3 nm, y con un elevado valor SAR en un campo magnético alterno cuya intensidad es de 4 kA/m y la frecuencia, de 100 kHz.

Conforme a la invención, las partículas se pueden producir con un elevado valor SAR mediante un procedimiento que comprende los siguientes pasos:

A1) Preparación de una composición de al menos un compuesto que contiene hierro A en al menos un disolvente orgánico DV1.

- 15 B1) Calentamiento de la composición durante al menos 10 minutos hasta alcanzar una temperatura en el intervalo desde 50 °C hasta una temperatura 50 °C por debajo de la temperatura de reacción real conforme al paso C1 del compuesto que contiene hierro A.

C1) Calentamiento de la composición hasta alcanzar una temperatura entre 200 °C y 400 °C, siendo la duración de la fase de calentamiento al menos de 30 minutos.

- 20 D1) Purificación de las partículas obtenidas mediante una extracción con Soxhlet durante un período de entre 1 y 8 horas.

E1) Suspensión de las nanopartículas purificadas en agua o en una solución acuosa de un ácido.

F1) Adición de un compuesto tensioactivo a la suspensión acuosa obtenida conforme al paso E1.

H1) Purificación de la dispersión acuosa obtenida de las partículas.

- 25 I1) Producción de una dispersión de las partículas conforme al paso H1 en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente miscible en agua.

J1) Adición de un alcoxisilano a la dispersión de las partículas en la mezcla de disolventes conforme al paso I1.

K1) Purificación de las partículas.

30 Los pasos desde A1 hasta K1 normalmente se realizan de forma sucesiva, si bien entre los pasos A1 y B1 es posible introducir un paso A2 y/o entre los pasos B1 y C1 se puede introducir un paso B2. Asimismo, tras los pasos C1, D1, E1, F1, G1, H1, I1, J1 o K1 se puede introducir opcionalmente un paso de oxidación C2, D2, E2, F2, G2, H2, I2, J2 o K2, respectivamente. En lo sucesivo, se designarán los pasos C2, D2, E2, F2, G2, H2, I2, J2 o K2 también como paso X2. Los pasos adicionales A2, B2 y/o X2 son opcionales y no forman parte esencial de la realización de la invención.

35 Por otro lado, cualquier especialista con aptitudes promedio es capaz de adaptar y optimizar los parámetros de reacción en función de la temperatura de reacción elegida y del compuesto que contiene hierro A elegido o de los demás componentes elegidos. Un especialista puede optimizar la duración de la fase de calentamiento B1 de cada reacción de manera que se obtengan partículas con un SAR lo más alto posible. La fase de calentamiento conforme al paso B1 dura al menos 10 minutos, y es evidente para cualquier especialista que, cuanto mayor sea la temperatura, más breve será la fase de calentamiento. Asimismo, en el procedimiento conforme a la invención, un especialista puede adaptar la velocidad del calentamiento, la temperatura final y el tiempo de mantenimiento de la temperatura final en el paso C1 de manera que se obtengan unas partículas con un SAR lo más alto posible.

40 Las partículas son preferentemente nanopartículas, es decir, partículas con un diámetro del orden de los nanómetros, si bien en el procedimiento conforme a la invención pueden obtenerse también micropartículas.

El compuesto o compuestos que contienen hierro A empleados se seleccionan preferiblemente entre aquellos que comprenden o constan de complejos de hierro, compuestos de carbonilo de hierro; sales de hierro, en particular sales de hierro de ácidos grasos saturados o insaturados; compuestos de hierro orgánicos y complejos sándwich de hierro.

5 Como compuesto de carbonilo de hierro cabe mencionar el dicarbonilo de hierro  $[\text{Fe}(\text{CO})_2]$ , el tetracarbonilo de hierro  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  o el pentacarbonilo de hierro  $[\text{Fe}(\text{CO})_5]$ , y son ejemplos de sales de hierro dicloruro de hierro, dibromuro de hierro, difluoruro de hierro, diioduro de hierro, tricloruro de hierro, tribromuro de hierro, trifluoruro de hierro, triioduro de hierro, sulfato de hierro (II), sulfato de hierro (III), acetato de hierro, oxalato de hierro, nitrato de hierro (II), nitrato de hierro (III), carbonato de hierro, hidróxido de hierro (II), hidróxido de hierro (III), fosfato de hierro y difosfato de trihierro. El ferroceno es un ejemplo de complejo sándwich de hierro, y el acetilacetato de hierro, de complejo de  
10 hierro. Entre los compuestos organometálicos de hierro figuran acetato de hierro (II), acrilato de hierro (III), oleato de hierro (III), alcóxidos de hierro tal como etóxido de hierro (III) y también los compuestos de carbonilo de hierro tales como acetilciclobutadienotricarbonilohierro, butadienotricarbonilohierro y tetracarboniloolefinahierro.

15 Como disolvente orgánico DV1 pueden utilizarse todos los disolventes de punto de ebullición elevado. Son preferibles los disolventes que comprenden o constan de: aminas, alcanos, olefinas, alcoholes o éteres de punto de ebullición elevado. Asimismo, pueden utilizarse monoéter y diéter de dioles (dioles de alcanos), además de monoéter, diéter y triéter de trioles (trioles de alcanos), monoéter de alquilenglicol, diéter de alquilenglicol, monoéter de etilenglicol, diéter de etilenglicol, monoéter de propilenglicol, diéter de propilenglicol, monoéter de glicerina, diéter de glicerina, triéter de glicerina y diéter de glicol (glymes). También el disolvente DV2 puede elegirse de entre el grupo mencionado.

20 Son preferibles, tanto para DV1 como para DV2, los diéteres de glicol (también llamados «glymes») con un punto de ebullición  $> 200$  °C. Para la producción de nanopartículas a partir de sales de hierro (p. ej., cloruros) también es adecuado el etilenglicol. No obstante, en principio es preferible un punto de ebullición del disolvente superior a  $150$  °C, más preferible superior a  $175$  °C, y especialmente superior  $200$  °C.

25 El compuesto o compuestos que contienen hierro A se dispersa, disuelve o suspende en el disolvente DV1, y la composición resultante se calienta entonces durante al menos 10 minutos hasta una temperatura en el intervalo desde  $50$  °C hasta  $50$  °C por debajo de la temperatura de reacción real conforme al paso C1 del compuesto que contiene hierro A. Por temperatura de reacción real se entiende la temperatura de formación de las partículas, que oscila entre  $200$  °C y  $400$  °C. Por lo tanto, la temperatura de nucleación conforme al paso B1 se sitúa entre los  $50$  °C y un máximo de  $350$  °C, si bien siempre al menos  $50$  °C por debajo de la temperatura conforme al paso C1. Preferiblemente, por  
30 tanto, el calentamiento de uno o más compuestos de hierro A se produce en el disolvente orgánico DV1 o en la mezcla de disolventes orgánicos DV1 hasta una temperatura aproximada de  $50$  °C por debajo de la temperatura real de formación de las partículas conforme al paso C1 del compuesto A.

35 Esta fase de calentamiento previa a la formación de las partículas conforme al paso B1 sirve para la formación de los llamados núcleos, la cual posibilita entonces una formación de partículas definida. La duración de la fase de calentamiento tiene gran influencia sobre el SAR de las partículas obtenidas en el paso C1, preferentemente nanopartículas. Para producir partículas o nanopartículas con un valor SAR elevado, la temperatura alcanzada se mantiene durante al menos 30 minutos y, de forma especialmente preferida, durante unos 40 minutos. De esta manera, la composición compuesta por al menos un compuesto que contiene hierro A y al menos un disolvente DV1 se calienta durante un período preferentemente de entre 30 y 50 minutos a la mencionada temperatura.

40 En función del compuesto que contiene hierro A utilizado, se busca una temperatura que preferiblemente oscila entre aproximadamente  $100$  °C y  $300$  °C, más preferiblemente entre aproximadamente  $130$  °C y  $270$  °C, más preferiblemente entre aproximadamente  $150$  °C y  $250$  °C, más preferiblemente entre aproximadamente  $170$  °C y  $230$  °C, más preferiblemente entre  $180$  °C y  $220$  °C, más preferiblemente entre  $190$  °C y  $210$  °C, y en particular unos  $200$  °C por debajo de la temperatura de reacción real para la formación de las partículas conforme al paso C1, si bien la temperatura buscada nunca debe ser inferior a  $70$  °C, preferiblemente no inferior a  $90$  °C y, en particular, no inferior  
45 a  $100$  °C. Es preferible mantener la temperatura en la primera fase de calentamiento conforme al paso B1 entre  $100$  °C y  $150$  °C.

50 Para inducir o favorecer la nucleación, conforme al paso A2 pueden añadirse aditivos o compuestos tensioactivos. Los términos «aditivo» y «compuesto tensioactivo» como se utilizan guardan relación entre sí en el sentido de que la mayoría de los aditivos son también compuestos tensioactivos, aunque esto no es necesariamente así para todos los aditivos. Por lo tanto, todo compuesto tensioactivo puede calificarse como aditivo, pero no todo aditivo puede calificarse como compuesto tensioactivo. A este respecto, se puede tratar de surfactantes, silanos, compuestos orgánicos de silicio o aluminio, fosfinas, ácidos grasos saturados o insaturados, aminas, diaminas, ácidos carboxílicos y sus sales, ácidos grasos saturados o insaturados y también polímeros. Son ejemplos de polímeros alcohol polivinílico, polietilenglicol, ácido poliacrílico, dextrano, PLGA, quitina, fibrina, heparina, quitosano y polietilenoimina.

Tras la fase de calentamiento conforme al paso B1 se produce la formación de partículas propiamente dicha en el paso C1. Los núcleos de partícula formados en el paso B1 se calientan hasta una temperatura entre 200 °C y 400 °C, siendo la duración de la fase de calentamiento de al menos 30 minutos.

5 A partir de los núcleos de partícula originados y del compuesto que contiene hierro A sobrante se forman partículas que contienen hierro, preferentemente nanopartículas que contienen hierro.

Se ha demostrado que es ventajoso comenzar y llevar a cabo la fase de calentamiento del paso B1 no con toda la cantidad de compuesto que contiene hierro A, sino añadir tras el paso de nucleación B1 al menos otro compuesto que contiene hierro B en un disolvente orgánico DV2 en un paso B2.

10 Este compuesto o compuestos que contienen hierro B pueden seleccionarse del grupo de compuestos que contienen hierro mencionado y pueden ser idénticos o distintos del compuesto o compuestos que contienen hierro A.

Lo mismo sucede con el disolvente orgánico DV2, el cual puede elegirse de entre el grupo anteriormente descrito de disolventes DV1 y puede ser idéntico o distinto de este, si bien es preferible que DV1 y DV2 sean idénticos.

15 Por lo tanto, resulta ventajoso que, después del paso de nucleación B1, se añadan en el mismo disolvente (DV1 = DV2) un nuevo compuesto que contiene hierro B y que la composición así obtenida conforme al paso C1 se caliente hasta una temperatura de hasta 500 °C, preferiblemente entre 200 °C y 400 °C. DV1 y DV2 tienen preferiblemente un punto de ebullición de al menos 200 °C.

20 Así, tras la adición del compuesto o compuestos que contienen hierro B en el disolvente DV2, se producen las partículas propiamente dichas. Junto con el compuesto que contiene hierro B es posible añadir también otros aditivos a la composición obtenida conforme al paso B1. En el caso de los aditivos tampoco es necesario que se elijan los mismos aditivos que ya están presentes en la solución, si bien es preferible que sea así.

También aquí un especialista puede adaptar la cantidad de compuesto que contiene hierro B y de aditivo a añadir y la naturaleza y cantidad del disolvente DV2 para obtener partículas con un valor SAR lo más elevado posible.

25 No obstante, como ya se ha expuesto, la cantidad total de compuesto que contiene hierro necesario puede añadirse ya en el paso A, de manera que el paso B2, pese a ser ventajoso, no es imprescindible. Aun en caso de que tras la primera fase de calentamiento conforme al paso B1 ya no se añada otro compuesto que contiene hierro B, en un paso B2 puede añadirse otro aditivo, el cual ha de ser el mismo aditivo que ya está presente en la composición. Por lo tanto, en el paso B2 puede añadirse solamente aditivo o solamente compuesto que contiene hierro B o bien ambos a la vez o uno después del otro.

30 La segunda fase de calentamiento conforme al paso C1 dura al menos 30 minutos, preferentemente entre 1 y 30 horas, más preferentemente entre 10 y 20 horas y, en particular, 15 horas.

Sorprendentemente, se ha comprobado que a través de la prolongación de las fases de calentamiento o igualmente a través de fases de calentamiento más largas, puede incrementarse aún más el SAR, de manera que son preferibles fases de calentamiento largas, en particular las fases de temple adicionales. En particular en el paso C1 resulta preferible una fase de calentamiento de más de 10 horas, en particular de más de 14 horas.

35 Las fases de temple opcionales posteriores al paso D1, designadas como D1\* y/o D2\*, también permiten incrementar aún más el SAR, y por lo tanto, también duran preferentemente más de 10 horas, aún más preferentemente más de 14 horas y, en particular, más de 18 horas. Por lo tanto, una fase de temple puede durar, por ejemplo, entre 1 y 30 horas, preferiblemente entre 10 y 25 horas, más preferiblemente entre 13 y 22 horas, y en particular entre 15 y 20 horas.

40 El SAR de las partículas resultantes puede incrementarse variando la duración de la fase de calentamiento B1, la temperatura final y el tiempo de mantenimiento de la temperatura final en el paso C1, y variando también la cantidad de compuestos de hierro y aditivos añadidos en el paso C1 para obtener partículas con un SAR lo más elevado posible. Estos parámetros dependen del tipo de compuesto de hierro empleado y del tipo de disolvente y de aditivo. Por lo tanto, es preciso adaptar las fases de calentamiento a cada sistema, si bien es algo que puede realizar cualquier  
45 especialista fácilmente con sus conocimientos.

El SAR de las partículas obtenidas conforme a la invención oscila entre 10 y 40 W por g Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m, preferentemente entre 20 y 40 W por g Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m, aún más preferentemente entre 25 y 40 W por g Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m, y en particular entre 30 y 40 W por g Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m y una frecuencia del campo magnético alterno de 100 kHz.  
50

A continuación se exponen algunos ejemplos de sistemas para la producción de partículas conforme a la invención y se indican los valores SAR de las partículas producidas. Los ejemplos desde I hasta VIII producen partículas de la invención con valores SAR de 20-40 W por g Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m y una frecuencia del campo magnético alterno de 100 kHz. El dato «Fe» se refiere al contenido total de hierro de Fe<sup>0</sup>, Fe<sup>+2</sup> y Fe<sup>+3</sup>.

5 Tabla 1:

Ejemplos de componentes adecuados para la producción de partículas de la invención:			
Compuesto que contiene hierro A	Disolvente DV1 (p.e.)	Ejemplos de aditivos	SAR (W/g Fe)
Pentacarbonilo de hierro	Éter dibutílico de etilenglicol (256 °C)	Ácidos grasos, surfactantes	10-30
Pentacarbonilo de hierro	Éter dioctílico (287 °C)	Ácidos grasos, surfactantes	10-30
Ferroceno	Éter dibutílico de etilenglicol (256 °C)	Ácidos grasos, surfactantes, aminas	10-30
Acetilacetonato de hierro	Trietilamina (365 °C)	Ácidos grasos, surfactantes, aminas	15-30
Acetilacetonato de hierro	Etilenglicol (197 °C)	Diaminas, ácidos carboxílicos, polímeros sin aditivo	15-30
Acetilacetonato de hierro	Trietilenglicol (291 °C)	Diaminas, ácidos carboxílicos, polímeros sin aditivo	15-30
Oleato de hierro (III)	Poliglicol DME 500 (>250 °C)	Ácidos grasos, surfactantes sin aditivo	15-35
Oleato de hierro (III)	Trietilamina (365 °C)	Ácidos grasos, surfactantes	15-35
Oleato de hierro (II)	Poliglicol DME 500 (>250 °C)	Ácidos grasos, surfactantes sin aditivo	15-30
Oleato de hierro (II)	Trietilamina (365 °C)	Ácidos grasos, surfactantes	15-35
Cloruro de hierro (III)	Etilenglicol (197 °C)	Diaminas, ácidos carboxílicos, polímeros sin aditivo	20-40
Cloruro de hierro (III)	Trietilenglicol (291 °C)	Diaminas, ácidos carboxílicos, polímeros	20-35
Etóxido de hierro (III)	Poliglicol DME 500 (>250 °C)	Diaminas, ácidos carboxílicos, polímeros sin aditivo	10-25

10

En la tabla 1 anterior, «sin aditivo» significa que la síntesis de la invención se ha llevado a cabo con los componentes mencionados en la columna correspondiente, pero sin añadir aditivos. Los componentes mencionados en la tabla 1 han sido transformados conforme a los ejemplos 1 y 3A o 2 y 3A (pasos desde A1 hasta C2) y después se han seguido transformando todos los sistemas conforme a los ejemplos 4-6 y 4-7. En caso de utilizar una fase de temple adicional (ejemplo 7, pasos D1\* o D2\*), se ha demostrado que se podía incrementar el SAR en aproximadamente 5 W/g Fe para unos 5 kA/m. Los valores SAR indicados en la tabla 1 se refieren a una intensidad del campo magnético de 4 kA/m y a una frecuencia del campo alterno de 100 kHz.

Tabla 2: Ejemplos de sistemas conformes a la invención

Paso	Ejemplo I	Ejemplo II	Ejemplo III	Ejemplo IV
A1	Cloruro de hierro (III) + etilenglicol			
E1	Ácido clorhídrico	Ácido nítrico	Ácido clorhídrico	Ácido clorhídrico
F1	Oleato de sodio	Ácido 11-cis-eicosenoico (sal Na)	Oleato de sodio	Oleato de sodio
11	Etanol/agua	Etanol/agua	Isopropanol/agua	Isopropanol/agua
J1	Tetraetoxisilano	Tetraetoxisilano	Tetraetoxisilano	Bis(trietoxisilil)etano

Paso	Ejemplo V	Ejemplo VI	Ejemplo VII	Ejemplo VIII
A1	Cloruro de hierro (III) + etilenglicol	Oleato de hierro (III) + trioctilamina	Oleato de hierro (III) + éter dibutílico de dietilenglicol	Acetilacetato de hierro (III) + etilenglicol
E1	Ácido clorhídrico	Ácido clorhídrico	Ácido nítrico	Ácido clorhídrico
F1	Oleato de sodio	Ácido 11-cis-octadecanoico (sal Na)	Oleato de sodio	Oleato de sodio
11	Isopropanol/agua	Etanol/agua	Etanol/agua	Isopropanol/agua
J1	Tetraetoxisilano	Tetraetoxisilano	Tetraetoxisilano	Bis(trietoxisilil)octano

5 Opcionalmente, las fases desde A hasta C pueden llevarse a cabo bajo presión normal al aire o en una atmósfera de gas protector (argón, nitrógeno) o en un autoclave de reacción con presiones de hasta 400 bar.

10 Tras esta segunda fase de calentamiento conforme al paso C1 puede efectuarse una fase de oxidación X2. La fase de oxidación X2 es opcional y no es necesario que se produzca inmediatamente después del paso C1, sino que puede tener lugar también después de cualquiera de los pasos desde C1 hasta K1. En ella, las partículas se oxidan, preferentemente mediante una corriente de oxígeno atmosférico. Dicha corriente de oxígeno atmosférico dura entre 4 y 24 horas, preferentemente entre 8 y 16 horas, y aún más preferentemente a temperatura de entre 20 °C y 50 °C. Sin embargo, también pueden utilizarse otros oxidantes volátiles o que se puedan separar mediante destilación, como por ejemplo oxígeno (puro), peróxido de hidrógeno o incluso oxidantes orgánicos, tales como aminóxidos. Por lo tanto, es preferible que, tras cualquiera de los pasos desde C1 hasta K1, se realice inmediatamente un paso de oxidación X2, siendo X una variable de las letras desde C hasta K, según el paso que preceda a la oxidación. Si la oxidación opcional tiene lugar tras el paso E1, la oxidación se designará como E2; si se produce tras el paso K1, el paso de oxidación se designará como K2. Asimismo, el paso de oxidación también puede repetirse varias veces o puede llevarse a cabo otro paso de oxidación X2' tras otro paso del procedimiento, lo cual, aunque es posible, no es preferible. Por lo tanto, un procedimiento conforme a la invención puede comprender un primer paso de oxidación X2 (p. ej., F2) y un segundo paso de oxidación X2' (p. ej., H2'). En el caso de las partículas que ya se encuentran parcial o totalmente oxidadas, obviamente resulta innecesaria otra oxidación. Por lo general, las oxidaciones se producen espontáneamente en el aire ambiente, de manera que no es preciso un paso de oxidación X2 adicional a la oxidación espontánea. Sin embargo, el paso de oxidación X2 puede llevarse a cabo aun cuando no sea absolutamente necesario, ya que se ha demostrado que tampoco es perjudicial.

25 Las partículas formadas conforme al paso C1, preferentemente nanopartículas, deben purificarse. Este paso es esencial y consustancial a la invención. La transformación de partículas no purificadas no produce partículas conforme

a la invención, con buena capacidad de dispersión en el agua y un SAR final elevado. Esta purificación se lleva a cabo conforme al paso D1 mediante una extracción Soxhlet con una duración de entre 1 y 8 horas, hasta que ya no esté garantizada una capacidad de dispersión de las partículas en disolventes no polares. Sorprendentemente, se ha comprobado que para la posterior dispersión en agua (paso F1) es esencial que el aditivo y, en particular, la sustancia tensioactiva de la fase A2 y/o B2 sean retirados lo más completamente posible de las partículas, es decir, se eliminen en su mayor parte. Con la expresión «lo más completamente posible» o «en su mayor parte» se entiende una eliminación de los aditivos de entre el 70 % y el 100 %, preferentemente de hasta el 90 %. Por lo tanto, es preciso eliminar de las partículas más del 70 % de los aditivos, preferentemente más del 80 %, más preferentemente más del 90 % y, en particular, más del 95 %. Los porcentajes indicados se refieren al aditivo adherido a las partículas. El aditivo libre, es decir, el que flota libremente en la solución y no se ha adsorbido a las partículas, puede ser eliminado mediante centrifugación en su mayor parte, es decir, > 95 %, preferentemente > 98 %. La cantidad de aditivo que quede adherido a las partículas puede determinarse, por ejemplo, mediante un análisis elemental o una espectroscopia de infrarrojos. El porcentaje se refiere al peso (% p). El aditivo que no está adherido a las partículas se elimina mediante centrifugación y el que está adherido a las mismas puede extraerse preferentemente mediante extracción Soxhlet de las partículas obtenidas, si bien puede recurrirse también a una extracción por ultrasonidos. A tal fin, en primer lugar se separan las nanopartículas mediante centrifugación, antes de proceder a otro paso de purificación.

El disolvente utilizado para la extracción Soxhlet puede ser un disolvente orgánico polar corriente, como alcohol, cetona, éter o éster. Preferentemente se utiliza la acetona, el acetato de etilo o el etanol.

La extracción dura entre 1 y 8 horas, preferentemente entre 2 y 6 horas, en particular aproximadamente 4 horas. Es fundamental que las partículas que contienen hierro, preferentemente nanopartículas, tras la extracción ya no puedan dispersarse en disolventes no polares, como por ejemplo tolueno, xileno o hexano. Si no es así, debe modificarse convenientemente el tiempo de extracción. El polvo de nanopartículas así purificado se seca al vacío.

Tras el paso D1 pueden añadirse otras «fases de temple» para incrementar la cristalinidad de las partículas. Estas fases de temple pueden realizarse en disolventes de punto de ebullición elevado, a temperaturas de hasta 400 °C durante varias horas. Por «disolventes de punto de ebullición elevado» se entiende aquellos cuyo punto de ebullición es de al menos 200 °C, preferiblemente al menos 300 °C. Este proceso de temple puede tener lugar tanto en el aire como en un gas protector (p. ej., argón). A temperaturas de hasta aproximadamente 200-250 °C se trabaja preferentemente sin gas protector y a temperaturas a partir de aproximadamente 200-250 °C, preferentemente con gas protector. Alternativamente, las nanopartículas pueden templarse también en forma de polvo (sin disolvente) a temperaturas de hasta 1.000 °C en atmósfera de gas protector. Los gases protectores preferidos son el argón y la mezcla de CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>. Este paso o pasos de temple se realizan después del paso D1 como paso D1\* o después del paso de oxidación D2\* como paso D2\*.

La oxidación conforme al paso X2, donde X = C o D o E o F o G o H o I o J o K, puede realizarse preferentemente mediante suspensión de las partículas en HNO<sub>3</sub> desde 0,5 hasta 2M, preferiblemente HNO<sub>3</sub> 1M, añadiendo Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> e hirviendo posteriormente a reflujo. La proporción de Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> a FeO<sub>x</sub> o, en general, la proporción de Fe(III) a FeO<sub>x</sub> es preferiblemente de 1:2. Este proceso de oxidación incide positivamente en el SAR de las partículas, por lo que es ventajoso. Cabe señalar que este paso no se limita a Fe (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, sino que puede aplicarse también a otras sales de Fe(III), como por ejemplo FeCb, FePO<sub>4</sub>, etc.

A continuación, conforme a los pasos E1 y F1, se produce la dispersión de las partículas o nanopartículas purificadas en agua mediante recubrimiento reversible con un compuesto tensioactivo.

En este paso, el polvo de partículas o nanopartículas purificadas se suspende en agua, acoplándose una capa hidrófila de manera que posteriormente resulte sencillo retirar esta capa. En el recubrimiento, al principio es preferible que el contenido de sustancias sólidas (óxido de hierro) sea del 2 %-20 %, aún más preferiblemente del 3 %-12 %, aún más preferiblemente del 5 %-8 %, aún más preferiblemente del 6 %-7 % y, en particular, aproximadamente del 6,5 %. Para conseguir una dispersión fina de las partículas, antes de añadir el compuesto tensioactivo puede añadirse un ácido, preferiblemente un ácido mineral conforme al paso F1, p. ej., ácido clorhídrico o ácido nítrico, de manera que se obtenga un pH de 2-6, preferentemente de 3-5 y, en particular, de aproximadamente 4.

De entre los ácidos se seleccionan preferentemente los ácidos minerales, tales como ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido bromhídrico, ácido bórico o ácido nítrico. Lo único importante es que se utilice un ácido, preferiblemente un ácido inorgánico, que no se enlace irreversiblemente a la superficie de las partículas. En los ensayos se ha comprobado que son preferibles los ácidos minerales y que se deberían evitar los aminoácidos y los ácidos carboxílicos. No obstante, los siguientes ácidos se pueden utilizar, en principio, en el procedimiento conforme a la invención: ácido sulfónico, ácido nitroso, ácido perclórico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido hidroxietansulfónico, ácido etilensulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido naftalensulfónico, ácido naftalenaminosulfónico, ácido sulfanílico y ácido canforsulfónico.

Si el pH de la solución acuosa se ajusta mediante ácido o ácido mineral, la adición del compuesto o compuestos tensioactivos se realiza conforme al paso F1. El compuesto o compuestos tensioactivos se eligen preferiblemente de entre aquellos que comprendan o consistan en sales de ácidos grasos saturados y, preferiblemente, insaturados. Asimismo, se pueden utilizar surfactantes o polímeros, como p. ej. alcohol de polivinilo, polietilenglicol, ácido poliacrílico, dextrano, PLGA, quitosano o polietilenimina.

Son ejemplos de ácidos grasos saturados: ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido hexanoico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido behénico y ácido lignocérico.

Como ejemplos de los ácidos grasos insaturados preferidos o sus sales pueden nombrarse cualquiera los ácidos grasos como, por ejemplo, ácido cis-9-tetradecenoico (ácido miristoleico), ácido cis-9-hexadecenoico (ácido palmitoleico), ácido cis-6-octadecenoico (ácido petroselínico), ácido cis-9-octadecenoico (ácido oleico), ácido cis-11-octadecenoico (ácido vaccénico), ácido cis-9-eicosenoico (ácido gadoleico), ácido cis-11-eicosenoico (ácido gondoico), ácido cis-13-docosenoico (ácido erúxico), ácido cis-15-tetracosenoico (ácido nervónico), ácido t9-octadecenoico (ácido elaídico), ácido t11-octadecenoico (ácido t-vaccénico), ácido t3-hexadecenoico, ácido 9,12-octadecenoico (ácido linolénico), ácido 6, 9, 12-octadecatricoenoico (ácido  $\gamma$ -linolénico), ácido 8, 11, 14-eicosatrienoico (ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico), ácido 5, 8, 11, 14-eicosatetraenoico (ácido araquidónico), ácido 7, 10, 13, 16-docosatetraenoico, ácido 4, 7, 10, 13, 16-docosapentaenoico, ácido 9,12,15-octadecatricoenoico (ácido  $\alpha$ -linolénico), ácido 6, 9, 12, 15-octadecatetraenoico (ácido estearidónico), ácido 8, 11, 14, 17-eicosatetraenoico, ácido 5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoico (EPA), ácido 7, 10, 13, 16, 19-docosapentaenoico (DPA), ácido 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoico (DHA), ácido 5, 8, 11-eicosatrienoico (ácido Mead), ácido 9c 11t 13t eleosteárico, ácido 8t 10t 12c caléndico, ácido 9c 11t 13c catálpico, ácido 4, 7, 9, 11, 13, 16, 19 docosaheptadecanoico (ácido heptanoico de Stella), ácido taxólico, ácido pinolénico, ácido sciadónico, ácido 6-octadecanoico (ácido tarírico), ácido t11-octadecan-9-enoico (ácido santálbico o ximenínico), ácido 9-octadecenoico (ácido esteárico), ácido 6-ociadecen-9-enoico (ácido 6,9-octadecenoico), ácido t10-heptadecen-8-enoico (ácido pirulínico), ácido 9-octadecen-12-enoico (ácido crepénico), ácido t7, t11-octadec-9-dienoico (ácido heisterínico), ácido t8,t10-octadec-12-dienoico, ácido 5, 8, 11, 14-eicosatetraenoico (ETYA) y ácido t8,t10-octadeca-12-dienoico. Las sales de los ácidos grasos se forman preferiblemente con iones alcalinos y alcalinotérreos.

La proporción de masa de nanopartículas respecto al compuesto tensioactivo es preferiblemente de 1:0,02 a 1:10, más preferiblemente de 1:0,1 a 1:2 y, en particular, de 1:0,5.

Tras la adición de la sustancia tensioactiva, la suspensión recibe un tratamiento de ultrasonidos conforme al paso G1 preferiblemente durante 30 minutos.

A continuación, la suspensión se agita durante aproximadamente 2 horas a una temperatura preferentemente de 30 °C a 70 °C, aún más preferentemente de 50 °C a 60 °C, en particular de 40 °C. Posteriormente se produce una purificación conforme al paso I1. Las partículas no dispersadas se separan preferentemente mediante una centrifugación (1000 rpm).

Inmediatamente después del recubrimiento, debe retirarse la sustancia tensioactiva sobrante de la dispersión de partículas. Esta purificación puede producirse mediante una diálisis o una extracción con éter dietílico. Alternativamente, las partículas pueden separarse con una ultracentrifugadora y lavarse con agua y una mezcla de agua y éter dietílico.

A continuación se produce la sustitución del recubrimiento basado en ácido graso de las partículas por una envoltura biocompatible que contiene silicio conforme a los pasos I1 y J1.

Para sustituir la envoltura se dispersan las partículas conforme al paso I1 en una mezcla de agua y al menos un disolvente miscible en agua. Se denomina como «disolvente miscible en agua» alcoholes, polioles, tetrahidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), dimetilacetamida, dimetilsulfóxido (DMSO), acetona, ácido acético, ácido fórmico, formiato de metilo, formiato de etilo, acetato de etilo, acetato de metilo, etc.

Son especialmente preferibles, sin embargo, los alcoholes. El alcohol se puede elegir preferentemente de entre aquellos que comprenden o consisten en: metanol, etanol, propanol, isopropanol y etilenglicol, de los cuales se prefiere el etanol.

La proporción de agua respecto a alcohol o de agua respecto a etanol es preferiblemente de 1:1 a 1:5, en particular de 1:3, para que la retirada de la envoltura de ácido graso y la sustitución por una envoltura que contiene silicio puedan producirse paralelamente.

Asimismo, se prefiere que la mezcla de alcohol y agua contenga el 1 %-5 % en peso, aún más preferentemente del 1 %-3 % en peso, en particular del 1,5 % en peso, de una amina, preferentemente una amina primaria, en particular amoniaco.

5 Justo tras la adición de la dispersión de nanopartículas a la mezcla de disolventes y, en particular, a la mezcla de agua y alcohol, preferiblemente de agua y etanol, conforme al paso I1, debe añadirse también un alcoxisilano adecuado. La adición del alcoxisilano debe producirse bajo tratamiento con ultrasonidos. Son alcoxisilanos adecuados todos los tetraalcoxisilanos, como por ejemplo tetrametoxisilano y tetraetoxisilano, así como los trialcoxisilanos, los dialcoxisilanos y los monoalcoxisilanos, que preferiblemente llevan además un grupo funcional acoplado mediante un enlace Si-C, como por ejemplo grupo amino, grupo tiol y/o grupo epoxi.

10 Para que el intercambio de los recubrimientos funcione sin dificultades, la proporción molar entre el hierro y el alcoxisilano debe estar entre 1:1 y 1:5, preferiblemente 1:3.

15 Tras la adición de los reactantes, se trata la dispersión del paso J1 con ultrasonidos durante 1-8 horas, preferentemente 3-5 horas y, en particular, 4 horas. La purificación de las partículas se produce a continuación, preferiblemente mediante diálisis frente a agua. Alternativamente, la purificación se puede realizar centrifugando las partículas a un número g elevado y lavando el precipitado con agua ultrapura.

Por otro lado, la presente invención se refiere a partículas, preferiblemente nanopartículas, que pueden obtenerse mediante el procedimiento aquí descrito.

20 Las nanopartículas que contienen hierro de la invención son en sí mismas preferiblemente ferromagnéticas, ferrimagnéticas o superparamagnéticas. Este tipo de partículas o nanopartículas pueden calentarse mediante un campo magnético alterno. Es posible calentar a más de 50 °C el tejido que contiene las partículas o nanopartículas, ya que estas, conforme a la invención, presentan un valor SAR elevado.

Las partículas que contienen hierro obtenidas conforme a la invención presentan un valor SAR de 10-40 W por g Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m y una frecuencia del campo magnético alterno de 100 kHz.

25 Las partículas presentan preferentemente un diámetro inferior a 500 nm. Las nanopartículas presentan un diámetro promedio en el intervalo de tamaño de entre 1 y 100 nm y, especialmente, entre 15 y 30 nm.

La envoltura estable que contiene silicio de las nanopartículas tiene un espesor de entre 0,5 y 10 nm, preferiblemente de 3 nm.

30 La envoltura que contiene silicio puede funcionalizarse mediante otros alcoxisilanos, a fin de modificar las propiedades de las partículas. Preferiblemente se trata de trialcoxisilanos que llevan un grupo funcional unido mediante un enlace Si-C. Se trata, por ejemplo, de (3-acriloxipropil)trimetoxisilano, trietoxisililbutiraldehído, 3-aminopropiltriethoxisilano y 3-isocianatopropiltriethoxisilano. No obstante, los trialcoxisilanos pueden llevar también cadenas laterales de polietilenglicol de distinta longitud unidas a través de enlaces Si-C. Se trata, por ejemplo, de 2-[metoxi(polietileno)propil]trimetoxisilano.

35 Las partículas que contienen hierro de la invención pueden utilizarse en el ámbito médico y, por ejemplo, inyectarse en una solución acuosa. Las partículas que contienen hierro de la invención pueden utilizarse para el tratamiento y la profilaxis de enfermedades proliferativas, cáncer, tumores, reuma, artritis, artrosis e infecciones bacterianas.

Asimismo, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen las nanopartículas de la invención.

40 Dichas composiciones farmacéuticas son, en particular, soluciones para infusión o para inyección. Tales soluciones de nanopartículas, por ejemplo, en solución fisiológica salina, son apropiadas para la aplicación intersticial o intratumoral. Asimismo, una aplicación intraarterial o intravenosa ofrece una posibilidad terapéutica sistémica para todo el organismo para tipos de tumores no sólidos o metastásicos.

Otras composiciones farmacéuticas ventajosas son polvo, polvo de inhalación y liofilizados que incluyen las partículas que contienen hierro de la invención.

45 Las nanopartículas y las composiciones farmacéuticas de la invención pueden aplicarse ventajosamente para el tratamiento y la profilaxis de enfermedades caracterizadas por especies de células degeneradas o células exógenas y en las que pueden aprovecharse las características de las nanopartículas de la invención para discriminar entre células exógenas o degeneradas y células sanas del organismo. Se consideran células degeneradas, en particular,

las células cancerosas o las células de proliferación alterada, así como los tejidos estenóticos o restenóticos. En cuanto a las células exógenas, puede tratarse, en particular, de bacterias.

En consecuencia, las nanopartículas de la invención y las composiciones farmacéuticas que contienen las nanopartículas pueden utilizarse para la profilaxis y el tratamiento de tumores, carcinomas y cánceres.

5 Como ejemplos de tipos de cáncer y tumor para los cuales se pueden usar las nanopartículas de la invención cabe destacar: adenocarcinomas, melanoma de la coroides, leucemia aguda, neurinoma acústico, carcinoma ampular, carcinoma anal, astrocitomas, carcinoma basocelular, cáncer de páncreas, tumor de tejido conectivo, cáncer de vejiga  
 10 urinaria, carcinoma bronquial, carcinoma bronquial no microcítico, cáncer de mama, linfoma de Burkitt, carcinoma de cuerpo uterino, carcinoma CUP, cáncer de colon, cáncer de intestino delgado, tumores del intestino delgado, cáncer de ovario, carcinoma del endometrio, ependimoma, cánceres epiteliales, sarcoma de Ewing, tumores  
 15 gastrointestinales, cáncer de vesícula biliar, carcinomas biliares, cáncer uterino, cáncer de cuello uterino, glioblastomas, tumores ginecológicos, tumores otorrinolaringológicos, neoplasias hematológicas, leucemia capilar, cáncer de uretra, cáncer de la piel, tumores de cerebro (gliomas), metástasis de cerebro, cáncer de testículos, tumor de la hipófisis, carcinoides, sarcoma de Kaposi, cáncer de laringe, tumor germinal, cáncer de tejido óseo, carcinoma colorrectal, tumores de cabeza-cuello (tumores en las áreas de cuello, nariz y oídos), carcinoma de colon, craneofaringiomas, cáncer del área de la boca y los labios, cáncer hepático, metástasis hepática, leucemia, tumor del párpado, cáncer de pulmón, cáncer de glándula linfática (Hodgkin/no Hodgkin), linfomas, cáncer de estómago, melanoma maligno, neoplasia maligna, malignomas del tracto gastrointestinal, carcinoma mamario, cáncer rectal, meduloblastomas, melanoma, meningiomas, enfermedad de Hodgkin, micosis fungoides, cáncer de nariz, neurinoma,  
 20 neuroblastoma, cáncer de riñón, carcinoma de células renales, linfomas tipo no Hodgkin, oligodendroglioma, carcinoma del esófago, carcinoma osteoalítico y carcinoma osteoblástico, osteosarcoma, carcinoma de ovario, carcinoma pancreático, cáncer de pene, plasmocitoma, carcinomas de células escamosas de la cabeza y cuello, cáncer de próstata, cáncer faríngeo, carcinoma rectal, retinoblastoma, cáncer vaginal, carcinoma de la tiroides, enfermedad de Schneeberger, cáncer de esófago, espinalioma, linfoma de células T (micosis fungoides), timoma,  
 25 carcinoma de las trompas de Falopio, tumores del ojo, cáncer de uretra, tumores urológicos, carcinoma urotelial, cáncer de la vulva, implicación mastoidea, tumores de tejido blando, sarcoma de tejido blando, tumor de Wilm, carcinoma de cérvix y cáncer de lengua.

En particular se prefieren los tumores sólidos. También se prefieren carcinomas de próstata, tumores de cerebro, sarcomas, carcinomas de cérvix, carcinomas de ovario, carcinomas mamarios, carcinomas bronquiales, melanomas,  
 30 tumores de cabeza-cuello, carcinomas de esófago, carcinomas rectales, carcinomas pancreáticos, carcinomas de vejiga urinaria, carcinomas renales, metástasis en el hígado, el cerebro y en los ganglios linfáticos.

Además, se prefiere especialmente el uso y la aplicación de las nanopartículas de la invención junto con la hipertermia, la radioterapia y/o la quimioterapia convencionales.

Asimismo, se ha descubierto que las partículas magnéticas y, preferentemente, superparamagnéticas de la invención estimulan la actividad de los agentes anticancerosos y, al mismo tiempo, reducen sus efectos secundarios.  
 35

Por lo tanto, las partículas producidas conforme a la invención pueden utilizarse preferentemente junto con agentes anticancerosos y, por tanto, con compuestos citotóxicos y/o citostáticos, es decir, con compuestos químicos que poseen propiedades citotóxicas y/o citostáticas. Son ejemplos de agentes anticancerosos, entre otros, los agentes alquilantes, antibióticos con propiedades citostáticas, antimetabolitos, inhibidores de microtúbulos e inhibidores de la topoisomerasa, compuestos que contienen platino y otros citostáticos tales como asparaginasa, tretinoína, alcaloides, podofilotoxinas, taxanos y Miltefosin®, hormonas, inmunomoduladores, anticuerpos monoclonales, transductores de señales (moléculas de transducción de señales), inhibidores de la quinasa y citoquinas.  
 40

Como ejemplos de agentes de alquilación se pueden mencionar, entre otros, la cloretamina, ciclofosfamida, trofosfamida, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, busulfán, tiotepa, carmustina, lomustina, dacarbazina, procarbazona, temozolomida, treosulfán, estramustina y nimustina.  
 45

Ejemplos de antibióticos con propiedades citostáticas son la daunorrubicina, así como la daunorrubicina liposomal, doxorubicina (adriamicina), dactinomicina, mitomicina C, bleomicina, epirubicina (4-epi-adriamicina), idarrubicina, dactomicina, mitoxantrona, amsacrina y actinomicina D.

Se pueden nombrar metotrexato, 5-fluorouracilo, 6-tioguanina, 6-mercaptopurina, fludarabina, cladribina, pentostatina, gemcitabina, citarabina, azatioprina, raltitrexed, capecitabina, citosinarabinósido, tioguanina y mercaptopurina como ejemplos de antimetabolitos (principios activos antimetabólicos).  
 50

Vincristina, vinblastina, vindesina, etopósido así como tenipósido, entre otros, pertenecen a la clase de los alcaloides y las podofilotoxinas. Asimismo, se pueden utilizar de acuerdo con la invención compuestos que contienen platino. Como compuestos que contienen platino se mencionan, por ejemplo, cisplatino, carboplatino y oxaliplatino. Entre los

inhibidores de microtúbulos se encuentran, por ejemplo, alcaloides tales como los alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina, vindesina, venorelbina) y paclitaxel (Taxol®), así como los derivados del paclitaxel. Como inhibidores de la topoisomerasa se pueden citar, por ejemplo, etopósido, tenipósido, camptotecina, topotecano e irinotecano.

5 El paclitaxel y el docetaxel son ejemplos de la clase de compuestos de los taxanos, y entre lo demás principios activos citostáticos (otros citostáticos) figuran, por ejemplo, hidroxycarbamidas (hidroxiurea), imatinib, Miltefosina®, amsacrina, topotecano (inhibidor de la topoisomerasa I), pentostatina, bexaroteno, tretinoína y asparaginasa. Representantes de la clase de compuestos de los anticuerpos monoclonales son, entre otros, trastuzumab (también conocido como Herceptin®), alemtuzumab (también conocido como MabCampath®) y rituximab (también conocido como MabThera®). Representantes de los inhibidores de la quinasa son sorafenib (Nexavar®) y sunitinib (Sutent®).

10 Son ejemplos de hormonas los glucocorticoides (prednisona), estrógenos (fosfestrol, estramustina), LHRH (buserelina, goserelina, leuprorelina, triptorelina), flutamida, acetato de ciproterona, tamoxifeno, toremifeno, aminoglutetimida, formestano, exemestano, letrozol y anastrozol. Pertenecen a las clases de inmunomoduladores, citoquinas, anticuerpos y transductores de señales interleucina-2, interferón-cc, eritropoyetina, G-CSF, trastuzumab (Herceptin®), rituximab (MabThera®), efitinib (fressa®), ibritumomab (Zevalin®), levamisol así como retinoides.

15 Por lo tanto, la presente invención se refiere también a combinaciones de las partículas obtenidas conforme a la invención con al menos un agente anticanceroso, como por ejemplo actinomicina D, aminoglutetimida, amsacrina, anastrozol, antagonistas de las bases purina y pirimidina, antraciclina, inhibidores de la aromatasas, asparaginasa, antiestrógenos, bexaroteno, bleomicina, buselerina, busulfán, derivados de la camptotecina, capecitabina, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, ciclofosfamida, citarabina (citosinarabinósido),  
 20 citostáticos alquilantes, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, docetaxel, doxorubicina (adriamicina), doxorubicina liposomal, epirubicina, estramustina, etopósido, exemestano, fludarabina, fluorouracilo, antagonistas del ácido fólico, formestano, gemcitabina, glucocorticoides, goselerina, hormonas y antagonistas de hormonas, hicantina, hidroxiurea, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, irinotecano, letrozol, leuprorelina, lomustina, melfalán, mercaptopurina, metotrexato, miltefosina, mitomicina, inhibidores de la mitosis, mitoxantrona, nimustina, oxaliplatino,  
 25 paclitaxel, pentostatina, procarbazona, tamoxifeno, temozolomida, tenipósido, testolactona, tiotepa, tioguanina, inhibidores de la topoisomerasa, topotecano, treosulfán, tretinoína, triptorelina, trofosfamida, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, antibióticos citostáticamente eficaces y composiciones farmacéuticas que contengan las citadas combinaciones.

30 Las citadas sustancias pueden utilizarse no solo en combinación con las partículas de la invención, sino también unidas de forma covalente a las partículas, preferentemente nanopartículas, para poderse infiltrar mejor en las células cancerosas.

Por lo tanto, otro aspecto se centra en las partículas obtenidas conforme al procedimiento de la invención, en que una sustancia terapéuticamente activa se une de forma covalente a la partícula o nanopartícula. Como sustancias terapéuticamente activas se pueden seleccionar principios activos antiproliferativos, antimigratorios, antiangiogénicos, antitrombóticos, antiinflamatorios, antiflogísticos, citostáticos, citotóxicos, anticoagulantes, antibacterianos, antivíricos  
 35 y/o antimicóticos, de los cuales se prefieren los principios activos antiproliferativos, antimigratorios, antiangiogénicos, citostáticos y/o citotóxicos así como ácidos nucleicos, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, glucoproteínas, glucanos o lipoproteínas con propiedades antiproliferativas, antimigratorias, antiangiogénicas, antitrombóticas, antiinflamatorias, antiflogísticas, citostáticas, citotóxicas, anticoagulantes, antibacterianas, antivíricas  
 40 y/o antimicóticas. Asimismo, estas sustancias pueden ser radiosensibilizadores o sensibilizadores o intensificadores de otros métodos convencionales para el tratamiento de cáncer también combinados o pueden contener dichos sensibilizadores.

La unión de las sustancias terapéuticamente activas puede realizarse, por ejemplo, mediante grupos hidroxilo, grupos amino, grupos carbonilo, grupos tiol o grupos carboxilo, en función del grupo funcional que lleve cada principio activo.

45 Los grupos hidroxilo se enlazan preferentemente en forma de grupos éster, acetal o cetal, los grupos tiol, preferentemente en forma de tioéster, tioacetal o tiocetal, los grupos amino, preferentemente en forma de amida y parcialmente también en forma de imina (bases de Schiff), los grupos carboxilo, preferentemente en forma de éster o amida y los grupos carbonilo, preferentemente en forma de cetales. Además, se conoce la funcionalización de la superficie de la nanopartícula de modo que se pueden generar mediante métodos conocidos grupos amino, grupos  
 50 hidroxilo, grupos carboxilo o grupos carbonilo en la superficie de las nanopartículas.

También es posible otro recubrimiento más de los conjugados de nanopartículas y principios activos (p. ej., mediante polímeros), tal y como se describe en la patente WO 98/58673, y puede utilizarse para mejorar las propiedades biológicas de los conjugados de partículas y principios activos. Asimismo, pueden acoplarse otras moléculas que aporten al conjunto propiedades de búsqueda de objetivos (p. ej., anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales,  
 55 anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos recombinantes, anticuerpos biespecíficos, fragmentos de anticuerpo, aptómeros, fragmentos Fab, fragmentos Fc, péptidos, peptidomiméticos,

gápmeros, ribozimas, oligómeros de CpG, enzimas de ADN, ribointerruptores y lípidos). Para ello es preciso que todas las demás modificaciones de la liberación activable de las sustancias terapéuticamente activas no impidan alcanzar el objetivo.

5 Asimismo, es preferible no unir la sustancia o sustancias terapéuticamente activas directamente a la nanopartícula, sino inmovilizarla por medio de una molécula enlazadora. Por lo tanto, como enlazador sirven diversas moléculas de hasta 50 átomos de carbono, siempre que contengan un grupo térmica, fotoquímica o enzimáticamente disociable, un grupo lábil en ácido u otro grupo que se pueda desprender fácilmente. En consecuencia, un enlace en la molécula enlazadora y/o el enlace del enlazador con el principio activo y/o el enlace del enlazador con la superficie de la nanopartícula deben poderse disociar directa o indirectamente a través de la acción del campo magnético alterno. Se produce una disociación indirecta, por ejemplo, cuando el campo magnético alterno excita enzimas tales como las peptidasas, esterasas o hidrolasas en el lugar de destino, por ejemplo, en la célula cancerosa, o incrementa su actividad o expresión y dichas enzimas pueden efectuar la mencionada disociación. Asimismo, puede producirse una disociación indirecta utilizando nanopartículas magnéticas, si estas se calientan por medio del campo magnético alterno y, de esta forma, se disocia una unión térmicamente lábil. También cabe pensar en el incremento del pH en el lugar de destino mediante la acción del campo magnético alterno y la consiguiente disociación de los enlaces lábiles en ácido de la molécula enlazadora.

El grupo amida se debe mencionar como un grupo que se puede disociar enzimáticamente en o sobre la molécula enlazadora. Los grupos que pueden disociarse térmicamente o mediante ácido comprenden, por ejemplo, grupos fosfato, grupos tiofosfato, grupos sulfato, grupos fosfamida, grupos carbamato o grupos imina.

20 Asimismo, la molécula enlazadora puede ser una molécula de ácido nucleico, un polipéptido, un péptido-ácido nucleico, un aptámero, ADN, ARN, una cremallera de leucina, un oligonucleótido, biotina, avidina, estreptavidina, un puente hapteno-anticuerpo o un puente biotina-avidina.

No es necesario que el principio activo esté enlazado covalentemente al enlazador, sino que puede estar enlazado iónicamente o mediante puentes de hidrógeno o puede estar presente en forma intercalada o complejada.

25 Las diversas posibilidades de unión de una sustancia terapéuticamente activa, como agentes anticancerosos, anticuerpos monoclonales, aptámeros, ácidos nucleicos, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, glucoproteínas, glucanos, lipoproteínas o de un principio activo con propiedades antiproliferativas, antimigratorias, antiangiogénicas, antitrombóticas, antiinflamatorias, antiflogísticas, citostáticas, citotóxicas, anticoagulantes, antibacterianas, antivíricas o antimicóticas, a las micropartículas y nanopartículas se describen detalladamente en el documento WO 2006108405 A.

35 Por lo tanto, el procedimiento de la invención puede comprender otro paso L1 más referido a la unión de agentes anticancerosos, anticuerpos monoclonales, aptámeros, ácidos nucleicos, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, glucoproteínas, glucanos, lipoproteínas o de un principio activo con propiedades antiproliferativas, antimigratorias, antiangiogénicas, antitrombóticas, antiinflamatorias, antiflogísticas, citostáticas, citotóxicas, anticoagulantes, antibacterianas, antivíricas o antimicóticas a las partículas obtenidas conforme al paso K1.

40 Asimismo, existe la posibilidad de unir por adsorción el principio activo a la superficie de la nanopartícula y cubrirla con una capa de barrera que impida en gran parte la liberación del principio activo hasta que dicha capa de barrera se altere o, en particular, se descomponga por la acción de un campo magnético alterno de modo que se pueda producir la liberación del principio activo.

#### Descripción de las figuras

Fig. 1: Muestra la distribución de los tamaños de partícula (derivada de las mediciones de microscopía electrónica de transmisión) de las nanopartículas de óxido de hierro de la invención.

45 Fig. 2: Muestra los valores SAR de las nanopartículas de óxido de hierro de la invención en agua en comparación con los valores SAR de las nanopartículas de óxido de hierro convencionales, obtenidos por precipitación conforme a la patente DE 196 14 136 A1. Los valores SAR se refieren a un campo magnético alterno con una frecuencia de 100 kHz.

Fig.3: Muestra la representación esquemática de las nanopartículas que contienen hierro de la invención con el núcleo y la envoltura.

50 Instrucciones generales de síntesis para la producción de las partículas de la invención

## ES 2 628 704 T3

Paso A1)

Para producir núcleos de partícula en un disolvente orgánico DV1 con un punto de ebullición de entre 200 °C y 400 °C aproximadamente se introduce en un matraz de vidrio 0,02 mol de un compuesto que contiene A y 100 ml de disolvente DV1.

5 Paso A2)

Opcionalmente, puede añadirse también uno de los aditivos aquí descritos, en una cantidad de entre 0,008 y 0,05 mol.

Paso B1)

La solución se calienta durante al menos 10 minutos, preferentemente 1 hora, hasta una temperatura de entre 50 °C y 350 °C, la cual está aproximadamente 50 °C por debajo de la posterior temperatura de reacción.

10 Paso B2)

Opcionalmente puede añadirse ahora otro aditivo, así como otro compuesto que contiene hierro B.

Paso C1)

15 La mezcla obtenida se calienta en un matraz de tres bocas con refrigeración de reflujo bajo una corriente de gas protector hasta la temperatura de ebullición del disolvente correspondiente DV1 o DV2, la cual es al menos 50 °C superior a la temperatura de la fase de calentamiento del paso B1 y se mantiene esta temperatura durante 1 hora aproximadamente.

Paso C2)

Las nanopartículas de óxido de hierro obtenidas ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso D1)

20 A continuación se lleva a cabo la purificación de las partículas por medio de centrifugación, lavado y, preferentemente, por medio de extracción Soxhlet.

Paso D1\*)

Opcionalmente, puede llevarse a cabo al menos una fase de temple de las nanopartículas de óxido de hierro.

Paso D2)

25 Si todavía no ha ocurrido, las nanopartículas de óxido de hierro ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso D2\*)

Opcionalmente, puede llevarse a cabo al menos una fase de temple de las nanopartículas de óxido de hierro.

Paso E1)

30 Para la dispersión o suspensión de las partículas purificadas, se incorporan en agua con pH neutro o en una solución acuosa ácida que preferentemente contenga un ácido mineral. La concentración de ácido es de entre 0,002 y 0,1M. Para favorecer la dispersión o suspensión puede efectuarse un tratamiento con ultrasonidos.

Paso E2)

Si todavía no ha ocurrido, las nanopartículas de óxido de hierro ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso F1)

35 A continuación, se añade un compuesto tensioactivo en una cantidad de entre 3 y 8 mmol.

Paso F2)

Si todavía no ha ocurrido, las nanopartículas de óxido de hierro ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso G1)

5 A continuación, de forma opcional se agita preferentemente entre 1 y 2 horas a una temperatura de entre 50 °C y 90 °C. A esto le sigue el tratamiento de ultrasonidos entre 1 y 3 horas.

Paso G2)

Si todavía no ha ocurrido, las nanopartículas de óxido de hierro ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso H1)

10 A continuación se realiza la purificación de las partículas obtenidas mediante centrifugación, lavado, extracción y/o diálisis, en función del método o combinación de métodos que sea más adecuado.

Paso H2)

Si todavía no ha ocurrido, las nanopartículas de óxido de hierro ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso I1)

15 Las partículas obtenidas se introducen en una mezcla de agua y alcohol (1:1 hasta 5:1), que opcionalmente contiene una amina y, preferiblemente, amoníaco en pequeñas concentraciones.

Paso I2)

Si todavía no ha ocurrido, las nanopartículas de óxido de hierro ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso J1)

A continuación se añade un alcoxisilano en una cantidad de entre 0,04 y 0,08 mol.

20 Paso J2)

Si todavía no ha ocurrido, las nanopartículas de óxido de hierro ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso K1)

A continuación se realiza la purificación de las partículas obtenidas mediante centrifugación, diálisis, lavado y/o redispersión, en función del método o combinación de métodos que sea más adecuado.

25 Paso K2)

Si todavía no ha ocurrido, las nanopartículas de óxido de hierro ahora pueden oxidarse opcionalmente.

Paso L1)

Opcionalmente puede producirse la unión de principios activos a las nanopartículas de óxido de hierro.

### Ejemplos

30 **Ejemplo 1:**

Para producir núcleos de partícula en éter dibutílico de dietilenglicol se disolvió en un matraz de vidrio 0,3 g de pentacarbonilo de hierro en 50 ml de éter dibutílico de dietilenglicol. Se añadió a la solución 1,7 g de ácido oleico. La solución se calentó durante una hora hasta 150 °C.

**Ejemplo 2:**

Para la producción de núcleos de partícula en poliglicol DME 500 (fabricado por Clariant) se disolvió en un matraz de vidrio 8 g de oleato de hierro (III) en 50 ml de poliglicol DME 500. Se añadió a la solución 1,5 g de ácido oleico. La solución se calentó durante 30 minutos hasta 120 °C.

#### **Ejemplo 3A:**

- 5 Para producir nanopartículas de óxido de hierro se calentaron las soluciones de los ejemplos 1 y 2 en un matraz de tres bocas con refrigeración de reflujo bajo una corriente de gas protector (argón) hasta alcanzar la temperatura de ebullición del disolvente correspondiente y se mantuvieron a esa temperatura durante 1 hora. Con esto la solución de volvió negra. Tras la refrigeración las partículas se oxidaron durante la noche mediante una corriente de oxígeno atmosférico.

#### **10 Ejemplo 3B:**

Para producir nanopartículas de óxido de hierro se calentaron las soluciones de los ejemplos 1 y 2 en un matraz de tres bocas con refrigeración de reflujo bajo una corriente de gas protector (argón) hasta alcanzar la temperatura de ebullición del disolvente correspondiente y se mantuvieron a esa temperatura durante 1 hora. Con esto la solución de volvió negra.

#### **15 Ejemplo 4:**

- Las partículas del ejemplo 3 se centrifugaron a valores g elevados y se lavaron con etanol. Se pesaron 500 mg del producto lavado en un cartucho de extracción (603 g empresa Whatman) y se introdujeron en un aparato Soxhlet. El matraz de destilación del aparato Soxhlet se llenó con 200 ml de etanol como medio de extracción. El medio de extracción se calentó hasta ebullición. La extracción continua se llevó a cabo durante 8 h e incluye aproximadamente 20 16 ciclos de extracción. Con esto la solución de etanol se volvió amarillenta. Al terminar la extracción se retiró el cartucho de extracción y el polvo se transfirió a un recipiente Schlenk y se secó al vacío durante 1 h.

#### **Ejemplo 5:**

- 25 Para dispersar las partículas después de la extracción se suspendieron 0,5 g del polvo de nanopartículas del ejemplo 4 en 20 ml de HCl 0,01 M. Entonces, las nanopartículas se trataron con ultrasonidos durante 30 minutos. A continuación, se añadieron 0,5 g de oleato de sodio sólido.

Paso G1:

- Acto seguido, se agitó durante 1,5 horas a 70 °C y luego se trató 2 horas con ultrasonidos bajo agitación. Tras una dispersión con éxito, se centrifugó la dispersión a un número g bajo para separar las partículas no dispersadas. A continuación, se lavó la dispersión restante para retirar el oleato de sodio sobrante. Esto se llevó a cabo mediante 30 centrifugación con número g elevado y mediante lavado con éter dietílico y redispersión en agua. Alternativamente, se puede realizar una extracción con éter dietílico o una diálisis. Para conseguir una redispersión total se trató la dispersión con ultrasonidos.

#### **Ejemplo 6:**

- 35 A 120 ml de una mezcla de agua y etanol (3:1) y con un 1,5 % en peso de amoniaco se añadieron 3,3 ml de una dispersión de partículas conforme al ejemplo 5 (0,97 mol/l Fe) y 2,14 ml de tetraetoxisilano. La dispersión se agitó durante la adición y a continuación se trató con ultrasonidos durante 6 horas. La dispersión se purificó mediante centrifugación y volviendo a dispersar en agua.

#### **Ejemplo 7 (fase de temple):**

- 40 Las partículas obtenidas en el ejemplo 4 se suspendieron en 200 ml de éter dibutílico de dietilenglicol. A continuación se gasificaron con aire durante 12 horas a 80 °C y luego se hirvieron a reflujo durante 8 horas (p.ej. aprox. 256 °C). Posteriormente, la suspensión se refrigeró lentamente (a lo largo de 8 horas) hasta temperatura ambiente. Este proceso se repitió 2 veces.

- 45 Las partículas (templadas) así obtenidas se lavaron y suspendieron en 20 ml de HNO<sub>3</sub> 1M. Entonces, se añadieron 0,3 mmol de nitrato de hierro [Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9 H<sub>2</sub>O] y se hirvió a reflujo durante una hora (100 °C). Las partículas se lavaron 3 veces con 100 ml de agua cada vez.

Estas partículas se recubrieron entonces de forma análoga a la de los ejemplos 4 a 6.

**Ejemplo 8A (con oxidación / sin gasificación con aire):**

5 Para la preparación de nanopartículas de óxido de hierro en etilenglicol se disolvieron 0,1 mol de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y 0,2 mol de  $\text{FeCl}_3$  (anhidro), 50 g de acetato de sodio y 195 g de diaminohexano en 900 ml de etilenglicol y se calentaron hasta 60 °C durante 1 hora. Entonces, la solución se calentó hasta el punto de ebullición en el transcurso de 30 minutos. La temperatura de ebullición se mantuvo durante 6 horas. La dispersión resultante se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente.

Las partículas se lavaron 3 veces con una mezcla de etanol y agua. Después de esto, las partículas se volvieron a suspender en 900 ml de etilenglicol. La suspensión se calentó hasta el punto de ebullición del etilenglicol y se mantuvo a esta temperatura durante 24 horas.

10 Después de enfriar, las partículas se lavaron con agua/etanol y se suspendieron en 900 ml de  $\text{HNO}_3$  1M. Entonces, se añadieron 450 ml de una solución de nitrato de hierro [ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ ] 0,7M y se hirvió a reflujo durante una hora (100 °C). Las partículas se lavaron 3 veces con 500 ml de agua cada vez.

Estas partículas se recubrieron de forma análoga a la de los ejemplos 4 a 6.

**Ejemplo 8B (sin oxidación / con gasificación de aire):**

15 Para la preparación de nanopartículas de óxido de hierro en etilenglicol se disolvieron 0,1 mol de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y 0,2 mol de  $\text{FeCl}_3$  (anhidro), 50 g de acetato de sodio y 195 g de diaminohexano en 900 ml de etilenglicol y se calentaron hasta alcanzar una temperatura de 60 °C durante 1 hora. Entonces, la solución se calentó hasta el punto de ebullición en el transcurso de 30 minutos. La temperatura de ebullición se mantuvo durante 6 horas. La dispersión resultante se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente.

20 Las partículas se lavaron 3 veces con una mezcla de etanol y agua. Después de esto, las partículas se volvieron a suspender en 900 ml de etilenglicol y se gasificaron con oxígeno atmosférico. La suspensión se calentó hasta el punto de ebullición del etilenglicol y se mantuvo a esta temperatura durante 24 horas.

Después de enfriarse, las partículas se lavaron con agua/etanol y se suspendieron en agua.

Estas partículas se recubrieron de forma análoga a la de los ejemplos 4 a 6.

**25 Ejemplo 8C (con oxidación / con gasificación de aire):**

30 Para la preparación de nanopartículas de óxido de hierro en etilenglicol se disolvieron 0,1 mol de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y 0,2 mol de  $\text{FeCl}_3$  (anhidro), 50 g de acetato de sodio y 195 g de diaminohexano en 900 ml de etilenglicol y se calentaron hasta alcanzar una temperatura de 60 °C durante 1 hora. Entonces, la solución se calentó hasta el punto de ebullición en el transcurso de 30 minutos. La temperatura de ebullición se mantuvo durante 6 horas. La dispersión resultante se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente.

Las partículas se lavaron 3 veces con una mezcla de etanol y agua. Después de esto, las partículas se volvieron a suspender en 900 ml de etilenglicol y se gasificaron con oxígeno atmosférico. La suspensión se calentó hasta el punto de ebullición del etilenglicol y se mantuvo a esta temperatura durante 24 horas.

35 Después de enfriar, las partículas se lavaron con agua/etanol y se suspendieron en 900 ml de  $\text{HNO}_3$  1M. Entonces, se añadieron 450 ml de una solución de nitrato de hierro [ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ ] 0,7M y se hirvió a reflujo durante una hora (100 °C). Las partículas se lavaron 3 veces con 500 ml de agua cada vez.

Estas partículas se recubrieron entonces de forma análoga a la de los ejemplos 4 a 6.

**Ejemplo 8D (sin oxidación / sin gasificación de aire):**

40 Para la preparación de nanopartículas de óxido de hierro en etilenglicol se disolvieron 0,1 mol de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y 0,2 mol de  $\text{FeCl}_3$  (anhidro), 50 g de acetato de sodio y 195 g de diaminohexano en 900 ml de etilenglicol y se calentaron hasta alcanzar una temperatura de 60 °C durante 1 hora. Entonces, la solución se calentó hasta el punto de ebullición en el transcurso de 30 minutos. La temperatura de ebullición se mantuvo durante 6 horas. La dispersión resultante se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente.

45 Las partículas se lavaron 3 veces con una mezcla de etanol y agua. Después de esto, las partículas se volvieron a suspender en 900 ml de etilenglicol. La suspensión se calentó hasta el punto de ebullición del etilenglicol y se mantuvo a esta temperatura durante 24 horas.

Después de enfriarse, las partículas se lavaron con agua/etanol y se suspendieron en agua.

Estas partículas se recubrieron de forma análoga a la de los ejemplos 4 a 6.

### **Ejemplo 9**

- 5 Para la preparación de nanopartículas de óxido de hierro se añadió una solución de 96 g de hidróxido de sodio y 680 ml de ácido oleico en 2000 ml de metanol a una solución de 216 g de cloruro de hierro (III) hexahidratado en 500 ml de metanol. El sólido resultante se lavó con metanol y se disolvió en éter dietílico. Entonces, se extrajo con agua varias veces. El sólido se precipitó con acetona, se lavó y se secó al vacío.

Se disolvieron 75 g de este sólido en 250 ml de trioctilamina y se calentó hasta alcanzar una temperatura de 120 °C durante 1 hora.

- 10 Entonces, la solución se calentó en un autoclave hasta alcanzar una temperatura de 380 °C en el transcurso de 30 minutos. Esta temperatura se mantuvo durante 4 horas. La dispersión resultante se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente.

Las partículas se lavaron 3 veces con una mezcla de etanol y agua.

- 15 Después de esto, las partículas se suspendieron en 300 ml de éter dibutílico de etilenglicol y se gasificaron con oxígeno atmosférico. La suspensión se calentó en un autoclave hasta alcanzar una temperatura de 300 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 24 horas.

Estas partículas se oxidaron como en el ejemplo 8C y posteriormente se recubrieron de forma análoga a las de los ejemplos 4 a 6.

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para la producción de partículas en el que las partículas presentan un valor SAR (tasa de absorción específica) de entre 10 y 40 W por cada g de Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m y una frecuencia del campo magnético alterno de 100 kHz que comprende los siguientes pasos:

5 A1) preparación de una composición de al menos un compuesto que contiene hierro A en al menos un disolvente orgánico DV1,

B1) calentamiento de la composición durante al menos 10 minutos hasta alcanzar una temperatura en el intervalo desde 50 °C hasta una temperatura 50 °C por debajo de la temperatura de reacción real conforme al paso C1 del compuesto que contiene hierro A,

10 C1) calentamiento de la composición hasta alcanzar una temperatura entre 200 °C y 400 °C, siendo la duración de la fase de calentamiento al menos de 30 minutos,

D1) purificación de las partículas obtenidas mediante una extracción con Soxhlet durante un período de entre 1 y 8 horas,

E1) suspensión de las nanopartículas purificadas en agua o en una solución acuosa de un ácido,

15 F1) adición de un compuesto tensioactivo a la suspensión acuosa obtenida conforme al paso E1,

H1) purificación de la dispersión acuosa obtenida de las partículas,

I1) producción de una dispersión de las partículas conforme al paso H1 en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente miscible en agua,

20 J1) adición de un alcoxisilano a la dispersión de las partículas en la mezcla de disolventes obtenida conforme al paso I1,

K1) purificación de las partículas.

2. Procedimiento conforme a la reivindicación 1 que, además, a continuación del paso A1 comprende el siguiente paso A2:

A2) adición de un aditivo seleccionado de entre el grupo que comprende:

25 surfactantes, silanos, compuestos orgánicos de silicio o aluminio, fosfinas, ácidos grasos saturados o insaturados, aminas, diaminas, ácidos carboxílicos y sus sales, ácidos grasos saturados e insaturados, polímeros.

3. Procedimiento conforme a las reivindicaciones 1 o 2 que, además, a continuación del paso B1 comprende el siguiente paso B2:

B2) adición de un aditivo seleccionado de entre el grupo que comprende:

30 surfactantes, silanos, compuestos orgánicos de silicio o aluminio, fosfinas, ácidos grasos saturados o insaturados, aminas, diaminas, ácidos carboxílicos y sus sales, ácidos grasos saturados e insaturados, polímeros o

B2) adición de una composición de al menos un compuesto que contiene hierro B en al menos un disolvente orgánico DV2 o

35 B2) adición de una composición de al menos un compuesto que contiene hierro B en al menos un disolvente orgánico DV2 y adición de un aditivo seleccionado de entre el grupo que comprende:

surfactantes, silanos, compuestos orgánicos de silicio o aluminio, fosfinas, ácidos grasos saturados o insaturados, aminas, diaminas, ácidos carboxílicos y sus sales, ácidos grasos saturados e insaturados, polímeros.

40 4. Procedimiento conforme a la reivindicación 3 en el que el compuesto o compuestos que contienen hierro B se seleccionan de entre el grupo que comprende complejos de hierro, compuestos de carbonilo de hierro, sales de hierro de ácidos grasos saturados o insaturados y complejos sándwich de hierro.

5. Procedimiento conforme a la reivindicación 3 en el que el disolvente o disolventes DV2 se seleccionan de entre un grupo que comprende aminas, alcanos, olefinas, alcoholes o éteres de punto de ebullición elevado; monoéter de alquilenglicol, diéter de alquilenglicol, monoéter de etilenglicol, diéter de etilenglicol, monoéter de propilenglicol, diéter de propilenglicol, monoéter de glicerina, diéter de glicerina, triéter de glicerina y diéter de glicol (glymes).
- 5 6. Procedimiento conforme a la reivindicación 3 en el que el compuesto o compuestos que contienen hierro B son idénticos al compuesto o compuestos que contienen hierro A y/o el disolvente o disolventes orgánicos DV1 son idénticos al disolvente o disolventes orgánicos DV2.
7. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores que, además, a continuación del paso C1 o D1 o E1 o F1 o G1 o H1 o I1 o J1 o K1 comprende el siguiente paso X2:
- 10 X2) oxidación de las partículas formadas.
8. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores que, además, a continuación del paso F1 comprende el siguiente paso G1:
- G1) tratamiento de la suspensión acuosa del paso F1 con ultrasonidos.
9. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores que, además, a continuación del paso D1 comprende el siguiente paso de temple D1\* o a continuación del paso D2 comprende el siguiente paso de temple D2\*:
- 15 D1\*) temple de las partículas obtenidas o
- D2\*) temple de las partículas obtenidas.
10. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores en el que el compuesto o compuestos que contienen hierro A se seleccionan de entre el grupo que comprende complejos de hierro, compuestos de carbonilo de hierro, sales de hierro, compuestos de hierro orgánicos, sales de hierro de ácidos grasos saturados o insaturados y complejos sándwich de hierro.
- 20 11. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores en el que el disolvente o disolventes DV1 se seleccionan de entre un grupo que comprende aminas, alcanos, olefinas, alcoholes, éteres de punto de ebullición elevado, monoéter de alquilenglicol, diéter de alquilenglicol, monoéter de etilenglicol, diéter de etilenglicol, monoéter de propilenglicol, diéter de propilenglicol, monoéter de glicerina, diéter de glicerina, triéter de glicerina, diéter de glicol (glymes).
- 25 12. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores en el que en el paso de purificación conforme al paso D1 se elimina en su mayor parte el aditivo posiblemente existente.
13. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores en el que el compuesto tensioactivo conforme al paso F1 se selecciona de entre el grupo que comprende: ácidos grasos, sales de ácidos grasos, surfactantes, polímeros, alcohol de polivinilo, polietilenglicol, ácido poliacrílico, dextrano, PLGA, quitosano y polietilenimina.
- 30 14. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores que, además, comprende el paso L1:
- L1) unión de agentes anticancerosos, anticuerpos monoclonales, aptámeros, ácidos nucleicos, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, glucoproteínas, glucanos o lipoproteínas de un principio activo con propiedades antiproliferativas, antimigratorias, antiangiogénicas, antitrombóticas, antiinflamatorias, antiflogísticas, citostáticas, citotóxicas, anticoagulantes, antibacterianas, antivíricas y/o antimicóticas a las partículas obtenidas conforme al paso K1.
- 35 15. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores en el que la temperatura alcanzada en el paso B1 se mantiene preferentemente durante al menos 30 minutos y, en particular, durante 40 minutos.
- 40 16. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores en el que la fase de calentamiento del paso C1 dura preferentemente de 1 a 30 horas, más preferentemente de 10 a 20 horas y, en particular, 15 horas.
17. Procedimiento conforme a alguna de las reivindicaciones anteriores en el que la dispersión del paso J1 se trata con ultrasonidos entre 1 y 8 horas, preferentemente entre 3 y 5 horas y, en particular, durante 4 horas.

18. Partículas que contienen hierro que presentan un valor SAR (tasa de absorción específica) de entre 10 y 40 W por g de Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m y una frecuencia del campo magnético alterno de 100 kHz y que presentan una envoltura que contiene silicio.
- 5 19. Partículas que contienen hierro conforme a la reivindicación 18 en las que la envoltura que contiene silicio presenta un espesor de entre 0,5 y 10 nm, preferentemente entre 1 y 6 nm, aún más preferentemente entre 2 y 4 nm y, en particular, de 3 nm.
20. Partículas que contienen hierro conforme a las reivindicaciones 18 o 19 que presentan propiedades ferromagnéticas, ferrimagnéticas o superparamagnéticas.
- 10 21. Partículas que contienen hierro conforme a alguna de las reivindicaciones de la 18 a la 20 que presentan un valor SAR de entre 20 y 40 W por g de Fe, preferentemente entre 25 y 40 W por g de Fe y, en particular, entre 30 y 40 W por g de Fe para una intensidad del campo magnético de 4 kA/m y una frecuencia del campo magnético alterno de 100 kHz.
22. Partículas que contienen hierro conforme a alguna de las reivindicaciones de la 18 a la 21 que presentan un diámetro inferior a 500 nm, preferentemente entre 1 y 100 nm y, en particular, entre 15 y 30 nm.
- 15 23. Partículas que contienen hierro conforme a alguna de las reivindicaciones de la 18 a la 22 en las que la envoltura que contiene silicio se funcionaliza mediante alcoxisilanos.
24. Partículas que contienen hierro conforme a la reivindicación 23 en las que los alcoxisilanos son preferentemente trialcoxisilanos que
- 20 i) llevan un grupo funcional unido mediante un enlace Si-C, preferentemente (3-acriloxipropil)trimetoxisilano, trietoxisililbutiraldehído, 3-aminopropiltriethoxisilano o 3-isocianatopropiltriethoxisilano, o
- ii) llevan una cadena lateral de polietilenglicol de distinta longitud unida por enlaces Si-C, preferentemente 2-[metoxi(polietileno)propil]trimetoxisilano.
- 25 25. Composición farmacéutica que contiene partículas que contienen hierro conforme a alguna de las reivindicaciones de la 18 a la 24.

Fig. 1

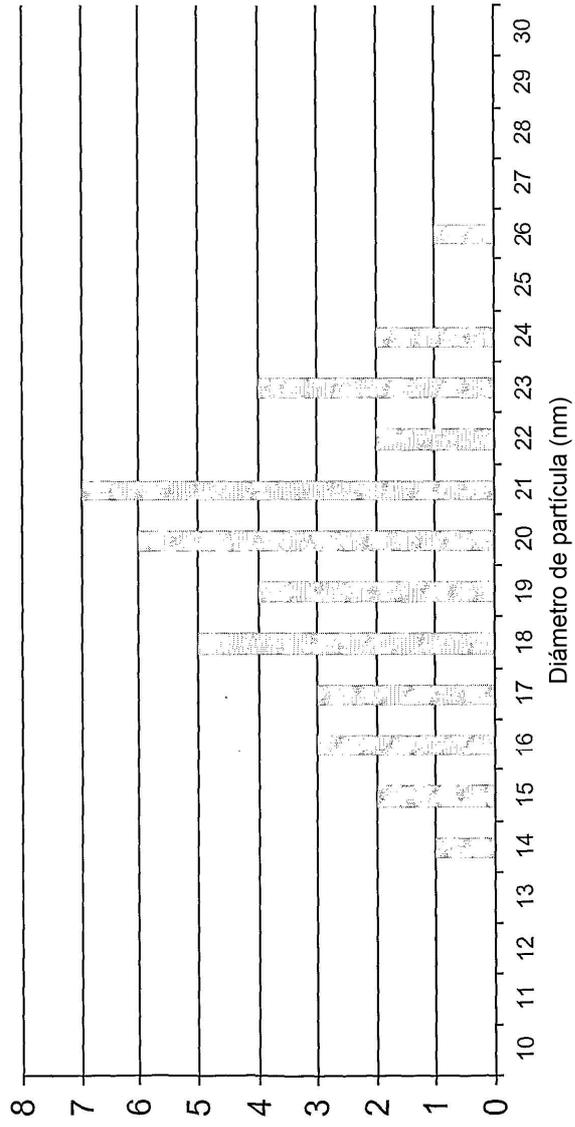


Fig. 2

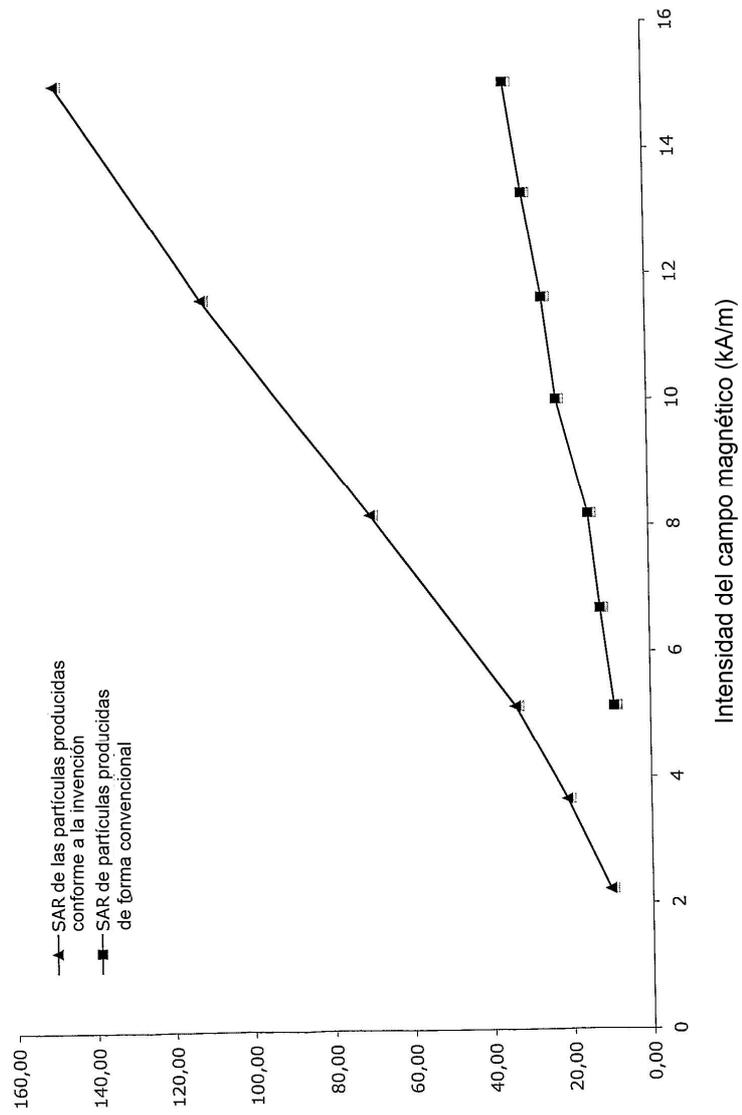


Fig.3

