

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 928 080**

51 Int. Cl.:

C01G 25/02 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01)
A61K 8/02 (2006.01)
A61K 8/28 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.01.2016 PCT/IB2016/050394**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.08.2016 WO16120795**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.01.2016 E 16709574 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.07.2022 EP 3250511**

54 Título: **Nanopartículas de zirconia totalmente mesoporosas, uso y método de producción de las mismas**

30 Prioridad:

28.01.2015 IT PD20150015

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.11.2022

73 Titular/es:

**BRENTA S.R.L. (100.0%)
Viale Milano, 26
36075 Montecchio Maggiore, IT**

72 Inventor/es:

**SPONCHIA, GABRIELE;
BENEDETTI, ALVISE y
RIELLO, PIETRO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 928 080 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

Nanopartículas de zirconia totalmente mesoporosas, uso y método de producción de las mismas

Campo técnico

5 El alcance de la presente invención se refiere a nanopartículas hechas de óxido de zirconio (ZrO_2), un compuesto comúnmente conocido como 'zirconia'. Más específicamente, la invención describe y reivindica conceptos inventivos relevantes para las nuevas nanopartículas de ZrO_2 caracterizadas por una estructura amorfa y mesoporosa. En particular, el alcance de la presente invención abarca un método de fabricación que permite producir nanopartículas de zirconia de alta pureza y de forma sustancialmente esférica, caracterizadas por una estructura totalmente mesoporosa, es decir, una distribución de poros dentro del llamado intervalo mesoporoso, distribuidos uniformemente
10 en todo el volumen de las nanopartículas.

Antecedentes de la técnica

15 En las últimas décadas, las nanopartículas mesoporosas han sido un tema de intensa investigación debido a las múltiples aplicaciones potenciales que se pueden desarrollar aprovechando su alta área superficial. En realidad, estas nanopartículas presentan tamaños de poro entre 2 y 50 nm (y por eso se denominan 'mesoporosas' según la nomenclatura de la IUPAC), una característica ideal en todas aquellas aplicaciones en las que es esencial una alta interacción superficial, por ejemplo en aplicaciones biomédicas (por ejemplo, administración de fármacos o formación de imágenes), en catálisis y filtración (p. ej., secuestro de iones de metales pesados), en dispositivos sensores (p. ej., sensores de gas) o en cosmética, solo por nombrar algunos campos de aplicación. De hecho, la presencia de poros en el intervalo mesoporoso permite que las nanopartículas se carguen con moléculas orgánicas tales como enzimas,
20 sustancias activas o fases nanométricas inorgánicas que tienen propiedades catalíticas, magnéticas u ópticas. Normalmente, la mesoporosidad de la nanopartícula está íntimamente asociada con una estructura amorfa porque una estructura cristalina generalmente conduce al cierre de los poros.

25 La intensa investigación de los últimos años se ha dedicado sustancialmente a lograr un control cada vez mejor de las partículas a nivel micro y nano y, en particular, de sus propiedades físico-químicas y electrónicas. Este objetivo representa el punto de partida para desarrollar nuevos materiales con funciones altamente selectivas, o nuevos materiales multifuncionales, que sean capaces de cumplir con los requisitos de diferentes aplicaciones, p. ej., en nanomedicina. Esta búsqueda, a su vez, fomenta la investigación de óxidos que pueden sintetizarse en forma de nanopartículas mesoporosas.

30 Entre los óxidos, la sílice se ha utilizado principalmente hasta ahora porque la síntesis de nanopartículas de sílice mesoporosas estables (o MSN) es relativamente fácil de lograr: un proceso para sintetizar MSN basado en la técnica sol-gel se desarrolló por primera vez en Japón en 1990 y posteriormente en los laboratorios de Mobil Corp. en EE.UU.

35 Otras composiciones de óxidos metálicos de nanopartículas mesoporosas se han descrito ampliamente tanto en la literatura científica como en la de patentes, tales como óxido de titanio, óxido de itrio, óxido de bario y varios óxidos mixtos. Por ejemplo, Fu y Watson en el documento US20130122298 describen un proceso para sintetizar un óxido de titanio en forma de nanopartículas esféricas mesoporosas con un diámetro entre 20-100 nm. En la solicitud de patente US20140170088A1 se da a conocer un proceso de síntesis de nanopartículas de óxido de bario y zirconio $BaZrO_3/BaCO_3$ útil en la formulación de revestimientos para aplicaciones biomédicas. Sin embargo, tales métodos no son útiles para producir nanopartículas de zirconia. A menudo, las nanopartículas de óxidos metálicos ya conocidas en el estado de la técnica tienen una baja razón superficie/volumen, o una baja carga eléctrica superficial, u otras características que las hacen no adecuadas en muchas aplicaciones, especialmente en el campo biomédico. Esto
40 representa un inconveniente importante que incentiva la búsqueda de nuevas composiciones y, en consecuencia, de procesos de síntesis. Sin embargo, dejando de lado la sílice, definitivamente no es una tarea sencilla la síntesis de nanopartículas mesoporosas bien separadas de óxidos metálicos con una forma y tamaño controlados. El principal reto a superar es el control de la reactividad de determinados intermedios o precursores de los óxidos metálicos
45 utilizados en el proceso.

50 En el presente caso, las propiedades de las nanopartículas de óxido de zirconio (o zirconia) se han descrito ampliamente tanto en artículos científicos como en patentes. Sin embargo, las nanopartículas conocidas en el estado de la técnica tienen una estructura cristalina que las hace no óptimas en aquellas aplicaciones donde las altas áreas superficiales específicas representan un factor crucial, como en la liberación de fármacos, en catálisis o en el tratamiento de aguas.

Los más relevantes para evaluar la novedad y la actividad inventiva de la presente invención son los siguientes tres documentos del estado de la técnica.

55 El primer artículo de Chen et al. '*Facile Synthesis of Monodisperse Mesoporous Zirconium Titanium Oxide Microspheres with Varying Compositions and High Surface Areas for Heavy Metals Ion Sequestration*' (DOI: 10.1002/adfm.201102878) describe microsferas mesoporosas de óxidos binarios de zirconia-titania (ZrO_2-TiO_2) con diferente contenidos de TiO_2 preparadas por el método sol-gel. Notablemente, el proceso propuesto por Chen et al. permite también sintetizar microsferas de zirconia pura. Sin embargo, tales partículas presentan una estructura

5 cristalina (mientras que las microesferas de óxidos binarios de zirconia-titania son amorfas) y se caracterizan por un área superficial limitada. Además, dichas microesferas de zirconia pura son grupos de entidades distintas agregadas de aproximadamente 3,5 nm de tamaño. Finalmente, en el artículo de Chen et al., la etapa de purificación de microesferas incluye la calcinación a alta temperatura (es decir, alrededor de 600°C), lo que degrada la estructura mesoporosa.

Aunque este documento describe un logro notable en el campo, debido a estos inconvenientes, no contiene enseñanzas útiles para los expertos en la materia para sintetizar nanopartículas mesoporosas compuestas de óxido de zirconio puro que tienen la fórmula ZrO_2 .

10 El segundo artículo relevante es '*Hollow Mesoporous Zirconia Nanocapsules for Drug Delivery*' de Shaoheng Tang et al. (en Adv. Funct. Mater. 2010, 20, 2442-2447), y se refiere a la síntesis de una clase muy especial de nanopartículas llamadas nanocápsulas de zirconia mesoporosas huecas y su uso como transportador de fármacos. Estas nanopartículas tienen una microestructura constituida por una cavidad esférica (mayor de 100 nm) delimitada por una cubierta mesoporosa de zirconia con un espesor de unos pocos nanómetros (aproximadamente 15 nm). Por este motivo, los autores las denominan 'nanocápsulas huecas'. En la nanocápsula hueca descrita por Shaoheng Tang et al. la mesoporosidad está obviamente limitada a la capa delgada de zirconia, ya que la cavidad interna excede el límite superior según la definición de mesoporosidad de la IUPAC (50 nm).

15 Es evidente que las nanocápsulas huecas presentan una estructura totalmente diferente a las partículas que tienen una estructura mesoporosa que se extiende por todo el volumen de la partícula (y no solo por la cubierta). Tales partículas se denominan nanopartículas 'totalmente porosas' o 'totalmente mesoporosas'. En aras de la claridad, la presente invención se refiere a "partículas totalmente porosas" y, más específicamente, a "nanopartículas totalmente porosas".

20 En el trabajo de Shaoheng Tang et al. la fabricación de nanocápsulas se basa en un proceso que utiliza esferas de sílice Stöber revestidas con una capa de zirconia mesoporosa. Después de un tratamiento térmico, necesario para consolidar la capa de zirconia, se elimina el núcleo de sílice de sacrificio mediante un tratamiento en disolución de NaOH para crear las cápsulas. Es evidente que tal método no puede utilizarse para preparar nanoesferas totalmente porosas o, más generalmente, partículas sin una gran cavidad interna. De hecho, la forma esférica de las nanocápsulas huecas se debe a la forma de la plantilla de sacrificio de sílice esférica.

25 Notablemente, los autores comentan que el espectro de rayos X de dispersión de energía (EDX) de las nanocápsulas huecas preparadas muestra que queda una pequeña cantidad de sílice en la cubierta de zirconia porosa. La presencia de sílice residual tiene un impacto significativo sobre el punto isoeléctrico de las nanocápsulas, y debe evitarse.

30 La peculiar estructura de las nanocápsulas de zirconia mesoporosas huecas las hace adecuadas como transportadores de fármacos porque la cavidad esférica puede albergar una gran cantidad de fármaco. Sin embargo, la capacidad y la eficiencia de carga del fármaco dependen estrechamente de la compatibilidad entre las moléculas cargadas y el transportador de partículas, y las características de las moléculas, tales como la polaridad, la hidrofobicidad y la distribución de carga superficial, así como la distribución de carga del transportador, a menudo afectan la compatibilidad. Por ello, el mecanismo de carga en nanocápsulas mesoporosas huecas de zirconia y en nanopartículas totalmente mesoporosas es completamente diferente: en el primer caso, el fármaco se aloja en la cavidad central, mientras que, en el segundo, el fármaco se carga en el interior de los poros donde hay una fuerte interacción con la superficie interna de los poros. Obviamente, el mecanismo de carga afecta también al mecanismo de liberación del fármaco.

35 Finalmente, el tercer documento pertinente es la patente de EE. UU. 2010/051877, "*Superficially porous metal oxide particles, methods for making them, and separation devices using them*" a nombre de Ta-Chen Wei et al. En este caso, los autores describen partículas superficialmente porosas compuestas de óxido metálico (es decir, sílice, alúmina, titania o zirconia) y la preparación de las mismas. Tales partículas superficialmente porosas comprenden: un núcleo sólido que tiene un tamaño que varía de aproximadamente 20% a aproximadamente 90% del tamaño de toda la partícula; una capa exterior sustancialmente porosa que tiene poros ordenados. Curiosamente, los autores destacan la diferencia entre "partículas totalmente porosas" y "partículas superficialmente porosas" y concluyen que estas últimas son más adecuadas para aplicaciones de cromatografía.

40 Por lo tanto, está claramente fuera del alcance de la invención preparar partículas de óxido metálico "totalmente mesoporosas" ya que el propósito de los inventores es revelar una nueva estructura de núcleo-cubierta, en donde solo la cubierta es porosa, adecuada para aplicaciones de cromatografía. Además, los inventores reivindican, pero no proporcionan, ningún ejemplo de partículas superficialmente porosas hechas de zirconia. Por las razones antes mencionadas, será evidente para los expertos en la materia que, de manera similar al trabajo de Shaoheng Tang et al., la patente US2010/051877 no describe ninguna enseñanza útil para preparar partículas y nanopartículas de zirconia "totalmente mesoporosas".

45 En el Ejemplo 1 del documento WO97/43040 se describe un método para preparar un dióxido de zirconio mesoporoso que comprende las siguientes etapas: - proporcionar y homogeneizar una disolución que comprende hexadecilamina, ácido clorhídrico y agua; - mezclar con agitación esta disolución con una disolución de $Zr(OPr)_4$ y etanol; - envejecer

la mezcla durante 120 horas y extraer y secar los sólidos así obtenidos.

5 En resumen, el principal problema técnico que ha impedido hasta el momento la síntesis de nanopartículas mesoporosas de óxido de zirconio es la reactividad muy superior de los precursores orgánicos de zirconia (alcóxidos) en comparación con los utilizados en la síntesis de nanopartículas mesoporosas de sílice. Por este motivo, las rutas de síntesis basadas en técnicas sol-gel, que producen nanopartículas de zirconia a partir de alcóxidos, son muy inestables y, por tanto, difíciles de controlar. Sin embargo, las técnicas sol-gel son atractivas debido a su funcionamiento sencillo y la literatura ampliamente disponible.

10 Un segundo problema en la síntesis de nanopartículas de zirconia mesoporosas se refiere a la etapa de purificación que se requiere para eliminar cualquier tensioactivo residual u otros disolventes orgánicos utilizados en la síntesis. Generalmente, la purificación de nanopartículas de óxidos metálicos implica tratamientos térmicos, p. ej., calcinación en horno a alta temperatura o ciclos de lavado con ácidos fuertes, p. ej., ácido clorhídrico. La primera técnica se usa comúnmente para nanopartículas de sílice mesoporosas, ya que la estructura de la sílice amorfa es estable a las temperaturas de calcinación (aproximadamente 500-600°C). La segunda técnica puede usarse solo cuando las nanopartículas no se disuelven en el lavado con ácido. Sin embargo, estos tratamientos de purificación conocidos no se pueden usar para purificar nanopartículas de zirconia amorfa porque en el intervalo de temperatura requerido para la degradación del tensioactivo, la zirconia cambia de una fase amorfa a una cristalina y, desafortunadamente, esta transición de fase conduce al cierre de los poros en la estructura. Además, las partículas de zirconia son atacadas superficialmente durante el lavado con ácido.

Descripción de la invención

20 Problema técnico

De la discusión anterior, debe quedar claro que es deseable tener una amplia gama de nanoestructuras, incluidas las nanopartículas de zirconia totalmente mesoporosas, para cumplir con los requisitos de una serie de campos y, en particular, de la nanomedicina. Claramente, la falta de un proceso fácilmente disponible para la fabricación de tales nanopartículas de zirconia representa una seria limitación, especialmente en aplicaciones biomédicas donde la alta pureza y el control del tamaño de las nanopartículas son requisitos cruciales.

25 En vista de los inconvenientes anteriores de la técnica anterior, en una serie de aplicaciones exigentes (por ejemplo, nanomedicina) todavía existe la necesidad de nanopartículas de óxido de zirconio (ZrO_2) que tengan una estructura totalmente mesoporosa estable y también para un método simple de producción de las mismas. En particular, aún existe la necesidad de un método de producción, basado en la técnica sol-gel, que permita la síntesis y purificación de nanopartículas de ZrO_2 con un grado de pureza mejorado y que además permita controlar la estructura, es decir, la forma y la dimensión de dichas nanopartículas, la forma de los poros y la distribución de los poros dentro del intervalo mesoporoso.

En consecuencia, la presente invención pretende superar las desventajas existentes en el estado de la técnica relacionadas con la tecnología de nanopartículas de ZrO_2 .

35 Solución al problema

Solución técnica

40 En consecuencia, es un primer objeto de la presente invención proporcionar un óxido de zirconio en forma de nanopartículas o micropartículas totalmente mesoporosas que tengan una forma esférica, como se establece en la reivindicación independiente adjunta. Dichas partículas de óxido de zirconio se caracterizan por una estructura totalmente mesoporosa, es decir, por una distribución de poros generalmente uniforme y estable en todo el volumen de partículas.

En particular, es un segundo objeto de la presente invención proporcionar nanopartículas o micropartículas mesoporosas de óxido de zirconio con una pureza mejorada en comparación con los materiales de la técnica anterior y, en particular, sin residuos del proceso de síntesis, p. ej., residuos de los materiales de la plantilla de sacrificio.

45 Aun así, un tercer objeto de la presente invención es proporcionar un nanosistema obtenido al funcionalizar o cargar dichas partículas de óxido de zirconio con moléculas orgánicas, fases organometálicas o inorgánicas, o proporcionar materiales obtenidos al dispersar dichas partículas de óxido de zirconio en una resina u otro medio para satisfacer necesidades específicas, particularmente en nanomedicina.

50 Es un cuarto objeto importante de la presente invención proporcionar un proceso de producción sencillo y fácil de controlar para dichas nanopartículas o micropartículas totalmente mesoporosas de óxido de zirconio como se establece en la reivindicación independiente adjunta. Dicho proceso se basa en una técnica sol-gel derivada de alcóxidos y, según las necesidades específicas, permite adecuar la dimensión y estructura mesoporosa de dichas partículas variando convenientemente parámetros del proceso tales como la concentración, el pH y el tipo de precursores.

Aun así, es un quinto objeto de la presente invención proporcionar un proceso de producción que produzca partículas de óxido de zirconio totalmente mesoporosas bien separadas, es decir, que presenten una agregación reducida en comparación con las partículas de la técnica anterior para que puedan dispersarse fácilmente por medio de técnicas bien conocidas.

- 5 Finalmente, es un último objeto de la presente invención describir el uso de dichas nanopartículas o micropartículas totalmente mesoporosas en algunas aplicaciones, p. ej., como vehículo para el suministro de fármacos, como se describe en las reivindicaciones independientes adjuntas.

En vista de las desventajas o inconvenientes anteriores de la técnica anterior, los presentes inventores han realizado muchos estudios relacionados con la preparación de nanopartículas mesoporosas mediante una técnica de sol-gel. Estos estudios se dirigieron principalmente a abordar la notoria inestabilidad de los alcóxidos y, por lo tanto, a lograr el control sobre la dimensión de las nanopartículas y la estructura mesoporosa.

Después de largos períodos de práctica y muchos experimentos, los inventores encontraron un nuevo óxido de zirconio que tiene la fórmula ZrO_2 en forma de nanopartículas, de forma generalmente esférica, caracterizadas por una estructura totalmente mesoporosa con un área superficial específica superior a aproximadamente $200 \text{ m}^2/\text{g}$. Cabe destacar que dicha estructura mesoporosa se distribuye por todo el volumen de dicha partícula sin cavidades internas (excepto las debidas a la mesoporosidad). El nuevo óxido de zirconio se preparó a partir de un precursor de alcóxido utilizando una técnica de sol-gel modificada que permite controlar la dimensión de las nanopartículas y la estructura mesoporosa, así como la pureza de las nanopartículas. Por lo tanto, la presente invención se refiere a un método para producir una nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 de forma esférica y de estructura totalmente mesoporosa según la reivindicación 1 y la nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 obtenible por el método según la reivindicación 10.

Efectos ventajosos de la invención

Efectos ventajosos

Las nanopartículas mesoporosas de óxido de zirconio según la presente invención tienen una serie de ventajas notables que se enumeran a continuación:

- 25 • Las nanopartículas de zirconia presentan una estructura mesoporosa distribuida por todo el volumen de dicha partícula (es decir, son nanopartículas totalmente mesoporosas) con un área superficial específica superior a aproximadamente $200 \text{ m}^2/\text{g}$. El área superficial específica alta permite cargar doxorubicina con una capacidad de carga de aproximadamente 100 mg/g ;
- 30 • Las nanopartículas novedosas están constituidas por óxido de zirconio puro ZrO_2 sin residuos de haluro alcalino y materiales de la plantilla de sacrificio (es decir, tensioactivo).
- Esta es una clara ventaja, porque la presencia de residuos del proceso puede afectar a propiedades tales como la carga superficial y el punto isoeléctrico de las nanopartículas. Más importante aún, el alto grado de pureza de las nanopartículas las hace no citotóxicas como lo demostraron los ensayos *in vivo* en ratones;
- 35 • Las nuevas nanopartículas pueden funcionalizarse fácilmente o cargarse con moléculas activas (p. ej., un fármaco o un tinte fluorescente), y son fácilmente dispersables en un medio (p. ej., un biopolímero), para preparar un biosistema biocompatible o un material biocompatible que comprenda dichas nanopartículas y/o dicho nano-biosistema. Mediante la producción de nano-biosistemas y materiales personalizados, varios campos pueden beneficiarse de las propiedades ventajosas de las nuevas nanopartículas; solo por mencionar algunos: nanomedicina, medicina regenerativa y prótesis, odontología, cosmética, tratamiento de aguas subterráneas y
- 40 de proceso, sensores.

Además, el método de la presente invención tiene varias ventajas con respecto a los métodos conocidos en la técnica:

- 45 • La purificación de nanopartículas se basa en la sublimación al vacío de los residuos orgánicos y se produce a temperaturas mucho más bajas en comparación con el proceso de calcinación tradicional. Este logro permite la producción de nanopartículas de zirconia mesoporosas de alta pureza sin reducir el área superficial específica o, peor aún, dañar toda la estructura mesoporosa. Por esta característica, las nanopartículas según la presente invención son particularmente adecuadas en las aplicaciones médicas y biomédicas;
- El método proporciona varios mecanismos para adaptar el tamaño de las nanopartículas y el tamaño de los poros (por ejemplo, variando el haluro alcalino añadido en las disoluciones), en vista de las funciones buscadas para el nano-biosistema y según el tamaño de las partículas y/o moléculas que se van a cargar. Esto representa una ventaja notable, especialmente en el campo biomédico, ya que el tamaño de las partículas desempeña un papel importante en la definición de la biodistribución y, por tanto, el intervalo de aplicación;
- 50 • Finalmente, el método de producción es fácil y escalable, lo que permite una simplificación del diseño de la planta de síntesis, un mejor control del proceso y el ahorro de costes. Estas ventajas conducen a una mayor flexibilidad

y facilidad en la producción de nanopartículas a escala industrial.

Los objetos y ventajas adicionales de la invención se expondrán en parte en la descripción que sigue, y en parte serán evidentes a partir de la descripción, o pueden aprenderse mediante la práctica de la invención. Será evidente para los expertos en la materia que las ventajas de la presente invención no pueden lograrse mediante nanopartículas de óxido de zirconio de la técnica anterior.

Breve descripción de los dibujos

Descripción de los dibujos

La presente invención se entenderá más completamente con referencia a los siguientes dibujos, que son solo para fines ilustrativos:

- 10 • La Figura 1 muestra imágenes SEM de las nanopartículas mesoporosas de ZrO_2 según el mejor modo de la presente invención. En particular, (a) muestra una única nanopartícula de ZrO_2 , mientras que (b) una pluralidad de nanopartículas de ZrO_2 ;
- La Figura 2, que se refiere al Ejemplo 1 según el mejor modo de la presente invención, muestra en: (a) espectro de EDX (rayos X de dispersión de energía) y en (b) patrón de XRPD (difracción de rayos X en polvo);
- 15 • La Figura 3 muestra, para dos muestras de nanopartículas según la presente invención, en (a) las isothermas de absorción/desorción de N_2 , mientras que en (b) las distribuciones de tamaño de poro según el método BJH (en este caso, el área superficial específica medida es de $240m^2/g$).
- La Figura 4 muestra imágenes SEM de las nanopartículas según la presente invención que tienen diferentes diámetros, en (a) de aproximadamente 200 nm mientras que en (b) de aproximadamente 500 nm. El diámetro de las nanopartículas se alteró ajustando de forma controlada el parámetro de proceso del método de producción;
- 20 • La Figura 5 muestra imágenes de microscopía confocal de una célula con nanopartículas de ZrO_2 según la presente invención dentro del citoplasma celular (las nanopartículas aparecen como puntos rojos; las áreas verdes representan los núcleos celulares no penetrados por las nanopartículas).

Estas figuras ilustran y demuestran diversas características y realizaciones de la presente invención y del método de fabricación de la misma, pero no deben interpretarse como limitativas de la invención.

Modo para la invención

Modo de invención

Descripción detallada de la invención

Con el propósito de comprender la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, en la siguiente descripción los elementos químicos se definen por medio de los símbolos respectivos como se presentan en una tabla periódica de elementos común. Por ejemplo, el hidrógeno está representado por su símbolo H; el helio está representado por He y así sucesivamente. Además, debe entenderse que el símbolo químico comprende todos los isótopos e iones a menos que se indique lo contrario. Nuevamente, en aras de la brevedad, los compuestos químicos pueden indicarse mediante siglas ampliamente adoptadas en el campo técnico relacionado con la presente invención. De manera similar, el término 'zirconia' significará el óxido de zirconio o en la fórmula ZrO_2 .

En aras de la claridad, el término "partícula", tal como se utiliza en la descripción y en las reivindicaciones de la presente invención, designará un agregado de átomos, moléculas u otros constituyentes fundamentales, teniendo dicho agregado un tamaño submicrométrico o supermicrométrico y una forma esférica, pero también una forma no simétrica. En particular, los términos 'nanopartícula' o 'nanoestructura', en singular o en plural, indicarán exclusivamente una partícula de tamaño inferior a aproximadamente 1 micrómetro.

Además, el término 'mesoporoso' como se usa en la presente memoria se referirá a partículas (según la definición proporcionada anteriormente) que tienen diámetros de poro comprendidos entre 2 y 50 nm. En particular, la expresión 'mesoporoso total' o 'totalmente mesoporoso' significará una partícula mesoporosa que tiene una estructura mesoporosa que se extiende por todo el volumen de la partícula y que no se limita solo a una parte de la partícula, p. ej., la capa de partículas.

Además, la expresión 'bio-nano sistema' como se usa en la presente memoria indicará un sistema, no necesariamente de tamaño submicrométrico, en donde una o más moléculas orgánicas, macromoléculas, compuestos organometálicos o fases inorgánicas se unen químicamente o se adsorben en una o más partículas, o se cargan en los poros de dichas partículas.

Además, las expresiones partículas 'bien separadas' o de 'agregación reducida' tal como se usan en la presente

memoria significarán un conjunto de partículas que tienen un tamaño submicrométrico o supermicrométrico, y que no forman agregados estables de dos o más partículas y, por lo tanto, pueden dispersarse fácilmente en un medio o se separan entre sí mediante técnicas convencionales, p. ej., con sonicación por ultrasonidos, centrifugación o filtración.

5 Finalmente, el término 'aproximadamente' como se usa en la presente memoria pretende incluir valores, particularmente dentro del 10% de los valores establecidos. El uso de 'o' significa 'y/o' a menos que se indique lo contrario. Debe entenderse que la descripción detallada tiene el propósito de describir completamente las realizaciones preferidas de la invención sin imponer limitaciones a las mismas.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

10 A modo de ejemplo, pero sin que ello pretenda ser limitante, la Figura 1(a) muestra la imagen SEM de una nanopartícula según la presente invención, que tiene una forma esférica y un diámetro igual a aproximadamente 500 nm. De manera similar, la Figura 1(b) muestra una pluralidad de dichas nanopartículas y demuestra la baja dispersión en la distribución de tamaño y que son partículas bien separadas.

15 Además, a partir del espectro EDX de la Figura 2 (a), será evidente para los expertos en la materia que dichas nanopartículas están compuestas de zirconio (Zr) y oxígeno (O) en la razón estequiométrica esperada de 1 a 2. Por lo tanto, dichas nanopartículas, cuyo método de producción se dará a conocer más adelante, en realidad están constituidas por óxido de zirconio ZrO_2 sin residuos de haluro alcalino y materiales de la plantilla de sacrificio (tensoactivo no iónico de amina).

20 Además, a modo de ilustración y no como limitación de la invención establecida en las reivindicaciones, la Figura 2(b) muestra el espectro de difracción de XRPD (radiación $CuK\alpha$) en polvo que consiste en las mismas nanopartículas que las ilustradas en la Figura 1. Los expertos en la materia encontrarán evidente cómo este espectro de XRPD es característico de un material amorfo y, por lo tanto, del óxido de zirconio puro ZrO_2 en forma amorfa. De hecho, se sabe bien que el óxido de zirconio puro ZrO_2 en forma cristalina tiene un espectro de XRPD totalmente diferente que se caracteriza por una serie de picos estrechos bien definidos a longitudes de onda que dependen estrictamente de la estructura cristalográfica.

25 Finalmente, las isotermas de absorción/desorción de N_2 de la Figura 3 (a), proporcionadas en la presente memoria como un ejemplo no limitativo, muestran que las nanopartículas según la presente invención tienen una estructura mesoporosa (tipo IV según la clasificación IUPAC). Dicha estructura mesoporosa se caracteriza por poros distribuidos homogéneamente con las distribuciones de tamaño de poro (obtenidas por el método BJH) presentadas en la Figura 3(b). Específicamente, con referencia a las dos muestras proporcionadas, el tamaño de los poros es de aproximadamente 4 nm y aproximadamente 8 nm y el área superficial específica es de aproximadamente 240 m^2/g (otras características de estas muestras se presentarán más adelante en los ejemplos).

30 De esta forma, se ha dado a conocer un óxido de zirconio puro (ZrO_2) en forma de nanopartículas mesoporosas, consiguiendo así uno de los principales cometidos de la presente invención.

35 En el mejor modo de la presente invención, las nanopartículas mesoporosas de óxido de zirconio puro (ZrO_2) se obtienen ventajosamente por medio de una nueva e inventiva modificación de la técnica sol-gel. Las etapas del proceso se describen a continuación a modo de ejemplo, pero sin que ello pretenda ser limitante.

Etapas 1: Preparación de la disolución de tensioactivo y formación de micelas

40 El proceso comienza disolviendo en etanol un tensioactivo, preferiblemente hexadecilamina u otro tensioactivo no iónico de amina, p. ej., una amina primaria que tiene una cadena larga alquílica o alifática. Ventajosamente, la razón entre la hexadecilamina y el etanol varía en un intervalo entre aproximadamente 1:200 v/v y aproximadamente 1:800 v/v.

45 A continuación, la disolución se mezcla con una disolución de un haluro alcalino y agua desionizada en una cantidad adecuada para que comience la reacción de hidrólisis. La mezcla se agita durante aproximadamente 10-20 minutos a temperatura ambiente para obtener una solubilización adecuada del tensioactivo, es decir, una disolución homogénea y transparente.

50 En esta etapa, la disolución de haluro alcalino es, por ejemplo, cloruro de sodio en disolución acuosa 0,1 molar, pero se pueden utilizar ventajosamente otras disoluciones acuosas de haluros y valores de concentración. A modo de ejemplo, pero sin que ello pretenda ser limitante, es posible utilizar haluros alcalinos obtenidos combinando, de todas las formas posibles, un catión alcalino Li, Na, K, Rb, Cs con un anión haluro F, Cl, Br, I (cloruro de litio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de rubidio, cloruro de cesio, bromuro de litio, etc.), así como sus mezclas (por ejemplo, cloruro de sodio y bromuro de potasio).

55 Los inventores de la presente invención, después de una larga investigación y desarrollo, han descubierto sorprendentemente que el diámetro de los poros de la estructura mesoporosa (y no solo el de la partícula) está determinado por la elección del haluro alcalino. La evidencia experimental de este resultado se presenta en la Figura 4 y en el Ejemplo 2.

5 Será evidente para los expertos en la materia que de esta manera se ha logrado, de una manera nueva e inventiva, un método para ajustar con precisión el tamaño de las nanopartículas y el tamaño de los poros en la estructura mesoporosa de las nanopartículas según la invención. Este método es ventajoso, ya que se sabe bien que el tamaño de las partículas es de suma importancia para definir el intervalo de aplicaciones, especialmente en el campo biomédico y específicamente para la administración de fármacos.

Los expertos en la materia también apreciarán cómo el método descrito hasta ahora representa una mejora significativa de las soluciones conocidas en el campo técnico.

Etapa 2: Preparación de la disolución precursora

10 El proceso continúa con la preparación de una disolución que contiene un precursor de zirconia. Preferiblemente, dicho precursor es isopropóxido de zirconio (en disolvente n-propanol) que se mezcla con etanol en una razón aproximadamente igual a 1:10. Sin embargo, se pueden utilizar ventajosamente otros precursores de alcóxidos y/o disolventes alcohólicos. Mediante técnicas convencionales, dicha mezcla se agita cuidadosamente, para asegurar la estabilidad del precursor, hasta obtener una disolución homogénea.

Etapa 3: Reacción sol-gel

15 A continuación, la disolución precursora de la Etapa 2 se hace reaccionar con la disolución de tensioactivo de la Etapa 1. Después de añadir gota a gota la disolución precursora a la disolución de tensioactivo, la disolución obtenida se agita así durante algunas horas hasta que se completa la reacción sol-gel. Preferiblemente, dicha reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente, pero se pueden usar otras temperaturas para acelerar la cinética de la reacción siempre que sean compatibles con la estabilidad de los compuestos. Una vez completada la reacción sol-gel, se obtiene una
20 disolución lechosa, que comprende una suspensión de nanopartículas de zirconia que encapsulan el tensioactivo.

Etapa 4: Separación y limpieza de las nanopartículas

25 Esta etapa implica la separación de las nanopartículas de zirconia de la disolución lechosa obtenida en la etapa anterior. Para separar completamente las nanopartículas del disolvente, se ha demostrado que son adecuadas técnicas bien conocidas, p. ej., ciclos repetidos de centrifugación/lavado. A continuación, el sedimento obtenido al final de esta etapa se seca, preferiblemente al aire, para obtener un polvo constituido por nanopartículas preformadas secas que todavía se encapsulan en el interior del tensioactivo.

Etapa 5: Tratamiento solvo-térmico

30 El polvo de nanopartículas preformadas secas obtenido al final de la etapa anterior se dispersa en una disolución de etanol y agua milli-Q, preferiblemente a una razón de aproximadamente 2:1. Dicha suspensión se introduce en un reactor donde se mantiene una temperatura de aproximadamente 170°C durante aproximadamente 16 horas. Este tratamiento, denominado solvo-térmico, induce la extracción del tensioactivo atrapado en las nanopartículas, de forma que finalmente se obtiene una disolución que contiene el tensioactivo y un sedimento blanquecino formado por nanopartículas de zirconia sin purificar.

35 Sorprendentemente, dichas nanopartículas se caracterizan por una forma esférica, por una estructura amorfa y por poros (que caen en el intervalo mesoporoso) en todo el volumen de la partícula. En otras palabras, los inventores han encontrado ventajosamente un método nuevo e inventivo para inducir la extracción del tensioactivo por parte de las nanopartículas de zirconia sin provocar una transición de fase que conduciría a la formación de una estructura nanocristalina no mesoporosa con un área superficial específica muy baja o una forma no esférica.

40 Los inventores también han encontrado pruebas experimentales de que la forma y el tamaño de las nanopartículas, así como la forma y el tamaño de los poros, pueden alterarse o consolidarse ventajosamente variando la temperatura y la duración del tratamiento solvo-térmico.

Etapa 6: Separación de nanopartículas

45 El proceso avanza filtrando el sedimento obtenido previamente mediante, por ejemplo, un filtro Gooch o un filtro de papel de porosidad adecuada. A continuación, el filtrado así obtenido se lava con agua para eliminar las sales residuales y, finalmente, se seca al aire (o también en una estufa, siempre que la temperatura no sea tan elevada que dañe la estructura), para obtener un polvo constituido por nanopartículas de nanopartículas de zirconia mesoporosa no purificadas.

Etapa 7: Purificación de nanopartículas

50 El proceso según la presente invención finaliza con la purificación de las nanopartículas para eliminar el tensioactivo residual (y otros disolventes que puedan estar presentes), de manera que se obtengan nanopartículas de zirconia de alta pureza caracterizadas por una forma esférica y una estructura amorfa totalmente mesoporosa.

Dado que no se pueden utilizar técnicas de purificación conocidas en el estado de la técnica (ya que implican lavados ácidos o calcinaciones que destruyen la estructura mesoporosa), los inventores han utilizado ventajosamente un

proceso de purificación basado en sublimación a baja temperatura. En concreto, el polvo previamente obtenido se introduce en un sistema de extracción al vacío que se calienta para inducir la sublimación de cualquier tensioactivo y disolventes residuales.

5 Al variar adecuadamente la duración, la temperatura y la presión del sistema de extracción al vacío, sorprendentemente, el proceso de purificación basado en sublimación descrito en la presente memoria ha demostrado que conserva la estructura mesoporosa generada en las etapas anteriores y, al mismo tiempo, permite producir nanopartículas de óxido de zirconio no citotóxicas, totalmente mesoporosas, adecuadas para la administración de fármacos. En particular, una temperatura de aproximadamente 120°C, una presión de aproximadamente 5·10⁵ bar durante aproximadamente 12 horas permiten obtener nanopartículas de calidad médica sin tensioactivos.

10 Será evidente para los expertos en la materia que los inventores han descrito en la presente memoria un método nuevo e inventivo para purificar nanopartículas de zirconia que supera los límites existentes y los inconvenientes de las disoluciones conocidas en la técnica.

15 Mediante esta novedosa variante de una técnica tipo sol-gel, descrita en la presente memoria, se han podido superar las limitaciones impuestas por la extrema inestabilidad y reactividad de los alcóxidos utilizados como precursores orgánicos durante la síntesis de nanopartículas de zirconia. Es obvio para los expertos en la materia que el método puede variar sin alejarse de los conceptos básicos descritos en la presente memoria. Por lo tanto, a través de la implementación del proceso descrito en la presente memoria se ha logrado otro e importante objeto de la presente invención.

Ejemplo de nanopartículas de zirconia

20 A modo de ejemplo, pero sin que ello pretenda ser limitante, se describen a continuación algunas nanopartículas de zirconia obtenidas mediante el método de producción proporcionado en la presente memoria.

Ejemplo 1

25 Siguiendo el método de fabricación descrito anteriormente, se prepararon las nanopartículas de zirconia de la Figura 1. Los compuestos de partida utilizados son los siguientes: hexadecilamina como tensioactivo; cloruro de sodio en disolución acuosa 0,1 molar como haluro; isopropóxido de zirconio en n-propanol como precursor de óxido. Todos los compuestos se adquirieron de Sigma Aldrich. Se mezclaron hexadecilamina y etanol a una razón de aproximadamente 1:450. El precursor se mezcló con etanol a una razón de aproximadamente 1:10.

30 La reacción sol-gel se realizó a temperatura ambiente, los reactivos se agitaron durante aproximadamente 10 horas hasta completar la reacción. En la etapa de separación se realizaron tres ciclos de centrifugación/lavado. El tratamiento solvo-térmico se realizó a una temperatura de aproximadamente 170°C durante aproximadamente 16 horas. El proceso de purificación por sublimación fue a una temperatura de aproximadamente 120°C y una presión de aproximadamente 5·10⁻⁵ bar y condujo a nanopartículas de alta pureza adecuadas para aplicaciones en el campo biomédico.

35 Con referencia a la curva azul en el lado izquierdo de la Figura 3(b), tales partículas tienen un diámetro de aproximadamente 400 nm y poros de aproximadamente 4 nm de diámetro. En esta muestra, el área superficial específica medida fue de 240 m²/g.

Ejemplo 2

40 En este caso, se han preparado nanopartículas de zirconia totalmente mesoporosas a partir de haluros diferentes (siempre en disolución acuosa) a los del ejemplo anterior. Los otros parámetros del proceso se mantuvieron esencialmente sin cambios. En particular, la Figura 4 presenta imágenes SEM de nanopartículas de zirconia obtenidas, en (a) a partir de fluoruro de sodio (NaF) mientras que en (b) a partir de bromuro de sodio (NaBr). El diámetro medio de las nanopartículas es de aproximadamente 200 nm en el caso del NaF y de aproximadamente 500 nm en el caso del NaBr.

45 La siguiente tabla informa el radio iónico promedio de los haluros y los diámetros promedio de las nanopartículas (NP) de los Ejemplos 1 y 2.

[Tabla 1]

NaX-	Radio iónico (pm)	Diámetro de NP (nm)
F	119	200
Cl	167	400
Br	182	500

5 Este ejemplo proporciona una clara demostración de que es posible alterar el tamaño de las partículas cambiando el haluro durante el Etapa 1 utilizando el proceso de síntesis descrito en la presente memoria, e incluso que existe una correlación entre el radio iónico medio del anión haluro y los diámetros medios de las nanopartículas. Ventajosamente, mediante dicha correlación se pueden seleccionar los haluros para obtener partículas que tengan el tamaño deseado según aplicaciones específicas.

Ejemplo 3

10 En este caso se sintetizaron nanopartículas de zirconia totalmente mesoporosa partiendo en primer lugar de cloruro de sodio (NaCl) y luego de yoduro de sodio (NaI). Se mantuvieron los mismos parámetros de proceso de los Ejemplos 1 y 2. La Figura 3(b) muestra las distribuciones de tamaño de poro de dichas nanopartículas según el método BJH, para cloruro de sodio (curva azul izquierda) y yoduro de sodio (curva roja derecha). El tamaño de los poros es, respectivamente, de 4 nm y 8 nm. En este caso también existe una relación ventajosa entre el tamaño de poro y el radio iónico medio del haluro de anión.

15 A partir de este ejemplo, será evidente para los expertos en la materia que el método de fabricación descrito en la presente memoria permite claramente alterar también el tamaño de los poros de las partículas cambiando el haluro durante el Etapa 1 del proceso de síntesis.

Descripción de realizaciones

20 En la **segunda realización** según la presente invención, descrita en la presente memoria a modo de ejemplo, pero sin que ello pretenda ser limitante, las nanopartículas de zirconia totalmente mesoporosas preparadas a través del proceso descrito anteriormente se funcionalizan, unen o adsorben con entidades tales como moléculas orgánicas, macromoléculas, compuestos organometálicos o fases inorgánicas, para obtener bio-nano-sistemas personalizados según una aplicación específica. Por ejemplo, son entidades adecuadas para RMN o formación de imágenes ópticas: óxidos de hierro magnético, compuestos de gadolinio organometálicos o inorgánicos, agentes colorantes orgánicos, organometálicos o inorgánicos, complejos de tierras raras u óxidos dopados con tierras raras. Además, se pueden cargar entidades como taxol, doxorrubicina u otros fármacos de quimioterapia en las partículas de zirconio totalmente mesoporosas para obtener un bio-nano-sistema adecuado para la administración de fármacos.

25 La funcionalización de nanopartículas o la carga con moléculas se puede lograr mediante técnicas conocidas, que ahora se han vuelto convencionales, tal como la presentada en el Ejemplo 5.

30 En la **tercera realización** de la invención según la presente invención, esta también ilustrada a modo de ejemplo y no de limitación, las nanopartículas mesoporosas de zirconia se encuentran dispersas en una matriz tal como una resina fotocurable, un biopolímero u otras matrices con una composición que depende de la aplicación específica. De manera similar, también los bio-nano-sistemas que comprenden dichas nanopartículas (por ejemplo, los bio-nano-sistemas descritos anteriormente) pueden dispersarse en tales matrices.

35 Aplicabilidad Industrial

Las nuevas nanopartículas de óxido de zirconio según la presente invención, no son citotóxicas y se caracterizan por una estructura totalmente mesoporosa. Además, pueden funcionalizarse o cargarse ventajosamente con moléculas activas y entidad para preparar un biosistema biocompatible, así como también son fácilmente dispersables en un medio (por ejemplo, un biopolímero) adecuado para formar un material biocompatible que comprende dichas nanopartículas y/ o dicho nano-biosistema.

40 Estas propiedades son muy atractivas para una amplia gama de aplicaciones específicas en los campos de la biomedicina y la nanomedicina, donde las aplicaciones prometedoras incluyen las siguientes:

- En diagnóstico o teranóstica, como portador de fármacos, particularmente en el tratamiento del cáncer, o agente de contraste (en combinación con moléculas fluorescentes);
- 45 • En medicina regenerativa y prótesis, preparación de andamiajes biocompatibles, especialmente en combinación con técnicas de biotrazado;
- En odontología, como agente de refuerzo en rellenos dentales a base de resina o en la regeneración de tejidos

dentales;

- En cosmética, como relleno inerte en diversas preparaciones cosméticas, o como relleno activo en combinación con moléculas, tales como filtros UV o agentes de regeneración celular.

5 Estas aplicaciones se entenderán mejor con los siguientes Ejemplos 4, 6, 7 y 8 que se dan a modo de ilustración y no de limitación de la presente invención.

Además, la presente invención también encuentra aplicación en la industria, en todas aquellas aplicaciones donde es esencial una alta interacción superficial, por ejemplo en catálisis y filtración, o en dispositivos sensores (por ejemplo, sensor de gas), solo por nombrar algunos. Particularmente, al explotar la buena capacidad secuestrante de iones de metales pesados, las nuevas nanopartículas de óxido de zirconio según la presente invención son útiles tanto en el
10 tratamiento de aguas subterráneas como en el tratamiento de aguas de proceso, como se explica más claramente en el siguiente Ejemplo 5 ilustrativo, pero no limitativo.

Ejemplos de uso

Finalmente, constituye otro objeto de la presente invención el uso en aplicaciones seleccionadas de las nanopartículas mesoporosas de zirconia según la primera realización de la presente invención, así como el uso de los nano-
15 biosistemas y materiales basados en dichas nanopartículas según las enseñanzas de la segunda y tercera realización de la presente invención.

A modo de ilustración, pero sin que ello pretenda ser limitante, los siguientes son algunos ejemplos seleccionados de usos que pueden implementar los expertos en la materia utilizando técnicas bien conocidas.

Ejemplo 4

20 En el campo médico dichas nanopartículas, nano-biosistemas y materiales pueden ser ventajosamente utilizados como herramientas de diagnóstico, agentes de contraste, como portadores de fármacos o agentes teranósticos para el diagnóstico y tratamiento de patologías, particularmente en el tratamiento del cáncer.

De hecho, se ha demostrado experimentalmente que las células de diferentes sistemas biológicos incorporan dichas nanopartículas de zirconia totalmente mesoporosas. Específicamente, las Figuras 5(a) y (b) muestran imágenes de
25 microscopio confocal de una célula que incorpora las nanopartículas según la presente invención: las áreas rojas muestran el citoplasma celular que incorpora las nanopartículas marcadas con disolución de marcaje lipófilo Dil fluorescente roja Vybrants® (Life Technology, Carlsbad, CA, EE. UU.); las áreas verdes son los núcleos celulares no penetrados por las nanopartículas.

Además, los ensayos realizados según los protocolos internacionales en el Centro de Referencia de Oncología CRO de Aviano, Italia, demostraron que las nanopartículas mesoporosas de zirconia no son citotóxicas y los ensayos *in vivo* en ratones no mostraron signos evidentes de toxicidad. Más detalles están disponibles según lo informado por
30 los inventores en '*Bio-compatible tailored zirconia mesoporous nanoparticles with high Surface area for theranostic applicaitons*' por Gabriele Sponchia, et al. en J. Mater. Chem. B, 2015, 3, 7300 (DOI: 10.1039/c5tb01424g).

Este ejemplo proporciona también una demostración de que las nanopartículas según la presente invención se pueden
35 marcar fácilmente con colorante fluorescente.

Ejemplo 5

Las nanopartículas descritas en los ejemplos anteriores se pueden utilizar como adsorbentes útiles para eliminar aniones de metales pesados, tales como Cr (VI) u otros óxidos metálicos, de aguas subterráneas o de procesos
40 industriales. Debido a la alta área superficial específica de dichas partículas, se ha encontrado una buena adsorción en un intervalo entre aproximadamente 10 mg/g y aproximadamente 20 mg/g dependiendo del ion presente en el fluido a purificar. Sin embargo, las nanopartículas según la invención son potencialmente capaces de garantizar una mejor capacidad de adsorción (superior a aproximadamente 30 mg/g). De hecho, la capacidad de secuestro de iones de metales pesados en partículas compuestas de óxidos binarios de zirconia (por ejemplo, ZrO₂/TiO₂) aumenta con el
45 contenido de zirconia como describen Chen et al., por ejemplo, en '*Facile Synthesis of Monodisperse Mesoporous Zirconium Titanium Oxide Microspheres with Varying Compositions and High Surface Areas for Heavy Metal Ion Sequestration*' (DOI: 10.1002/adfm.201102878).

Ejemplo 6

En las nanopartículas del ejemplo 1 se cargaron dos fármacos, en concreto, doxorrubicina e irinotecán, siguiendo, en
50 ambos casos, el siguiente protocolo de carga. En primer lugar, se prepara una suspensión de nanopartículas (aproximadamente 5 mg) en una disolución acuosa (aproximadamente 1,5 ml). Luego, se añade a la suspensión una cantidad conocida de fármaco en una disolución de concentración conocida (en un intervalo entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 1 mg/ml). Finalmente, la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 24 horas.

Para verificar que el fármaco se cargó realmente en las nanopartículas, se centrifugó la suspensión para separar las

nanopartículas del sobrenadante, es decir, de la fase de disolvente transparente sobre el depósito de nanopartículas obtenido después de la centrifugación. Analizando la absorbancia del sobrenadante mediante técnicas convencionales, los inventores estimaron la cantidad de fármaco dispersado en el sobrenadante: la señal de absorción resultó menor que la de la disolución inicial que contenía el fármaco y, por tanto, la cantidad de fármaco cargada en las nanopartículas mesoporosas se calculó por diferencia.

Este procedimiento de control se ha realizado a intervalos regulares de 6, 12, 24 y 48 horas para verificar el tiempo de carga del fármaco. En todos los casos se ha comprobado experimentalmente una excelente capacidad de las nanopartículas de zirconia totalmente mesoporosas para cargar doxorubicina e irinotecán con una capacidad de carga en un intervalo entre aproximadamente 5 mg/g y aproximadamente 100 mg/g.

10 Ejemplo 7

En el campo cosmético, las nanopartículas según la presente invención pueden cargarse convenientemente con filtros UV moleculares o inorgánicos, agentes suavizantes, antioxidantes y/o ingredientes activos para cosméticos, mediante protocolos de carga similares al del Ejemplo 6. Particularmente en el tratamiento de huesos y dientes, se pueden utilizar diferentes métodos de carga como el descrito por Wang et al. en '*Mesoporous titanium zirconium oxide nanospheres with potential for drug delivery applications*' (DOI 10.1021/am4031104).

Además, es posible producir materiales multifuncionales dispersando, p. ej., los nano-biosistemas reportados en el Ejemplo 5, en una matriz adecuada, por ejemplo biopolímeros o hidrogeles como los descritos en 'Biomateriales a base de alginato para aplicaciones de medicina regenerativa' (en Materials 2013, 6, 1285-1309; DOI:10.3390/ma6041285), o incluso una silicona de vulcanización a temperatura ambiente para uso dental. Estos materiales multifuncionales, en combinación con equipos de biotrazado (p. ej., los fabricados por EnvisionTech GmbH), son adecuados para andamiajes biocompatibles de bioimpresión para aplicaciones específicas en el campo de la medicina regenerativa y la prótesis.

20 Ejemplo 8

Por medio de técnicas convencionales, las nanopartículas descritas en los Ejemplos 1, 2 y 3 se pueden dispersar fácilmente en una resina fotocurable, por ejemplo, en una base acrílica biocompatible (por ejemplo, disponible de 3D Systems o fabricantes similares). De esta manera, es posible producir resinas cargadas con nanopartículas biocompatibles, útiles como resinas consumibles para impresoras 3D (u otros equipos de fabricación aditiva) conocidas en el estado de la técnica, por ejemplo, equipos de inyección de tinta o material como los de la serie Aerosols Jet producida por Optomec Inc.

Otras realizaciones y ventajas serán evidentes para un experto en la materia a la vista de esta memoria descriptiva y se consideran todas dentro del alcance de la invención reivindicada.

En conclusión, es evidente para los expertos en la materia que la presente invención logró completamente el objetivo y los objetos previstos por medio del nuevo óxido de zirconio en forma de nanopartículas amorfas totalmente mesoporosas y el método de producción del mismo descrito en la presente memoria.

La invención así concebida es susceptible de numerosas modificaciones y variaciones.

Por ejemplo, en la realización preferida el tensioactivo es preferiblemente hexadecilamina, pero se puede sustituir por otro tipo de tensioactivo anfífilo (iónico o no iónico); el haluro alcalino es el cloruro de sodio, pero pueden utilizarse ventajosamente otros haluros tales como cloruro de potasio (o de cesio, rubidio, etc.), o cloruro/bromuro de sodio (o de potasio, cesio, rubidio, etc.); el precursor del óxido de zirconio es preferiblemente isopropóxido de zirconio pero pueden elegirse otros compuestos equivalentes tales como etóxido de zirconio o n-butóxido de zirconio; disolventes (tales como alcoholes) y la concentración molar de las disoluciones que contienen estos compuestos pueden modificarse siempre que sea compatible con el propósito.

La descripción y los dibujos anteriores son únicamente ilustrativos de realizaciones preferidas que consiguen los objetos, características y ventajas de la presente invención, y no se pretende que la presente invención se limite a ellos. Todos los equivalentes estructurales, químicos y funcionales de los elementos de la realización preferida descrita anteriormente que son conocidos por los expertos en la materia se incorporan expresamente en la presente memoria como referencia y se pretende que queden abarcados por las presentes reivindicaciones.

Aunque la descripción y los ejemplos anteriores contienen muchos detalles, estos no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención sino simplemente como ilustraciones de algunas de las realizaciones actualmente preferidas de esta invención.

En las reivindicaciones adjuntas, la referencia a un elemento en singular no pretende significar 'uno y solo uno' a menos que se indique explícitamente, sino 'uno o más'. Cuando las características y técnicas mencionadas en cualquier reivindicación vayan seguidas de signos de referencia, dichos signos de referencia se han incluido con el único fin de aumentar la inteligibilidad de las reivindicaciones y, en consecuencia, dichos signos de referencia no tienen ningún efecto limitante sobre la interpretación de cada elemento identificado a modo de ejemplo, pero sin que ello

pretenda ser limitante, por tales signos de referencia.

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 de forma esférica y de estructura totalmente mesoporosa, en donde la estructura mesoporosa se distribuye por todo el volumen de dicha partícula sin cavidades internas, excepto las debidas a la mesoporosidad, comprendiendo dicho método una o más de las siguientes etapas:
- 5 a) preparar una disolución que contiene un tensioactivo, preferiblemente hexadecilamina, y un disolvente adecuado, preferiblemente etanol, en una cantidad que varía de 1:200 v/v a 1:800 v/v.
- b) mezclar la disolución obtenida al final de la etapa anterior con una disolución acuosa de un haluro alcalino y agitar hasta obtener una primera disolución homogénea;
- 10 c) preparar una disolución que contiene un precursor de zirconia, preferiblemente isopropóxido de zirconio, y un disolvente adecuado, preferiblemente etanol, y agitar hasta obtener una segunda disolución homogénea;
- d) hacer reaccionar dicha primera disolución con dicha segunda disolución, preferiblemente a temperatura ambiente y durante un período de tiempo de 10 horas, de modo que se obtenga una tercera disolución, conteniendo dicha tercera disolución una dispersión de partículas de zirconia que contienen dicho tensioactivo;
- 15 e) secar, preferiblemente al aire, el sedimento obtenido después de separar dichas partículas de zirconia de dicha tercera disolución, de modo que se obtenga un polvo compuesto sustancialmente por partículas de zirconia secas que encapsulan dicho tensioactivo;
- f) preparar una dispersión de dichas partículas de zirconia secas en un líquido adecuado, preferiblemente etanol y agua milli-Q a una razón de 2:1, y someter dicha dispersión a un tratamiento térmico mediante un reactor adecuado para que dicho tensioactivo encapsulado se retire y se obtenga una disolución que contiene un sedimento compuesto por nanopartículas de zirconia no purificadas;
- 20 g) filtrar, lavar y secar el sedimento obtenido al final de la etapa anterior, para obtener un polvo compuesto sustancialmente por partículas de zirconia seca no purificada;
- h) purificar dicho polvo mediante un proceso de purificación, para obtener nanopartículas de zirconia purificadas secas caracterizadas por una forma esférica y una estructura amorfa mesoporosa.
- 25 2. Un método según la reivindicación 1, en donde dicho tensioactivo se selecciona del grupo que consiste en: hexadecilamina, octadecilamina, un tensioactivo iónico anfífilo, un tensioactivo no iónico anfífilo, un tensioactivo de amina no iónica, una amina primaria que tiene una cadena larga alquílica o alifática, o una combinación de los mismos.
3. El método según la reivindicación 1, en donde dicho haluro alcalino se selecciona del grupo que consiste en todas las sales posibles resultantes de combinaciones binarias entre:
- 30 - un catión alcalino del grupo formado por Li, Na, K, Rb, Cs; y
- un anión haluro del grupo que consiste en F, Cl, Br, I, o que consiste en una combinación de una o más de dichas sales, siendo dicho haluro alcalino preferiblemente fluoruro de sodio, cloruro de sodio, bromuro de sodio o yoduro de sodio, o una combinación de los mismos.
4. El método según la reivindicación 1 o 2, en donde en dicha primera disolución homogénea la razón molar entre dicho tensioactivo y dicho haluro alcalino varía de 0,05 a 0,5.
5. El método según la reivindicación 1, en donde dicho precursor de zirconia se selecciona del grupo que consiste en: isopropóxido de zirconio, etóxido de zirconio, n-butóxido de zirconio o una combinación de los mismos.
6. El método según la reivindicación 1 o 5, en donde la razón molar de dicha segunda disolución varía de 0,02 a 0,2, preferiblemente 0,1, con respecto a los moles totales de dicho precursor de zirconia en dicha segunda disolución homogénea.
- 40 7. El método según la reivindicación 1, en donde dicho tratamiento térmico es un tratamiento solvo-térmico que tiene lugar a una temperatura entre 50°C y 300°C durante un período de 1 hora a 24 horas.
8. El método según la reivindicación 1, en donde dicho proceso de purificación comprende un proceso de sublimación, que tiene lugar a baja temperatura y presión para extraer dicho tensioactivo encapsulado u otros disolventes residuales, sin dañar la estructura mesoporosa de dichas partículas.
- 45 9. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde dicho proceso de sublimación tiene lugar en una o más de las siguientes condiciones:
- presión entre 10^{-5} bar a 10^{-3} bar;
- temperatura entre 50°C y 150°C;

- período de tiempo entre 240 minutos y 600 minutos.

10. Una nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 que puede obtenerse por el método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde dicha nanopartícula o micropartícula de ZrO_2

- es de forma esférica,

5 - tiene una estructura totalmente mesoporosa, en donde la estructura mesoporosa se distribuye por todo el volumen de dicha partícula sin cavidades internas, excepto las debidas a la mesoporosidad, y

- tiene un área superficial específica de más de $200m^2/g$.

11. La nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 según la reivindicación 10, en donde dicha nanopartícula o micropartícula tiene un diámetro promedio que varía entre 20 nm y 2000 nm.

10 12. La nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 según la reivindicación 10, en donde dicha estructura mesoporosa contiene poros que tienen un diámetro medio que varía entre 2 nm y 10 nm.

13. La nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 según una cualquiera de las reivindicaciones 10-12, en donde dicha partícula está funcionalizada o unida o adsorbida a uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en: moléculas orgánicas, macromoléculas, compuestos metalorgánicos, fases inorgánicas, o una combinación de los mismos.

15

14. Un nano-biosistema biocompatible que comprende:

- al menos una nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 según una cualquiera de las reivindicaciones 10-13; y

- al menos un compuesto unido químicamente o adsorbido sobre una o más de dichas partículas, seleccionándose dicho compuesto del grupo que consiste en: enzimas, polipéptidos, proteínas, anticuerpos, ADN, ARN, fármacos, fármacos quimioterapéuticos, agentes quelantes, nanopartículas, fases inorgánicas de óxidos metálicos, agentes luminóforos, agentes fluoróforos, agentes fotocatalizadores, óxidos magnéticos, agentes para formación de imágenes por resonancia magnética, agentes potenciadores para formación de imágenes ópticas y una combinación de los mismos.

20

15. El nano-biosistema biocompatible según la reivindicación 14, en donde dicho al menos un compuesto se selecciona del grupo que consiste en: taxol, doxorubicina, óxidos de hierro magnéticos, compuestos de gadolinio inorgánicos u organometálicos, complejos de tierras raras, óxidos metálicos dopados con tierras raras, y una combinación de los mismos.

25

16. Un material biocompatible que comprende:

- al menos una nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 según una cualquiera de las reivindicaciones 10-13; y

- el nano-biosistema biocompatible según una cualquiera de las reivindicaciones 14-15.

30

17. El material biocompatible según la reivindicación 16, en donde dicha al menos una nanopartícula o micropartícula de ZrO_2 se encuentra dispersa en una matriz, seleccionándose dicha matriz del grupo que consiste en: una resina, una resina fotocurable, un polímero, un polímero fotocurable, un biopolímero, un hidrogel, un oligómero, un monómero y una combinación de los mismos.

35 18. Un nano-biosistema biocompatible según una cualquiera de las reivindicaciones 14-15 para su uso como administración de fármacos.

19. Un nano-biosistema biocompatible según una cualquiera de las reivindicaciones 14 o 15 para su uso en terapia fotodinámica para el tratamiento del cáncer.

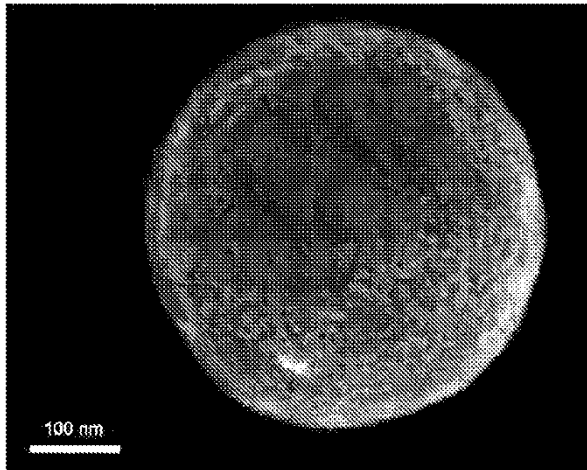
20. Un uso del nano-biosistema biocompatible según una cualquiera de las reivindicaciones 14 o 15 para la obtención de imágenes biológicas de sistemas biológicos, o para el direccionamiento de composiciones biológicas.

40

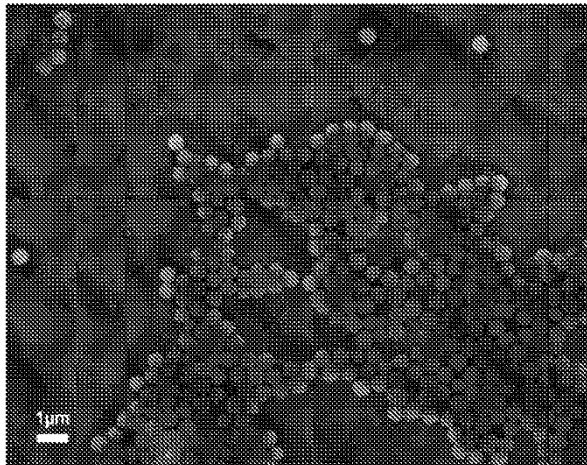
21. Un material biocompatible según la reivindicación 16 o 17 para su uso como andamiaje para medicina regenerativa en combinación con técnicas de biotrazado o técnicas avanzadas de fabricación aditiva, preferiblemente impresión por chorro 3D.

22. Un material biocompatible según la reivindicación 16 o 17 para su uso en odontología o para uso como prótesis.

45

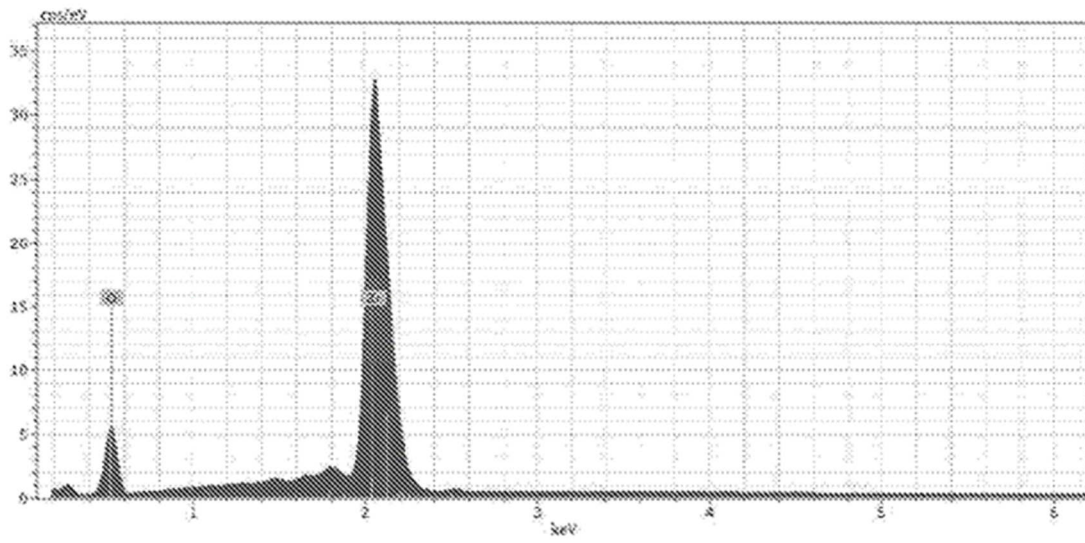


(a)

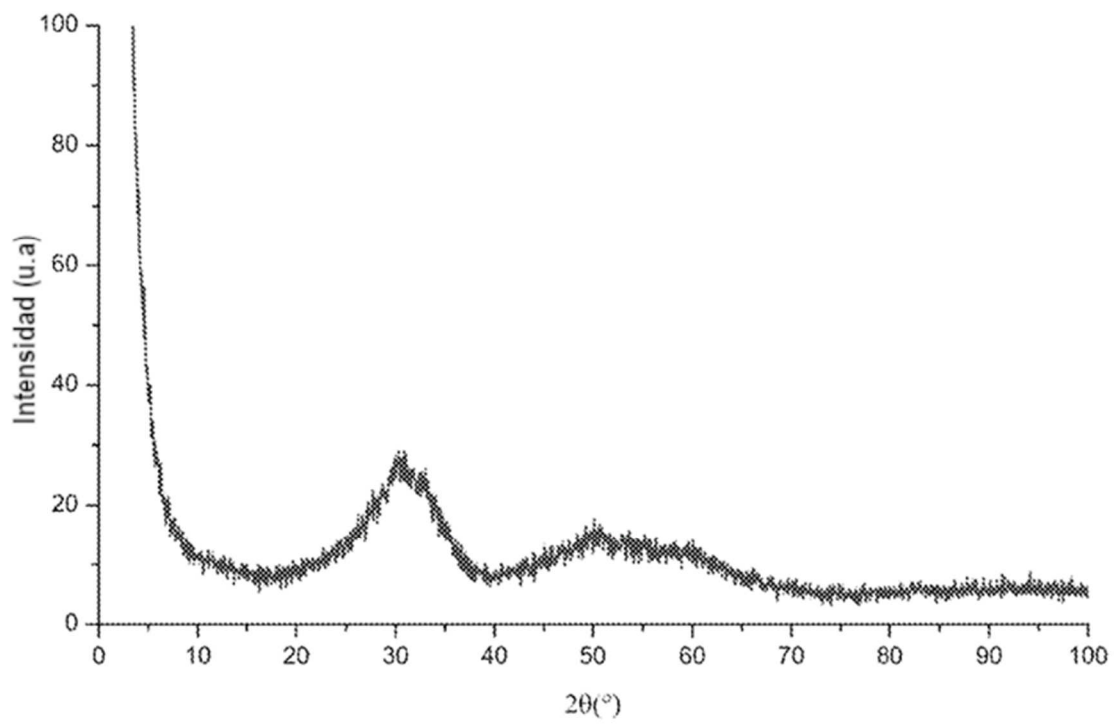


(b)

Figura 1

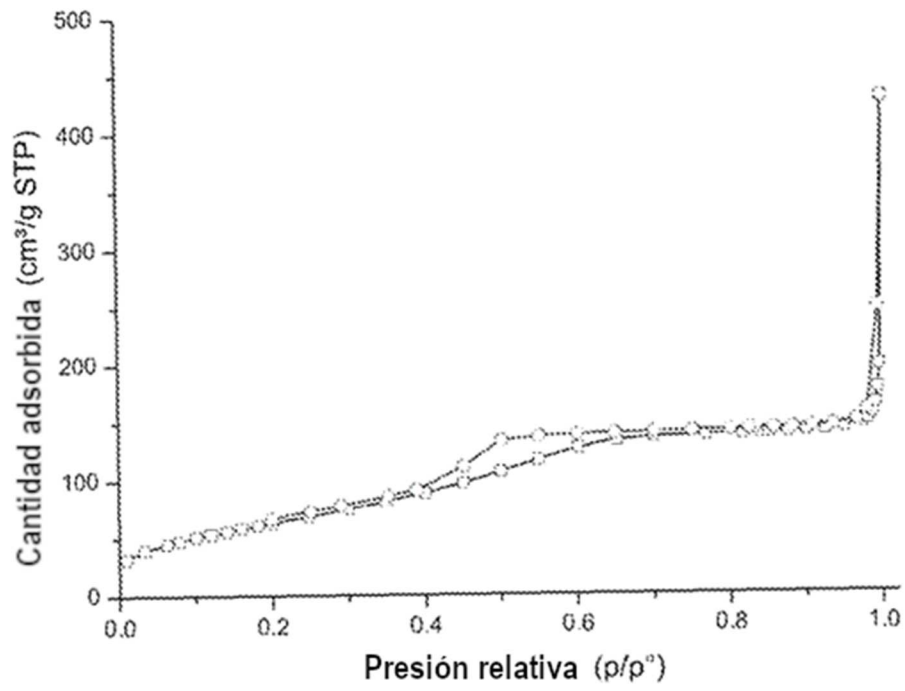


(a)

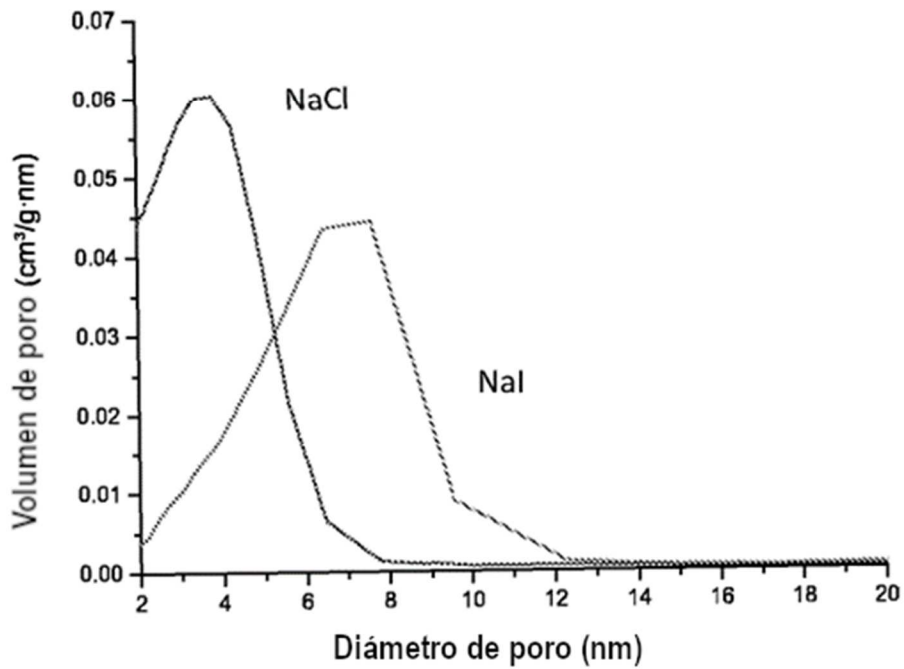


(b)

Figura 2

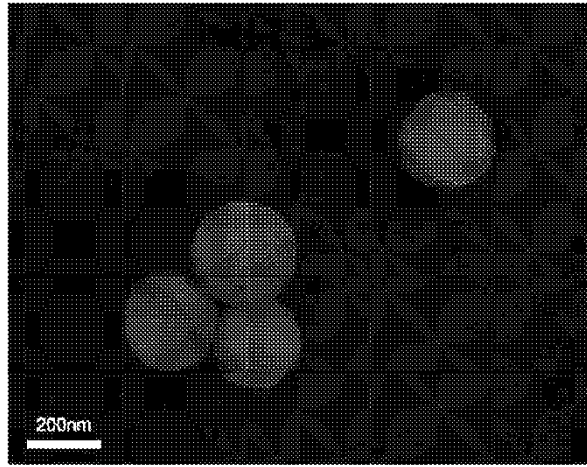


(a)

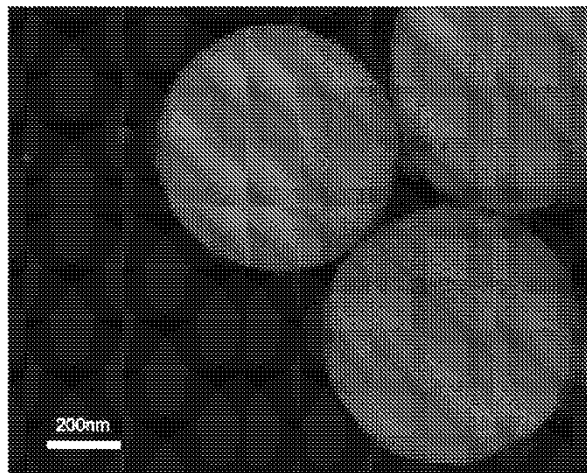


(b)

Figura 3

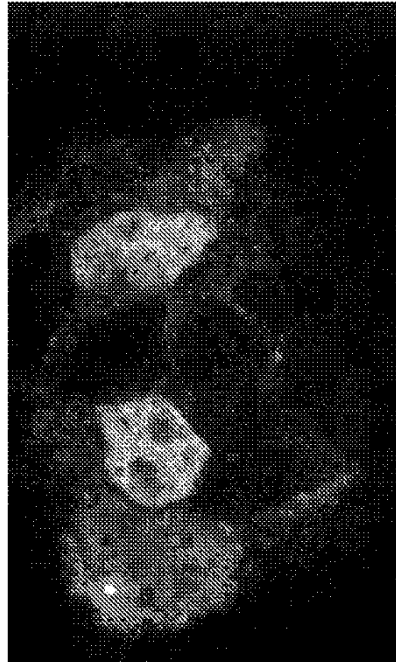


(a)

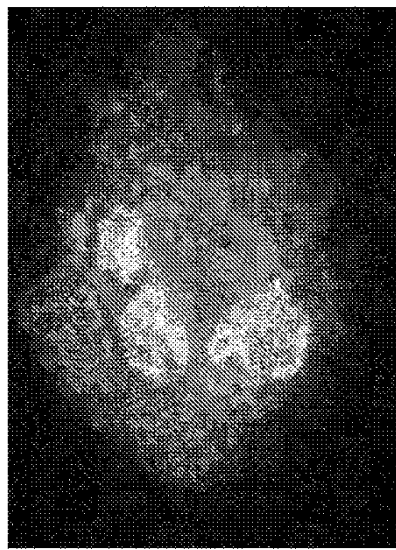


(b)

Figura 4



(a)



(b)

Figura 5