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

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
15 de Febrero de 2007 (15.02.2007)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2007/017550 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
B82B 3/00 (2006.01) *B22F 1/00* (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2006/070121

(22) Fecha de presentación internacional:
28 de Julio de 2006 (28.07.2006)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P200502041 3 de Agosto de 2005 (03.08.2005) ES

(71) Solicitante *(para todos los Estados designados salvo US)*: **UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA** [ES/ES]; Edificio Cactus- Campus Sur, E-15782 Santiago de Compostela (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes *(para US solamente)*: **LOPEZ QUINTELA, Manuel Arturo** [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Edificio Cactus- Campus Sur, E-15782 Santiago de Compostela (ES). **RIVAS REY, José** [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Edificio Cactus- Campus Sur, E-15782 Santiago de Compostela (ES).

(74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Angel**; Pons Patentes y Marcas, Glorieta De Rubén Darío, 4, E-28010 Madrid (ES).

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

(84) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:
— *con informe de búsqueda internacional*
— *antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones*

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) **Title:** STABLE ATOMIC QUANTUM CLUSTERS, PRODUCTION METHOD THEREOF AND USE OF SAME

(54) **Título:** CLÚSTERES CUÁNTICOS ATÓMICOS ESTABLES, SU PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN Y USO DE LOS MISMOS

(57) **Abstract:** The invention relates to stable atomic quantum clusters (AQC) which are characterised in that they comprise less than 500 metal atoms. The invention also relates to the method of producing the inventive clusters, which is characterised in that it makes use of a kinetic control system and maintains a low concentration of reactants in the reaction medium. The invention further relates to the uses of said clusters as sensors (fluorescent, magnetic or chemical sensors), electrocatalysts and cytostatics and/or cytotoxics.

(57) **Resumen:** Clústeres cuánticos atómicos, AQCs, estables caracterizados por estar compuestos por menos de 500 átomos de metal, su procedimiento de obtención caracterizado por un control cinético y por mantener una concentración baja de reactivos en el medio de reacción, así como los usos de estos clústeres como sensores (fluorescentes, magnéticos o químicos), electrocatalizadores y como citostáticos y/o citotóxicos.

WO 2007/017550 A1

CLÚSTERES CUÁNTICOS ATÓMICOS ESTABLES, SU PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN Y USO DE LOS MISMOS.

La presente invención se refiere a nuevos clústeres cuánticos de átomos (AQCs) de elementos metálicos, caracterizados por ser estables en disolución, un procedimiento para su obtención mediante el control cinético de la reacción y los usos de dichos AQCs como sensores (fluorescentes, magnéticos o químicos), electrocatalizadores y como citostáticos y/o citotóxicos.

ESTADO DE LA TECNICA ANTERIOR

Cuando los materiales se reducen a tamaños nano/subnano-métricos muchas de las propiedades cambian drásticamente y aparecen otras nuevas, como consecuencia del paso macroscópico-mesoscópico-atómico. A modo de ejemplo, cuando el tamaño de materiales metálicos -como la Ag y el Au- se reduce a unos pocos átomos (< aprox. 200-500 átomos) aparece fluorescencia [Zheng, J.; Zhang, C.; Dickson R.M. *Phys.Rev.Lett.* 2004, *93*, 077402;], ferromagnetismo [Crespo, P.; Litrán, R.; Rojas, T. C.; Multigner, M.; de la Fuente, J. M.; Sánchez-López, J. C.; García, M. A.; Hernando, A.; Penadés, S.; Fernández, A. *Phys. Rev. Lett.* 2004, *93*, 087204] , quiralidad óptica [Schaaff, T. G.; Whetten, R. L. *J. Phys. Chem. B* 2000, *104*, 2630], comportamiento de carga tipo redox [Lee, D.; Donkers, R. L.; DeSimone, J. M.; Murray, R. W. *J. Am. Chem.Soc.* 2003, *125*, 1182], amplificación de la señal Raman [Peyser-Capadona, L.; Zheng, J.; González, J.I.; Lee, T-H.; Patel, S.A.; Dickson, R.M. *Phys.Rev.Lett*, 2005, *94*, 058301], etc.

Todas estas nuevas propiedades aparecen debido al confinamiento espacial de los electrones que origina la separación cuántica de los niveles de energía. De esta forma estos materiales metálicos se comportan de manera muy diferente al material masivo. Este hecho de que al reducir la materia macroscópica al ámbito nanoscópico produce cambios importantes en las propiedades de los materiales, es algo ya reconocido como una característica de la materia en general. Así, a modo de ejemplo, materiales semiconductores -como el SCd, etc.- presentan efectos cuánticos cuando

su tamaño se reduce a unos pocos nanómetros, lo que se aprovecha para sintonizar su fluorescencia a distintas longitudes de onda y, por esta razón, se les denomina actualmente como puntos cuánticos ("quantum dots"), que quiere indicar el hecho de que el confinamiento cuántico "quasi-puntual" que se origina en esas nanopartículas semiconductoras les lleva a tener propiedades diferentes según su tamaño. En el caso de los materiales metálicos, el cambio drástico en sus propiedades ocurre a tamaños inferiores (menores de unos pocos cientos de átomos), tamaños correspondientes a lo que se conoce como clústeres atómicos.

Debido a las potenciales aplicaciones de los clústeres cuánticos atómicos sobre todo en el campo de los biosensores [Peyser, L.A.; Vinson, A.E.; Bartko, A.P.; Dickson, R.M., *Science*, 2001, *291*,103], electrocatálisis [Boyen H-G. et al. *Science* 2002, *297*, 1533], etc., se ha despertado un gran interés por el desarrollo de métodos de síntesis sencillos que permitan obtenerlos en cantidades susceptibles de ampliar a gran escala. Y es precisamente aquí donde reside el mayor problema para la aplicación de los AQCs. Hasta el momento presente solamente se pueden obtener, bien por costosos procedimientos físicos en fase gaseosa [véase por ejemplo, L.J. de Jongh (ed), *Physics and Chemistry of Metal Cluster Compounds. Model Systems for Small Metal Particles*, Series of Physical and Chemical Properties of Materials with Low-dimensional Structures, Kluwer Academi, Dordrecht, 1994], bien por procedimientos químicos o electroquímicos pero en cantidades ínfimas de mezclas de clústeres de diferentes tamaños [Petty, J.T.; Zheng,J.; Hud, N.V.; Dickson, R.M. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, *126*, 5207.], En este último caso, los AQCs han de ser luego purificados mediante complejas técnicas de separación (HPLC, electroforesis en gel, etc.) [Jiménez, V.L.; Leopold, M.C.; Mazzitelli, C.; Jorgenson, J.W.; Murray, R.W. *Anal. Chem.* 2003, *75,* 199], obteniéndose al final cantidades extremadamente pequeñas de los mismos, lo que hace muy difícil, tanto el estudio de sus propiedades como -y más importante- su aplicación a gran escala. Hay que destacar que, en todos los casos, los clústeres obtenidos o bien aparecen estabilizados mediante moléculas protectoras, matrices sólidas o semisólidas, etc. o bien, su tiempo de vida es demasiado corto como para poder ser aislados [Rodriguez-Sanchez,M.; Rodriguez, M.J.;

Blanco, M.C.; Rivas, J.; López-Quintela, M.A. *J. Phys. Chem. B,* 2005, *109,* 1183],

Hasta el momento, los métodos de preparación de clústeres/nanopartículas se basan en la teoría de nucleación-crecimiento, estos tratan de obtener un número muy elevado de núcleos en un tiempo muy corto ("explosión de núcleos"), para lo cual se procura acelerar al máximo la velocidad de la reacción [Sugimoto, T *Monodisperse Particles* (Elsevier, New York, 2001)]. Esto es, por ejemplo, lo que se hace en el conocido método de Brust [Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1994, 801] para generar nanopartículas monodispersas de oro.

La teoría de nucleación-crecimiento es una teoría termodinámica clásica que se basa en que la formación de una nueva fase (sólida en este caso) en el seno de un líquido (la disolución de partida con los reactivos) siempre conlleva la aparición de una interfase y, por lo tanto, se precisa de una energía interfacial adicional (denominada energía de Laplace), dada por el producto de la tensión interfacial del sólido que se forma por el área interfacial formada. Esta energía hace que las partículas que posean un tamaño inferior a uno crítico, no sean estables y se redisuelvan en el medio de reacción. De acuerdo con esta teoría solamente las partículas con un tamaño superior al crítico son capaces de crecer y formar las partículas sólidas que finalmente se obtienen.

Aunque no se descarta que esa forma de razonamiento termodinámico sea válida en determinadas circunstancias, fundamentalmente para la preparación de partículas metálicas de tamaños mayores de 1-5 nm, sin embargo, ese planteamiento no es adecuado para la preparación de AQCs o clústeres atómicos, puesto que en este caso no tiene sentido hablar de conceptos termodinámicos clásicos como: presión de Laplace, núcleo crítico, etc., no teniendo por ello sentido hablar de redisolución de clústeres de tamaños menores a uno crítico.

Desde el punto de vista teórico, se predice desde hace tiempo que la estabilidad de los clústeres atómicos vendría determinada por otros factores, de los cuales el efecto de capa electrónica y/o atómica completa juega un papel fundamental [(a)Kreibig, U.; Vollmer, M. *Optical Properties*

of Metal Clusters (Springer-Verlag, Berlin, 1995); (b) Lee, H.M.; Ge, M.; Sahu, B.R.; Tarakeshwar, P.; Kim, K.S. *J.Phys.Chem. B* 2003, *107*, 9994]. Así, para átomos aislados, de acuerdo con el modelo "jellium" [*Metal Clusters*, edited by W. Ekardt (Wiley, New York,1999)], los clústeres de 2, 8, 18, ... átomos serían los más estables por poseer capas electrónicas completas. Por su parte, teniendo en cuenta la simetría atómica, clústeres aislados con simetría m-Dh [Barnett, R.N.; Cleveland, C.L.; Häkkinen, H.; Luedke, W.D.; Yannouleas, C.; Landman, U. *Eur. Phys. J. D* 1999, *9,* 95] presentarían una mayor estabilidad para 38, 75, 101, 146,.. átomos; mientras que clústeres aislados con simetría fcc [Schmid, G. *Chem. Rev.* 1992, *92,* 1709], presentarían mayor estabilidad para 13, 55, 147, 309, 561,...átomos. Estas predicciones han podido ser confirmadas tan solo en clústeres de vida muy corta obtenidos en fase gaseosa. La presencia de moléculas, especies químicas, cavidades y matrices sólidas puede introducir una estabilidad adicional, tal como se ha observado en diferentes casos particulares [véase por ej. Fojtik, A.; Henglein, A.; Jana, E. *J. Phys. Chem.* 1992, *96*, 8203].

Es conveniente indicar por último que, aunque existen algunos procedimientos específicos para obtener clústeres de un determinado tamaño y para algún metal determinado, como por ejemplo, el referenciado en la patente WO2004/003558 para obtener clústeres de Au, Ag, Cu o metales del grupo platino formados por 227 átomos de metal, o los descritos por G. Schmid [G. Schmid, Adv. Eng. Mat. 2001, 3, 737] para la preparación de $Au_{55}(PPh_3)_{12}Cl_6$, sin embargo, dichos clústeres solo son estables en presencia de agentes estabilizadores.

EXPLICACION DE LA INVENCION

El procedimiento objeto de la presente invención tiene como finalidad la producción de forma fácil y cuantitativa de AQCs (clústeres cuánticos de átomos de elementos metálicos), estables, funcionalizados y de tamaños controlados, de modo que es fácil y posible el escalado para la producción industrial de este tipo de nano/subnano-materiales.

De aquí en adelante, denominaremos a las partículas nano/subnanométricas formadas por elementos metálicos, M_n, en donde M representa cualquier metal, con n menor (<) de 500 átomos, es decir con un tamaño menor de unos 2 nm, como clústeres cuánticos atómicos y los representaremos por las siglas AQC, acrónimo que procede de su nombre inglés “atomic quantum clusters”.

Hay que destacar que, aunque la presente patente de invención se refiere únicamente a materiales formados por elementos denominados comúnmente metálicos, sin embargo muchos de ellos, debido a ese confinamiento cuántico a que hemos aludido y la consiguiente separación de los niveles energéticos, pueden no tener un carácter metálico sino semiconductor o aislante, dependiendo de su tamaño y de los ligandos a los que se encuentren unidos directamente los AQCs.

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporcionan clústeres cuánticos atómicos (AQCs) aislados y estables, caracterizados por estar compuestos por menos de 500 átomos de metal (Mn, n<500, tamaño < 2 nm), preferiblemente AQCs compuestos por menos de 200 átomos de metal (Mn, n<200, tamaño < 1.9 nm), más preferiblemente AQCs de tamaños menores de 1nm, aún más preferiblemente de entre más de 2 y menos de 27 átomos de metal (Mn, 2<n<27, es decir de entre aproximadamente 0.4nm y 0.9nm de tamaño) y aún más preferiblemente AQCs formados por entre 2 a 5 átomos metálicos y más concretamente de 2 ó 3 átomos (que se corresponde con un tamaño de entre 0,4 y 0,5 nm) .

En la presente invención, se entiende por AQCs estables, aquellas agrupaciones de átomos que conservan en el tiempo el número de átomos y, por lo tanto, sus propiedades, de forma tal que pueden ser aislados y manipulados como cualquier compuesto químico.

Estos AQCs se conservan en el tiempo horas incluso días sin necesidad de un aporte estabilizador externo.

En una realización preferida, los metales de los que están formados esos AQCs se seleccionan de entre Au, Ag, Co, Cu, Pt, Fe, Cr, Pd, Ni, Rh, Pb o

sus combinaciones bi y multimetálicas. Preferiblemente los metales de los AQCs se seleccionan de entre de Au y Ag ó sus combinaciones bimetálicas, debido a las fascinantes propiedades que presentan algunos clústeres específicos de estos metales, entre las que podemos citar: catálisis, propiedades citostáticas, etc. a las cuales se hará referencia posteriormente.

En otro aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento para la preparación de los AQCs descritos con anterioridad. Dicho procedimiento consiste en la reducción de la sal o ión metálico (o sales o iones metálicos), y está caracterizado por un control cinético para que se produzca lentamente la reducción de la sal ó ión metálico (sales ó iones metálicos), manteniendo simultáneamente una pequeña constante de velocidad y una baja concentración de reactivos.

En la presente invención, se entiende por baja concentración y pequeña constante de velocidad aquellos valores que conduzcan al sistema a través del mínimo de energía potencial de la correspondiente coordenada de reacción. A efectos prácticos, se entiende por concentraciones bajas, concentraciones del ión metálico y/o reductor (en su caso) inferiores a una concentración de 10^{-3} M; y por constantes de velocidad pequeñas a aquellas correspondientes a tiempos de vida de semi-reacción mayores de 1 segundo.

Por tanto, el procedimiento consta, como mínimo, de los siguientes pasos:

a. un control cinético para la reducción lenta, y

b. mantener una concentración baja de reactivos en el medio de reacción.

Hasta el momento presente, los métodos de preparación de clústeres/nanopartículas se basan en la teoría de nucleación-crecimiento. Según esta teoría, es necesario que la reacción de producción de nanopartículas/clústeres sea muy rápida al objeto de lograr una gran cantidad de núcleos. Una vez producida la nucleación, los núcleos crecen todos al unísono y de esa forma se logran obtener nanopartículas de tamaños muy monodispersos.

Aunque la teoría termodinámica de nucleación-crecimiento ha tenido un gran éxito para explicar la preparación de partículas monodispersas de tamaños micro y sub-micrométrico, sin embargo, se plantea la pregunta de hasta qué punto la formación de un clúster cuántico atómico de 3 ó 4 átomos por reacción química en disolución (por ejemplo, por reducción de una sal del ión metálico correspondiente mediante un reductor) puede considerarse como una nueva fase. De hecho, la formación de un clúster metálico de unos pocos átomos por reacción química en disolución es más parecida a los innumerables ejemplos que existen de formación de complejos químicos inorgánicos/organometálicos (o también a la formación de polímeros) a partir de sus reactivos y, sin embargo, en todos esos casos el complejo inorgánico (o el polímero, siempre que su peso molecular no sea demasiado elevado) no se asocia con la formación de una nueva fase termodinámica, sino con la formación de un nuevo compuesto químico "molecular" al que, por lo tanto, no se le puede asociar una energía superficial de Laplace. En ese caso, la formación del nuevo compuesto viene determinada por la cinética del propio proceso de obtención. Y ésta es precisamente la base en la que se fundamenta el procedimiento propuesto en la presente invención: la utilización del control cinético para la producción de AQCs (clústeres cuánticos atómicos) de tamaño controlado.

En la figura 1 se muestra un esquema representativo de la variación de energía libre que se pone en juego a lo largo de una reacción de formación de metales en disolución, a partir de sus iones metálicos. Los reactivos representan un ión metálico cualquiera en presencia de un reductor (o de un cátodo donde tiene lugar la reducción del ión metálico correspondiente). La reacción comienza con la formación de un AQC de 1 átomo (M_1), luego de dos (M_2), etc. hasta que finalmente se forman partículas sólidas del material metálico reducido (P). En la figura se representa el hecho de que a medida que el AQC va creciendo y se aproxima al tamaño de una partícula, P, (se considera partícula cuando el número de átomos del clúster atómico es elevado, del orden de n mayor de aproximadamente 500 átomos (n > aprox. 500 átomos), es decir, mayor de aproximadamente 2 nm, de modo que sus propiedades son diferentes de las de los clústeres de tamaño menor), entonces, las diferencias de energía entre los diferentes AQCs es menor. Es de destacar que el esquema es muy general y no indica el

hecho generalmente encontrado en la práctica de que los valles de potencial pueden ser diferentes (por ej. menores para un clúster más pequeño que otro más grande), así como también que las energías de activación pueden variar de unos clústeres a otros. Además, pueden existir otros caminos de reacción en donde un clúster con n átomos, M_n, se puede asociar a otro con m átomos, M_m, para dar uno mayor con n+m átomos, M_{n+m}. También hay que destacar que las diferencias de energías entre valles pueden ser suficientemente pequeñas como para que existan equilibrios entre algunos de los clústeres.

Por todo lo antes descrito, la presente invención se basa en la idea de que la cinética juega un papel decisivo en la formación de los AQCs (clústeres cuánticos atómicos) y que, controlando (ralentizando) convenientemente esa cinética se puede controlar la formación de AQCs específicos.

La formación de clústeres no está limitada ni al tipo de elemento metálico sintetizado ni al propio método electroquímico, por lo que cualquier otro método químico de reducción de sales metálicas en disolución puede ser utilizado para la producción de estos clústeres atómicos, siempre y cuando la reacción se ralentice suficientemente –tal como se especificará posteriormente- como para observar la evolución de los AQCs y detener la reacción (por ej. por enfriamiento, dilución y/o fijación/separación de los clústeres del medio de reacción) en el momento que interese un AQC de un tamaño determinado. Precisamente por este hecho la utilización de sistemas bifásicos/bicomponentes (agua/compuesto orgánico) o bifásicos/tricomponentes (como microemulsiones formadas por agua, compuesto orgánico y un detergente), en los que se puede disponer de una concentración muy pequeña de reactivos en la interfase agua/compuesto orgánico son especialmente apropiados para la preparación de clústeres en cantidades macroscópicas adecuadas para el escalado de la producción a nivel industrial.

Esto se puede entender de forma cualitativa suponiendo que una reacción es como si se deslizase una rueda por la curva de energía potencial representada en la figura 1. Cuando se utiliza una reacción rápida, la energía comunicada a dicha rueda es tan grande que supera los máximos que hay entre los diferentes valles y acaba cayendo a los valles más profundos (es decir, transformándose rápidamente en partículas P de gran

tamaño –mayores que 2-5 nm-). Por el contrario, la presente invención, basada en ralentizar la reacción supone comunicar una energía muy pequeña a la rueda. Ésta, por lo tanto, caerá inicialmente en el primer mínimo (clúster M_1) y sólo después de un tiempo apreciable irá cayendo sucesivamente en los siguientes mínimos correspondientes a AQCs mayores. Ese tiempo/tiempos que tarda el AQC en ir cayendo en los diferentes mínimos puede ser optimizado para dar tiempo a separar los AQCs obtenidos (por ej. por precipitación) o bien para estabilizarlos introduciendo un agente químico o molécula estabilizadora en el medio de reacción.

Conviene indicar que la introducción inicial en el medio de reacción de agentes estabilizadores puede hacer variar el mínimo del valle de potencial de alguno/s AQC/s. Su introducción inicial puede pues llevarse a cabo para favorecer un determinado tipo de AQCs y también para disponer de un mayor tiempo para la manipulación del AQC antes de su estabilización y funcionalización definitiva. En todo caso, su introducción no es imprescindible para el método que aquí proponemos y que seguimos describiendo a continuación.

Como se ha destacado anteriormente, es importante en el presente procedimiento de invención 1) ralentizar la reacción y 2) mantener una concentración baja de reactivos.

Por ello, una realización preferida de la presente invención, para ralentizar la reacción, es utilizar un reductor suave, que se selecciona de entre el grupo que comprende hipofosfito sódico, aminas, azúcares, ácidos orgánicos, polímeros (tales como la polivinilpirrolidona), radiación UV-VIS, ultrasonidos o corriente eléctrica.

Para el segundo punto de mantener concentraciones bajas de reactivos, se puede proceder de dos formas según que el medio de reacción sea mono o bifásico.

En el caso de utilizar un medio monofásico la forma preferible de proceder, es generar el ión metálico “in situ” en concentraciones muy bajas mediante la disolución anódica (preferiblemente a corriente constante) de un electrodo del metal correspondiente.

La segunda opción es utilizar un sistema bifásico (agua/compuesto orgánico) en el que la sal metálica se disuelve en el agua y se elige un reductor que solamente se disuelva en el compuesto orgánico (por ejemplo, pero sin limitarse, una amina, un tiol o un ácido, de cadena hidrocarbonada larga), de tal modo que la reacción sólo ocurre en la interfase y, por lo tanto, con una concentración local efectiva de reactivos muy pequeña.

En una realización preferida de la presente invención, se utilizan como compuestos orgánicos, entre otros, hidrocarburos saturados e insaturados, cíclicos, lineales o ramificados, tales como por ejemplo, pero sin limitarse, hexano, heptano, isooctano, ciclohexano; así como también benceno o tolueno.

En el caso de los sistemas bifásicos, al objeto de aumentar el rendimiento de la reacción, se puede aumentar la interfase agua-compuesto orgánico utilizando para ello microemulsiones formadas por agua, compuesto orgánico y un detergente que permiten al mismo tiempo mantener la concentración local de reactivos muy baja dentro de las nanogotas que forman la microemulsion. En este caso, como detergente podrían usarse tanto detergentes aniónicos, tales como sulfonatos alifáticos o aromáticos, por ejemplo, los derivados de los ácidos sulfocarboxílicos; detergentes catiónicos como por ejemplo bromuros o acetatos de alquilamonios; o detergentes no iónicos como por ejemplo los derivados del polioxietileno.

Al hacerse la reacción lenta, siguiendo alguno de los procedimiento descritos, se puede seguir la evolución de los clústeres y, una vez alcanzado el clúster del tamaño deseado, se puede proteger/estabilizar en el medio de reacción añadiéndole un agente estabilizador, que consiste en una molécula que contenga grupos orgánicos (tales como tioles, sulfuros, aminas, ácidos, tioéteres, fosfinas o aminoácidos, etc.) de acuerdo con el metal del que se quiera obtener el clúster.

La separación del clúster del medio de reacción puede hacerse por precipitación disminuyendo la temperatura y/o añadiendo un disolvente incompatible con el clúster aprovechando las diferentes propiedades de solubilidad que presentan los AQCs según su tamaño, así como también mediante su fijación aprovechando su diferente afinidad por lo grupos estabilizadores mencionados.

Para aplicaciones posteriores, se podría obtener el AQC funcionalizado. En ese caso el agente estabilizador ha de ser una molécula que ha de poseer, al menos, dos extremos con grupos químicos diferentes: un extremo con uno de los grupos ya citados para unirse al AQC y otro con cualquier otro grupo orgánico (de entre los que podemos citar: dobles y triples enlaces, grupos alcohólicos, grupos ácidos o grupos amina) para su interacción o unión posterior a otras moléculas o átomos para aplicaciones concretas

Así por ejemplo, se pueden preparar AQCs funcionalizados añadiendo dodecanotiol disuelto en pentano observándose la transferencia de los clústeres de la fase de acetonitrilo a la fase de pentano. La introducción de un tiol o tioéter soluble en agua, como por ejemplo, glutationa, tioglicol, tioacetico, etc. permite asimismo su funcionalización y transferencia al agua, pudiendo utilizarse luego una reacción adicional para unir los AQCs así funcionalizados a cualquier otra molécula, ión o sustrato para las aplicaciones finales requeridas de los AQCs.

Con objeto de identificar los AQCs para su separación y aislamiento se pueden utilizar, además de las diferentes propiedades de solubilidad y afinidad por los grupos estabilizadores que presentan los AQCs según su tamaño –como se acaba de mencionar-, también las diferentes propiedades ópticas, fluorescentes, vibracionales, redox, eléctricas y magnéticas que poseen estos clústeres. En efecto, se ha observado que estos AQCs presentan propiedades fluorescentes. El intervalo de fluorescencia varía entre el ultravioleta (para los clústeres menores, de 2-3 átomos), visible (para los clústeres entre 4-10 átomos) y el infrarrojo cercano (para clústeres mayores 10 átomos). Se ha observado asimismo que las bandas de fluorescencia son muy estrechas, tal como muestra la figura 17. Asimismo se han observado propiedades magnéticas en estos clústeres. La figura 18 muestra un ejemplo de dichas propiedades. Estas propiedades pueden ser aprovechadas para la construcción de sensores y biosensores fluorescentes y magnéticos.

En otro aspecto de la presente invención se describe el uso de los AQCs descritos con anterioridad, como agentes químicos reductores. Así se ha observado que clústeres de Au son capaces de reducir al azul de metileno

provocando la desaparición de la banda característica de la forma oxidada (655nm).

En otro aspecto de la presente invención se describe el uso de los AQCs descritos con anterioridad, como electrocatalizadores.

Estos clústeres son muy estables electroquímicamente de modo que el intervalo de potenciales de trabajo con dispersiones de estos clústeres está limitado por los valores de los potenciales de reducción y oxidación del medio en el que se encuentran dispersos. Así por ejemplo, se ha comprobado la estabilidad de los clústeres de Ag en TBAAc en el intervalo (–3.V a +1.8V). Su alta estabilidad electroquímica los hace apropiados para aplicaciones en diversos tipos de reacciones de electrocatálisis.

En una realización preferida, los AQCs presentan su actividad electrocatalítica en reacciones de reducción, que comprende entre otras, la reducción del oxigeno y/o la del peróxido de hidrógeno.

Se han sintetizado dispersiones estables de clústeres de Ag, Au, Pt, Cu que poseen propiedades catalíticas. Dichas propiedades surgen como consecuencia del enorme poder reductor que poseen los clústeres metálicos de unos pocos átomos M_n (n< 50-100).

La gran afinidad electrónica de los clústeres produce fuertes interacciones con los electrones de otros átomos incluso de los mas electronegativos como por ejemplo los halógenos o el oxigeno, debilitando los enlaces covalentes que forman estos átomos en moléculas estables. Así por ejemplo, los clústeres de plata y de oro son capaces de adsorber oxigeno gas contribuyendo a la disociación de la molécula y en consecuencia, rebajando la energía necesaria para su electroreducción. En el ejemplo 3 se comprueba ampliamente este hecho.

En otra realización preferida, los AQCs presentan su actividad electrocatalítica en reacciones de oxidación de alcoholes.

Otro aspecto de la presente invención proporciona el uso de los AQCs descritos con anterioridad para la elaboración de fármacos anticancerígenos por sus propiedades citostáticas y/o citotóxicas.

Estas propiedades de los AQCs se demuestran aquí particularmente

mediante ensayos *in vitro* realizados con células de cáncer de mama.

En la presente invención todos los términos técnicos y científicos tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la materia a la que la invención pertenece. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

FIGURA 1

En la figura 1 se muestra un esquema representativo de la variación de energía libre que se pone en juego a lo largo de una reacción de formación de metales en disolución, a partir de sus iones metálicos. Los reactivos representan un ión metálico cualquiera en presencia de un reductor (o de un cátodo donde tiene lugar la reducción del ión metálico correspondiente). M_1 se refiere a un AQC de 1 átomo, M_2 de dos , etc. y P se refiere a las partículas sólidas del material metálico reducido .

FIGURA 2

En la Figura 2 se observa el espectro característico de los AQCs de Au obtenidos por precipitación y estabilizados con dodecanotiol.

FIGURA 3

En la Figura 3 se muestra una microscopía electrónica de transmisión de agrupaciones de los AQCs de Au sintetizados. Hay que destacar que los tamaños observados por microscopía (muy polidispersos y mayores que aprox. 1-2 nm) no corresponden realmente a partículas de Au sino a agrupaciones de AQCs.

FIGURA 4

En la Figura 4 se muestran las medidas realizadas por espectrometría de masas por tiempo de vuelo.

FIGURA 5

La Figura 5 muestra el espectro UV-VIS de los AQCs de mayor tamaño, tanto de los inicialmente dispersos en el líquido de reacción, como de los obtenidos por precipitación, protegidos por dodecanotiol, y redispersos nuevamente en cloroformo.

FIGURA 6

La Figura 6 muestra una fotografía de microscopia electrónica de las mezclas de AQCs de Au_{12} y Au_{21}, que se forman por unión de 4 y 7 clústeres de Au_3.

FIGURA 7

En la Figura 7 se muestra el espectro UV-VIS de AQCs de Ag sintetizados según el ejemplo 2.

FIGURA 8

En la Figura 8 se observa una fotografía de microscopía electrónica de los AQCs de Ag sintetizados según el ejemplo 2.

FIGURA 9

Esta Figura muestra el espectro UV-Vis de AQCS de Ag transcurridos 5 días después de la síntesis.

FIGURA 10

Esta Figura muestra el espectro UV-Vis de AQCs de Ag transcurridos 13 días después de la síntesis.

FIGURA 11

Esta Figura muestra una fotografía de microscopia electrónica de la muestra de AQCs de Ag transcurridos 13 días después de la síntesis.

FIGURA 12

Voltametrías cíclicas (E_{inic}= +1V) de TBAAc 0.1M, saturadas de O_2. Electrodo de trabajo: Pt policristalino, a 25ºC, velocidad de. barrido 20mV/s.

(a) en ausencia, (b) en presencia de clusters dispersos en el electrolito soporte.

FIGURA 13

Voltametrías lineales en disoluciones acuosas de H_2O_2 en ácido perclórico 0.5M. Electrodo de trabajo: carbono vítreo (a) en ausencia, (b) en presencia de clústeres depositados sobre carbono vítreo. Como comparación se muestra una voltametria de carbono vitreo en ácido perclórico 0.5M.

FIGURA 14

Voltametrías cíclicas ($E_{inic.}$= +0.1V) en una disolucion acuosa de MeOH 1M y NaOH 1M. Electrodo de trabajo: Pt policristalino sin y con clústeres de Ag depositados. T=25ºC, velocidad de barrido 20mV/s. Como referencia se muestra asimismo la respuesta del Pt en NaOH (linea continua)

Línea triángulos: MeOH/NaOH (Pt modificado)

Línea círculos: MeOH/NaOH (Pt sin modificar)

Línea continua: NaOH (Pt sin modificar)

FIGURA 15

Esta figura (NP 0,1 y NP 0,2) muestra la absorbancia (proporcional a la concentración de células) en función de la concentración de clústeres de Ag añadidos. Como referencia se muestra la absorbancia correspondiente a las células sin tratamiento. Los resultados se comparan con el efecto del disolvente puro y de la puromicina. Las distintas barras muestran los resultados obtenidos a distinto número de horas (0, 24 y 48 horas).

FIGURA 16

Esta figura (NP 45 y NP 46) muestra la absorbancia (proporcional a la concentración de células) en función de la concentración de clústeres de Au añadidos. Como referencia se muestra la absorbancia correspondiente a las células sin tratamiento. Los resultados se comparan con el efecto del disolvente puro y de la puromicina. Las distintas barras muestran los resultados obtenidos a distinto número de horas (0, 24 y 48 horas).

FIGURA 17

Espectro de fluorescencia de clústeres de Ag_n (con n = 2,3) para distintas longitudes de excitación.

FIGURA 18

Espectro de EPR (Resonancia Paramagnética Electrónica) muestra la resonancia paramagnética con estructura hiperfina en clústeres de Ag_n con n=5, a dos temperaturas diferentes.

EXPOSICION DETALLADA DE MODOS DE REALIZACIÓN

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores.

EJEMPLO 1

Síntesis de AQCs de Au

La síntesis de AQCs de Au se llevó a cabo en una celda electroquímica, mediante una potenciometría galvanostática, aplicando una densidad de corriente constante de 10 mA/cm^2 durante 1000 s, en las siguientes condiciones experimentales:

- Electrodo de trabajo: Pt (2.5 cm^2)
- Contraelectrodo: Au (el metal del que estaban formados los AQCs)
- Electrodo de referencia: Ag/AgCl
- Disolución electrolítica y agente estabilizador: 0.1 M en bromuro de tetrabutil amonio en acetonitrilo.
- Temperatura: 25ºC
- Atmósfera inerte de Nitrógeno

Tras la síntesis, los AQCs obtenidos inicialmente de color marrón (AQCs de 1-2 átomos, tal como se verá más adelante), se trasvasaron a un erlenmeyer, observándose que después de 2 horas adquirían un color amarillo, apareciendo un precipitado depositado en el fondo. La

precipitación de los AQCs ocurrió por la solubilidad limitada de los mismos en el medio de reacción.

Estos AQCs, predominantemente de 3 átomos, separados por precipitación son mucho más estables que los de 1-2 átomos, (al menos en las condiciones experimentales utilizadas), pues aún sin protección adicional permanecieron estables durante 5 meses a temperatura ambiente.

Una vez obtenidos, los clústeres se pueden funcionalizar. Así por ej. se prepararon AQCs funcionalizados añadiendo dodecanotiol disuelto en pentano observándose la transferencia de los clústeres de la fase de acetonitrilo (que se volvió transparente) a la fase de pentano (que se volvió amarilla).

En la Figura 2 se observa el espectro característico de los AQCs de Au obtenidos por precipitación y estabilizados con dodecanotiol.

En la Figura 3 se muestra una microscopía electrónica de transmisión de agrupaciones de los AQCs de Au sintetizados. Hay que destacar que los tamaños observados por microscopía (muy polidispersos y mayores que aprox. 1-2 nm) no corresponden realmente a partículas de Au sino a agrupaciones de AQCs. El pequeño tamaño de éstos hace que no sea posible su observación directa por microscopía electrónica y únicamente se puede observar su presencia por la aparición de una nube negruzca como fondo de la rejilla del microscopio, juntamente con la formación de agrupaciones (cúmulos) de estos AQCs de tamaños muy diferentes que se observan como zonas más negras en la rejilla. El hecho de que las zonas más oscuras no corresponden a partículas, es asimismo corroborado por la ausencia de la banda plasmónica que debería ser visible en el caso de que no se tratara de agrupaciones de AQCs sino de partículas de tamaños nanométricos. Por su parte, medidas realizadas por espectrometría de masas por tiempo de vuelo (figura 4) permitieron determinar claramente que los clústeres así obtenidos estaban formados predominantemente por clústeres de 3 átomos que presentan la fórmula estequiométrica $Au_3(C_{12}H_{27}S)_3$ como lo demuestra la presencia del pico de masa mayor más importante situado a 1200 uma. Se observa en este caso que el clúster de Au_3 está protegido perfectamente con el dodecanotiol utilizado,

en el que el dodecanotiol ha perdido los hidrógenos del grupo SH al unirse directamente al clúster de Au_3.

El hecho de que este clúster sea un Au_3 indica que los clústeres obtenidos inicialmente (de color marrón), precursores del presente AQC de 3 átomos, están formados por 2 átomos. Se observa que, aún sin proteger, esos clústeres de 2 átomos (Au_2) son estables en el medio de reacción durante aproximadamente 2 horas. Ese tiempo sería suficiente para su precipitación, aislamiento y posterior protección y/o funcionalización.

Los AQCs de Au_3 sin proteger (en ausencia de tiol) eran estables en esas condiciones durante varios meses. Al cabo de 5 meses se observó la evolución de esos AQCs hacia la formación de otros AQCs de mayor tamaño, fácilmente observable por el cambio de color de amarillo a rojo a simple vista. Esos nuevos AQCs de mayor tamaño precipitaron (por su menor solubilidad, ya que ésta disminuye a medida que aumenta el tamaño del AQC, debido a la disminución de la entropía de mezcla). La precipitación puede asimismo favorecerse decreciendo la temperatura. Así por ejemplo, se observó la formación de un precipitado rojo apreciable a partir de una alícuota de la disolución de los AQCs al ponerla a 0ºC.

La figura 5 muestra el espectro UV-VIS de estos últimos AQCs de mayor tamaño, tanto de los inicialmente dispersos en el líquido de reacción, como de los obtenidos por precipitación, protegidos por dodecanotiol, y redispersos nuevamente en cloroformo. Las nuevas bandas que aparecen a 410 nm y 520 nm son indicativas de la existencia de mezclas de AQCs de Au_{12} y Au_{21}, que se forman por unión de 4 y 7 clústeres de Au_3, respectivamente. La figura 6 muestra una fotografía de microscopia electrónica de estos AQCs. De nuevo, por el pequeño tamaño de los mismos, sólo se observa un fondo negruzco, así como en algunas partes manchas más oscuras de diferentes tamaños provenientes de la formación de agrupaciones más densas de estos AQCs.

Conviene indicar, por último, que los valores de los parámetros experimentales señalados en este ejemplo, tales como la densidad de corriente, el tipo de cátodo empleado, la temperatura, el tipo y la concentración de electrolito de fondo, son solamente indicativos, a modo de

ejemplo. Otros valores de densidades de corriente, elementos utilizados para el cátodo, temperaturas y tipos y concentraciones del electrolito de fondo, así como agente protector, pueden ser también utilizados para el mismo propósito siempre que se mantenga una concentración suficientemente pequeña de iones metálicos en el medio de reacción como para que la reacción transcurra por el mínimo de energía potencial.

EJEMPLO 2

Síntesis de AQCs de Ag.

La síntesis de AQCs de Ag se realizó utilizando microemulsiones de agua/AOT/isooctano (AOT= aerosol OT = bis 2 etil-hexil sulfosucinato de sodio) en las siguiente condiciones experimentales:

- Relación $w_o = [H_2O]/[AOT] = 6$
- Disolución de AOT en isooctano: 0,1M
- Disolución acuosa de $AgNO_3$: 0,1M
- Disolución acuosa $NaH_2PO_2.H_2O$: 1M
- Temperatura: 25ºC

La síntesis se llevó a cabo mezclando dos microemulsiones, una con el reductor y otra con la sal de plata. La microemulsión de sal de plata se preparó por adición de 0,54 mL de la disolución acuosa de $AgNO_3$ a la de AOT en isooctano, mientras que la del reductor se obtuvo añadiendo 0,54 mL de la disolución acuosa del reductor hipofosfito sódico a la de AOT en isooctano.

En condiciones de agitación se llevó a cabo la adición de la microemulsión de $AgNO_3$ sobre la microemulsión reductora manteniendo el goteo constante durante 50 minutos. Al finalizar dicha adición la mezcla presentaba un color amarillo que adquiere mayor intensidad con el paso de tiempo llegando a ser negruzco por aumento de la concentración de los AQCs, como se puede deducir porque al diluir la muestra presenta nuevamente color amarillo oro. En la figura 7 se muestra el espectro UV-VIS de los AQCs de Ag sintetizados. La presencia de una única banda situada en torno a los 220 nm indica que el tamaño de estos clústeres es

de 2 átomos. En la figura 8 se observa una fotografía de microscopía electrónica de los AQCs de Ag. De nuevo ocurre igual que con los AQCs de Au: sólo se observa una mancha grisácea a la que se superponen algunas agrupaciones de dichos AQCs. Los AQCs así obtenidos evolucionaron al cabo de varias horas con la formación de un nuevo clúster de 4 átomos asociado con la presencia de una banda situada en torno a los 260 nm.

Estos clústeres de Ag_4, sin protección adicional, eran estables a temperatura ambiente, al menos durante 5 días (la estabilización se debe en este caso a la presencia del surfactante AOT), al cabo de los cuales evoluciona a la formación de un clúster Ag_{12} como se observa por la aparición de una nueva banda situada en torno a los 400 nm, tal como se muestra en la figura 9. A su vez, estos nuevos clústeres de Ag_{12}, sin protección adicional, permanecen estables durante 12-13 días a temperatura ambiente. Al cabo de ese tiempo los clústeres de Ag_{12} evolucionan a la formación de AQCs mayores, lo que se observa por el cambio de color a grisáceo, que se corresponde con la disminución de la banda a 400 nm y la aparición de una banda más ancha a longitudes mayores, tal como se muestra en la figura 10. La figura 11 muestra una fotografía de estos últimos AQCs que, como se puede observar siguen siendo mucho más pequeños que 1 nm, por lo que solamente se aprecian como una mancha gris sobre la rejilla en la que fueron depositados. Al igual que ocurría con los AQCs de Au, si no se estabilizaban y/o se separaban (por ej. por precipitación) los AQCs seguían creciendo alcanzando sucesivamente tamaños mayores. Finalmente se alcanzó el tamaño de nanopartículas, clústeres mayores de aprox. 500 átomos, observándose finalmente la aparición de la banda plasmónica que nos indicaba la desaparición de los efectos cuánticos de tamaño y la formación de partículas de tamaños superiores a aprox. 1 - 2 nm.

Conviene indicar finalmente que en este ejemplo tanto los parámetros experimentales utilizados, como el tipo de anfífilo, la relación de concentraciones $[H_2O]/[\text{detergente}] = w_o$, el volumen de la fase dispersa, el disolvente orgánico utilizado, la temperatura y concentración de los reactivos, son solamente indicativos a modo de ejemplo. Asimismo, tal como se comentó en la descripción del método de invención, este método

no está restringido únicamente a clústeres monometálicos, obteniéndose también clústeres multimetálicos siguiendo el mismo procedimiento. Así, en el presente ejemplo, sustituyendo en el medio de reacción inicial la disolución acuosa de Ag por una mezcla de sales de Ag y Au y/o Cu y/o Co y/o Pt y/o Fe y/o Cr y/o Pd y/o Ni y/o Rh y/o Pb se obtienen clústeres formados por combinaciones bi o multimetálicas dependiendo del número y concentración de los iones metálicos utilizados.

EJEMPLO 3

Actividad electrocatalítica de los clústeres metálicos en la reducción del oxigeno.

Se comprobó la actividad electrocatalítica de los clústeres metálicos comparando la respuesta voltamétrica en la reducción de oxígeno.

El siguiente esquema ilustra la actividad electrocatalítica de los clústeres metálicos en la reducción del oxigeno:

$M_{clus} + O_2 \Leftrightarrow M_{clus}\text{--}(O\text{----}O)_{ad} \overset{e^-}{\Leftrightarrow} M_{clus}$ + productos de reacción

Esta reacción se llevó a cabo en disoluciones de acetonitrilo, utilizando un microelectrodo de Pt policristalino (diámetro = 0,5mm) como electrodo de trabajo, un contraelectrodo de Pt y un alambre de Ag como pseudoreferencia (E=0.13V vsNHE).

La figura 12 muestra el comportamiento en voltametría cíclica de la electrorreducción de O_2 a concentración de saturación, en disoluciones de acetato de tetrabutil amonio (TBAAc) 0.1M.; en ausencia curva (a) y en presencia curva (b), de clústeres de plata, Ag_n (n=3, 4).

Se comprobó, tal y como se observa en la figura 12, que, en presencia de clusteres, se produce un fuerte aumento de la corriente en torno a – 0.7V, lo que significa que los clústeres de Ag utilizados son catalizadores más efectivos que el Pt, el cual es el catalizador mas activo que se conoce en la electroreducción de oxígeno.

EJEMPLO 4

Actividad electrocatalítica de los clústeres metálicos en la reducción de peróxido de hidrógeno, H_2O_2.

Se ha comprobado el efecto electrocatalítico de clústeres de Ag en la electroreducción de H_2O_2 realizando medidas en disoluciones libres de O_2 conteniendo H_2O_2 como única especie susceptible de reducción. La figura 13 muestra voltametrías lineales de barrido en disolución acuosa conteniendo H_2O_2 0.024M y ClO_4H 0,5M. Para las medidas se empleó como electrodo de trabajo carbono vítreo (curva a) y carbono vítreo modificado con clústeres de plata, Agn (n=3,4) (curva b). Como contraelectrodo se utilizó hilo de Pt. Los potenciales están referidos al electrodo de Ag/ClAg (saturado). En dicha figura se observa, a partir de -0.15V, un aumento de la corriente de reducción de H_2O_2 en la curva b (presencia de clústeres de Ag) respecto de la curva a (ausencia de clústeres); en la ampliación se puede apreciar que dicho aumento es en torno a un 7 % para E =-0.45V.

Se comprobó que estos clústeres presentan una actividad catalítica mayor que la de las nanopartículas de Ag.

EJEMPLO 5

Actividad electrocatalítica de los clústeres metálicos en la oxidación de alcoholes.

Se comprobó la actividad electrocatalítica de los clústeres metálicos en la oxidación de alcoholes, y más concretamente el uso de clústeres de Ag en la oxidación de metanol. Dicha oxidación se produce en el intervalo de 0V a +1V. Para comprobar dicho efecto, los clústeres de Ag, dispersos en acetonitrilo, se depositaron sobre Pt policristalino. Después de comprobar su estabilidad en el electrolito soporte, es decir, la ausencia de picos redox, (hasta E=+1.2V) de los clústeres así depositados, se trasladó el electrodo modificado a una disolución acuosa de metanol 1M conteniendo 0.1M de NaOH. Los resultados se pueden observar en la figura 14, en donde se aprecian tres picos de oxidación (A,B,C) en el barrido anódico, que corresponden a la oxidación del metanol sobre clusters de diferente

tamaño. Puede observarse asimismo el aumento final de la corriente de oxidación debida a la presencia de los clústeres depositados sobre Pt (Pt modificado).

Se comprueba así que los clústeres son catalizadores más efectivos en la oxidación de alcoholes que el Pt.

EJEMPLO 6

Ensayos de toxicidad mediante MTT.

Se evaluó la toxicidad de clústeres de Au y Ag sobre cultivos de las líneas MCF7, de cáncer de mama, que se realizaron mediante estudios de viabilidad celular con la sal de metil-tiazol-tetrazolium (MTT).

Se sembraron 4 x 10^3 células / pocillo en placas de 96 pocillos en un volumen total de 100 µL / pocillo. Se dejaron estabilizar las células durante 24 horas, se retiró el medio inicial y se sustituyó por 100 µL de medio con los tratamientos ensayados. Tras el tiempo de exposición, que varió entre 24 y 48 horas, se procedió al ensayo MTT.

Se añadieron 10 µL de sustrato MTT y a las 4 horas de incubación se añadieron 100 µL / pocillo de la solución de lisis: 10 % de SDS en HCl 10 mM. Tras lisar las células durante toda la noche se procedió a la lectura de la absorbancia a 550 nm en un Microplate Reader Model 550 (Bio-Rad).

Resultados:

6a) En la Figura 15 se muestran los resultados al añadir disoluciones de clústeres de Ag preparados electroquímicamente según el ejemplo primero y dispersos en agua (muestras NP 0,1 y NP 0,2 correspondientes a clústeres de 2-5 átomos y 6-15 átomos, respectivamente). Se pueden observar claramente los efectos citostáticos de los clústeres para concentraciones superiores a 1µM. Estos efectos son comparables a los de un citostático utilizado habitualmente como es la Puromicina. Se observa además que el efecto citostático es diferente según el tipo de clústeres, pues la muestra NP 0,2 es más efectiva, aunque en este caso se observa una cierta citotoxicidad, como se puede ver por la disminución del número de células iniciales (disminución de la absorbancia inicial).

6b) En la figura 16, se muestran los resultados al añadir disoluciones de clústeres de Au preparados electroquímicamente según el ejemplo primero (muestras NP 45 y NP 46, correspondientes a clústeres de 2-5 átomos y 6-15 átomos, respectivamente). Se pueden observar claramente los efectos citostáticos de los clústeres para concentraciones superiores a 10 nM (muestra NP45) y 100 nM (muestra NP46). Estos efectos son comparables a los de un citostático utilizado habitualmente como es la Puromicina. Se observa además que el efecto citostático es diferente según el tipo de clústeres, pues la muestra NP46 es más efectiva, aunque también es mucho mayor su citotoxicidad, como se puede ver por la gran disminución del número de células iniciales (disminución de la absorbancia inicial).

REIVINDICACIONES

1. Clústeres cuánticos atómicos, AQCs, estables caracterizados por estar compuestos por menos de 500 átomos de metal (Mn, n<500).
2. AQCs según la reivindicación 1, caracterizados por estar compuestos por menos de 200 átomos de metal (Mn, n<200).
3. AQCs según la reivindicación 2, caracterizados por estar compuestos de entre más de 2 y menos de 27 átomos de metal (Mn, 2<n<27).
4. AQCs según la reivindicación 3, caracterizados por estar compuestos de entre 2 a 5 átomos metálicos.
5. AQCs según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde los metales se seleccionan de entre Au, Ag, Co, Cu, Pt, Fe, Cr, Pd, Ni, Rh, Pb o sus combinaciones bi y multimetálicas.
6. AQCs según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el metal es Au o Ag o sus combinaciones.
7. Procedimiento para la obtención de los clústeres cuánticos atómicos (AQCs) de las reivindicaciones 1 a 6, por reducción de la sal ó ión metálico (sales ó iones metálicos), caracterizado por:
   a. un control cinético para una reducción lenta, y
   b. mantener una concentración baja de reactivos en el medio de reacción.
8. Procedimiento según la reivindicación 7 donde para obtener el control cinético se utilizan reductores suaves.
9. Procedimiento según la reivindicación 8 donde los reductores suaves se seleccionan de entre el grupo consistente en hipofosfito sódico, aminas, azúcares, tioles, ácidos orgánicos, polímeros, radiación UV-vis, ultrasonidos o corriente eléctrica.
10. Procedimiento según la reivindicación 9 donde se utiliza como reductor suave la corriente eléctrica (reducción electroquímica).
11. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10 donde la concentración de reactivos es menor de 10^{-3}M.

12. Procedimiento según reivindicación 11 donde para mantener la concentración de reactivos, el medio de reacción comprende medios monofásicos o bifásicos.

13. Procedimiento según la reivindicación 12 donde los sistemas bifásicos están formados por agua, en la que se disuelve la sal metálica, y un compuesto orgánico, en el que se disuelve el reductor.

14. Procedimiento según la reivindicación 13 donde los compuestos orgánicos se seleccionan del grupo que comprende hidrocarburos saturados e insaturados, cíclicos, lineales o ramificados, así como benceno o tolueno.

15. Procedimiento según la reivindicaciones 13 y 14 que comprende además de agua y un compuesto orgánico, un detergente.

16. Procedimiento según la reivindicación 15 donde el detergente se elige de entre grupo que comprende detergentes aniónicos, catiónicos o no iónicos.

17. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 16 que incluye la separación de los AQCs sintetizados mediante su precipitación selectiva, una vez alcanzado el tamaño deseado del clúster.

18. Procedimiento según las reivindicaciones 7 a 17 donde se añaden al medio de reacción agentes estabilizadores.

19. Procedimiento según las reivindicación 18 donde los agentes estabilizadores se eligen de entre las moléculas que posean grupos susceptibles de enlazar con los AQCs.

20. Procedimiento según la reivindicación 19 donde los agentes estabilizadores, se eligen de entre el grupo consistente en tioles, sulfuros, aminas, ácidos, tioéteres, fosfinas o aminoácidos.

21. Procedimiento según la reivindicación 20 donde los agentes estabilizadores poseen, al menos, dos extremos con grupos químicos diferentes: uno para enlazar con los AQCs y otro con un grupo funcional orgánico.

22. Procedimiento según la reivindicación 21 donde el grupo funcional

orgánico se elige del grupo que comprende alcoholes, ácidos, aminas, alquenos o alquinos.

23. Uso de los clústeres (AQCs) de las reivindicaciones 1 a 6, como sensores y biosensores fluorescentes

24. Uso de los clústeres (AQCs) de las reivindicaciones 1 a 6, como sensores y biosensores magnéticos

25. Uso de los clústeres (AQCs) de las reivindicaciones 1 a 6, como agentes redox

26. Uso de los clústeres (AQCs) de la reivindicaciones 1 a 6, como electrocatalizadores.

27. Uso según reivindicación 23 donde los AQCs actúan en una reacción de reducción.

28. Uso según reivindicación 24 donde los AQCs actúan en la reducción del oxigeno ó del peroxido de hidrogeno.

29. Uso según reivindicación 23 donde los AQCs actúan en una reacción de oxidación.

30. Uso según reivindicación 26 donde los AQCs actúan en la oxidación de alcoholes.

31. Clústeres (AQCs) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso como citostáticos ó citotóxicos.

32. Uso de los clústeres (AQCs) de las reivindicaciones 1 a 6 en la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

FIGURA 1

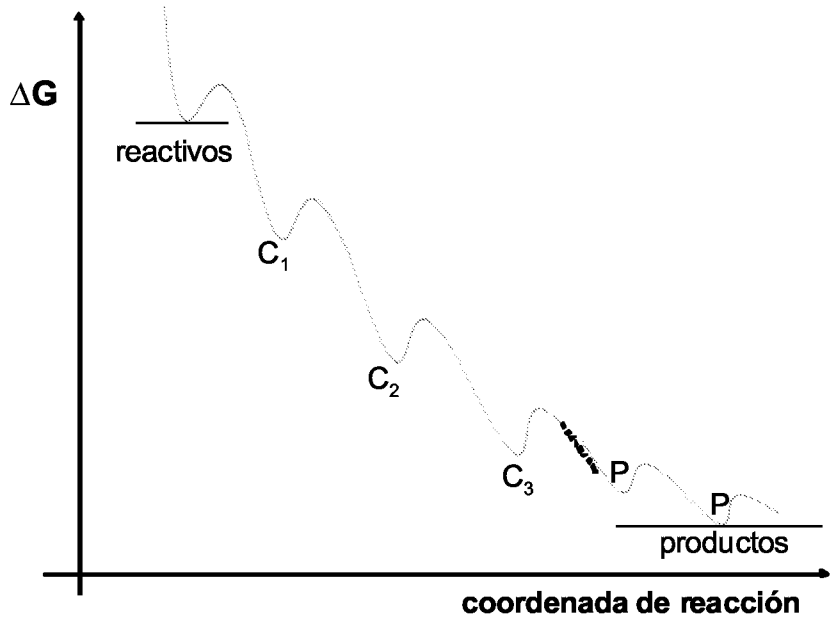


FIGURA 2

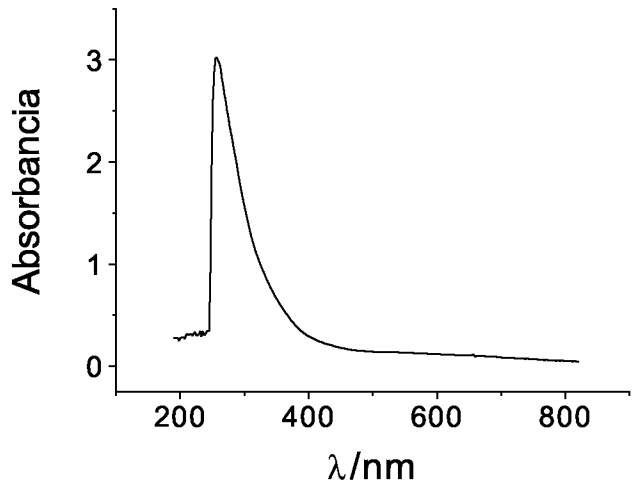


FIGURA 3

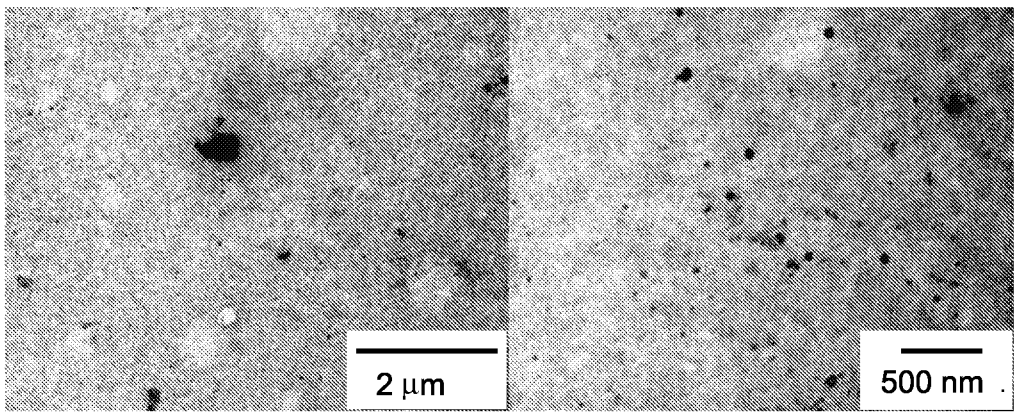


FIGURA 4

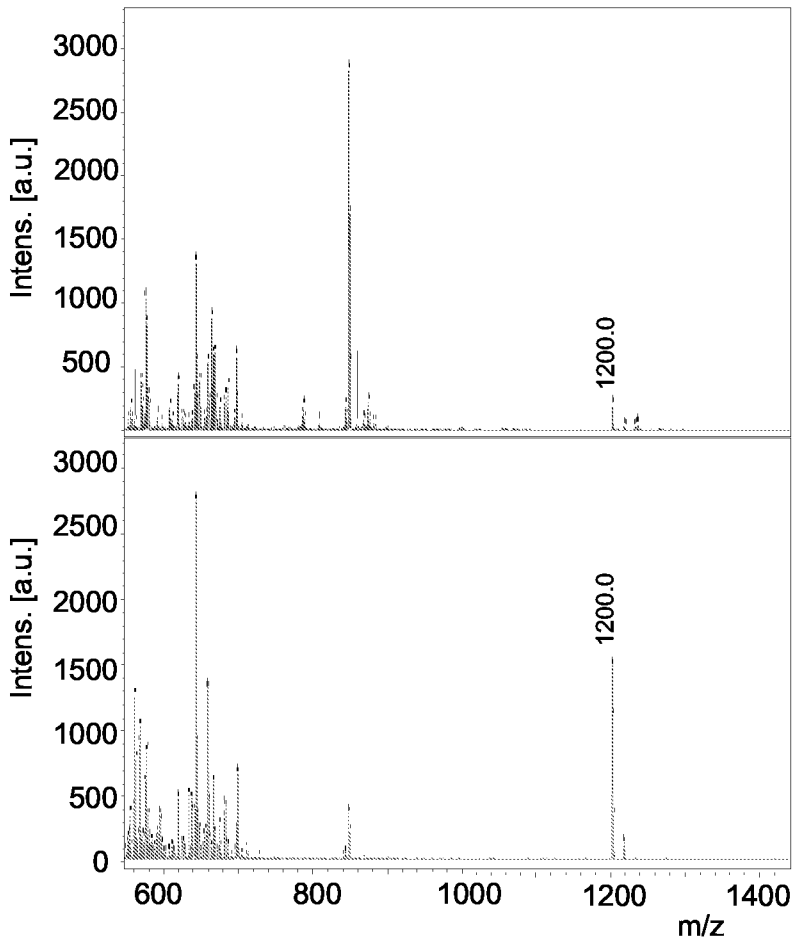


FIGURA 5

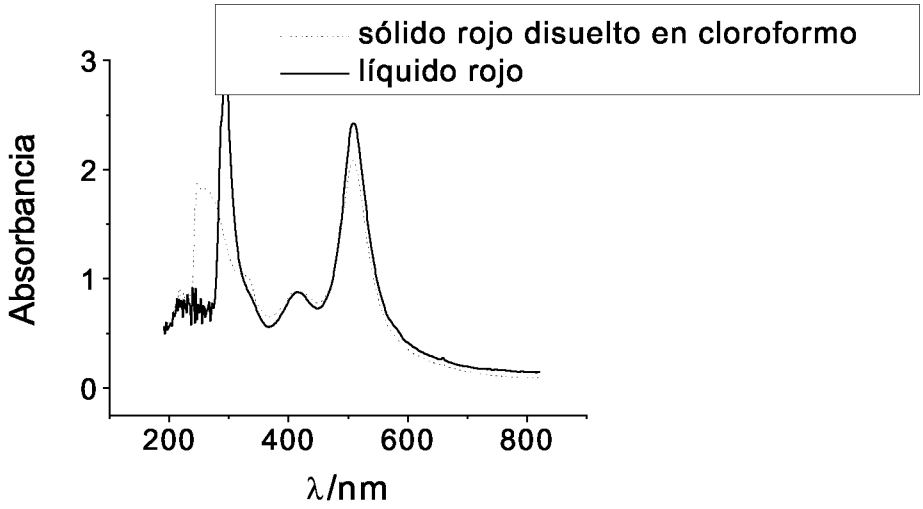


FIGURA 6

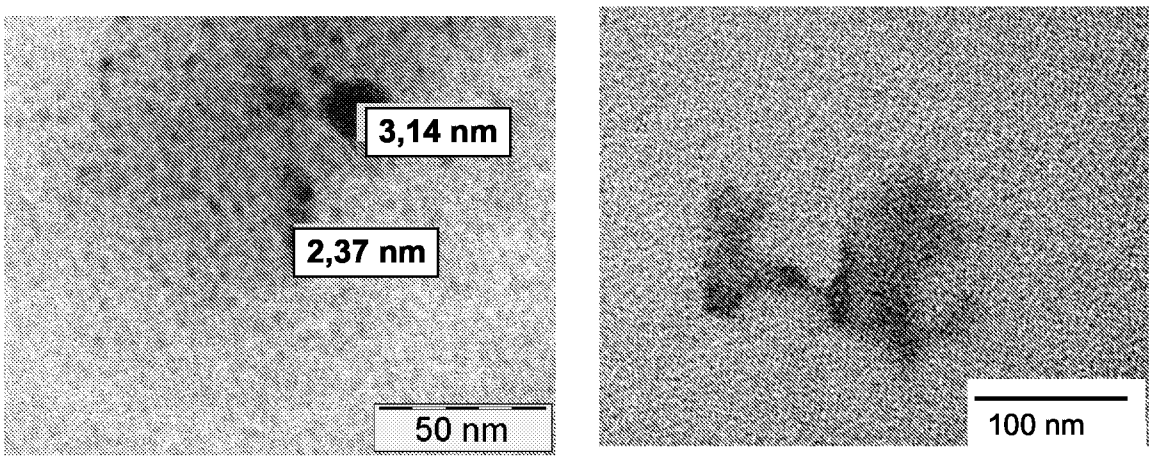


FIGURA 7

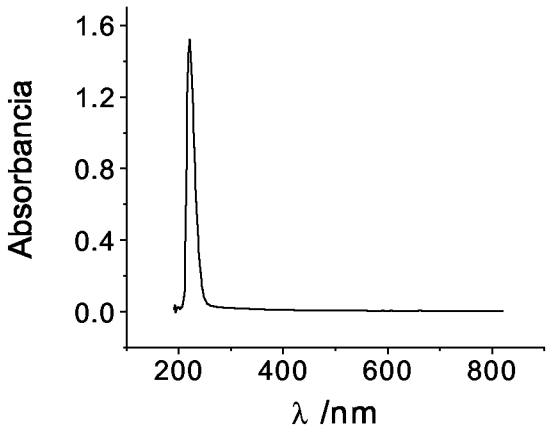


FIGURA 8

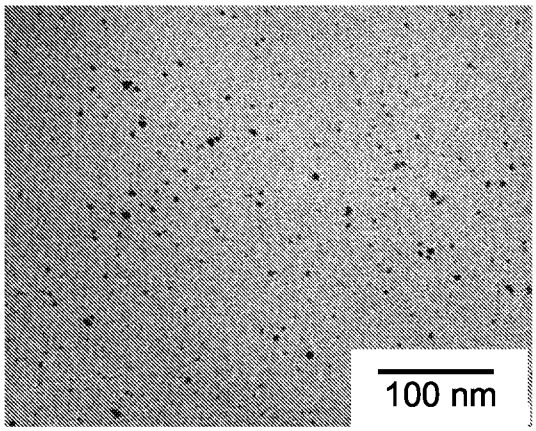


FIGURA 9

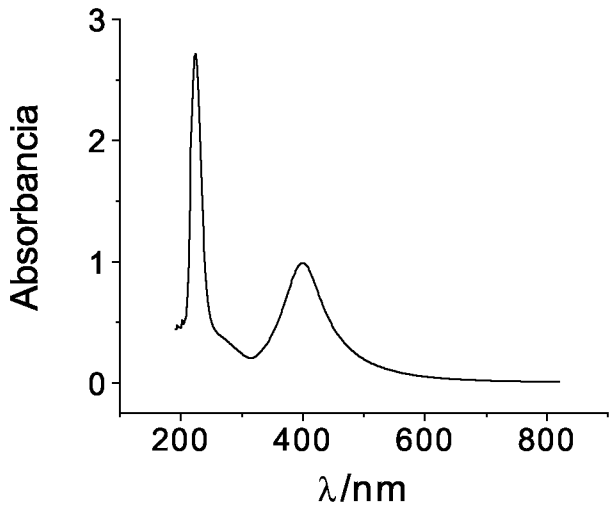


FIGURA 10

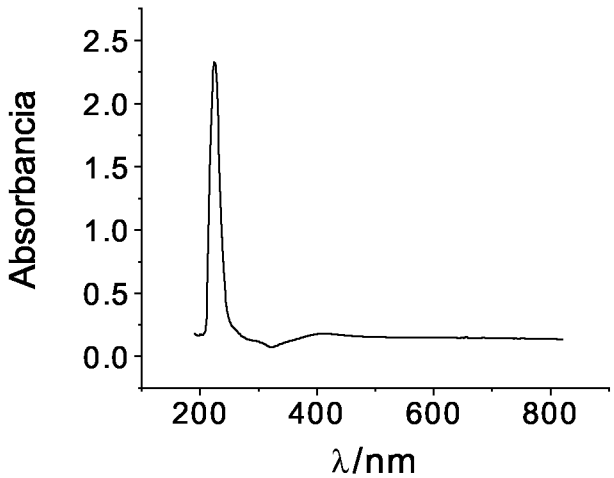


FIGURA 11

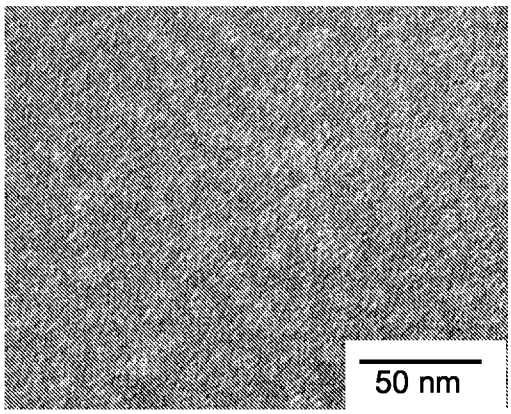


FIGURA 12

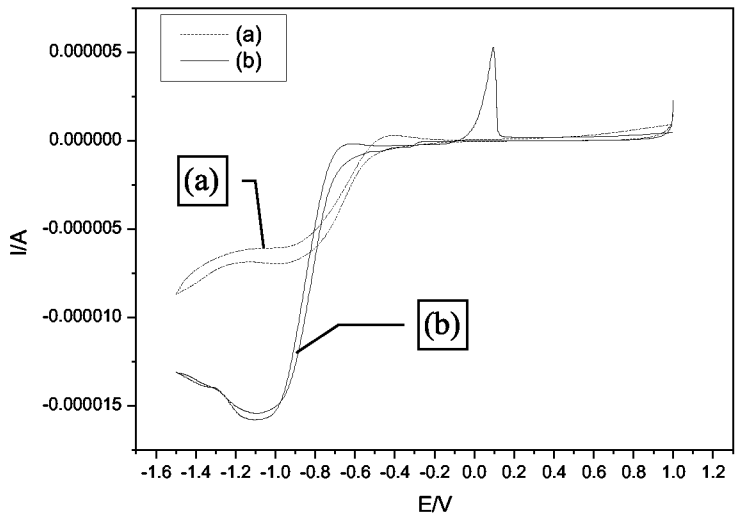
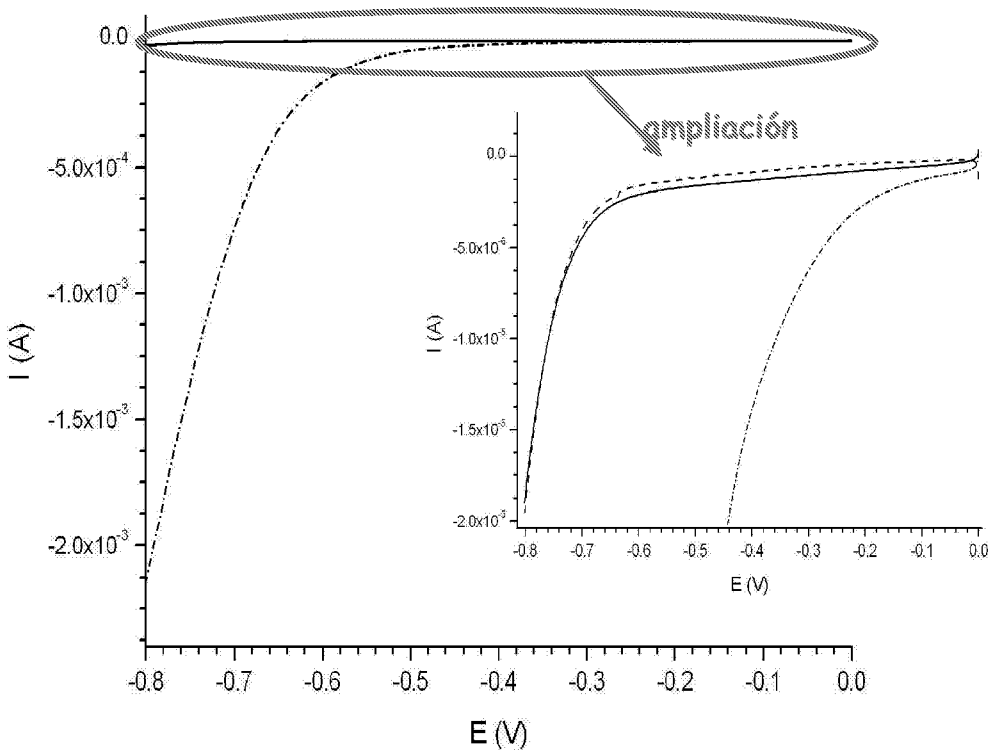


FIGURA 13



Todas las experiencias están realizadas en atmósfera de nitrógeno
——— Electrodo de carbono vítreo
– – – Electrodo de carbono vítreo - en H_2O_2 - **Curva A**
-·-·- Electrodo de carbono vítreo modificado - en H_2O_2 - **Curva B**

FIGURA 14

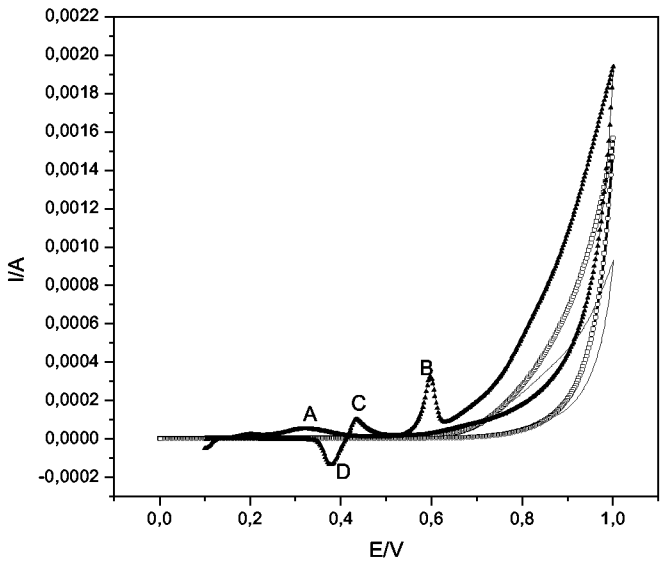
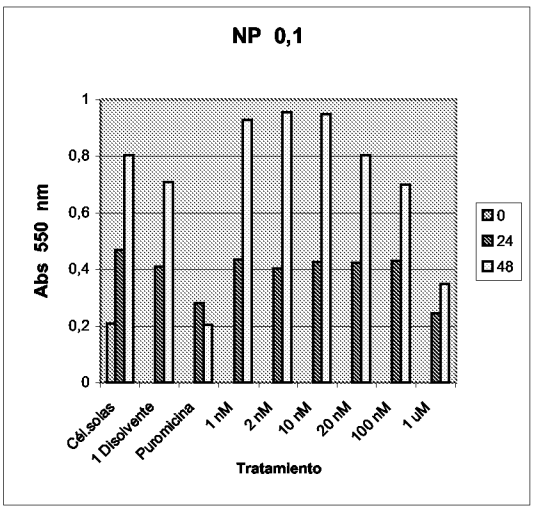


FIGURA 15



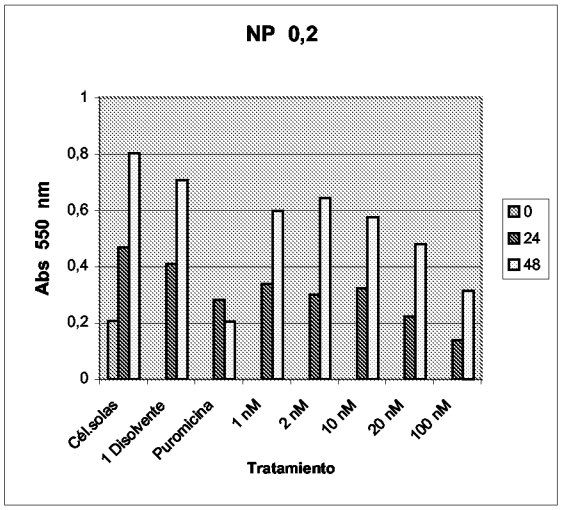
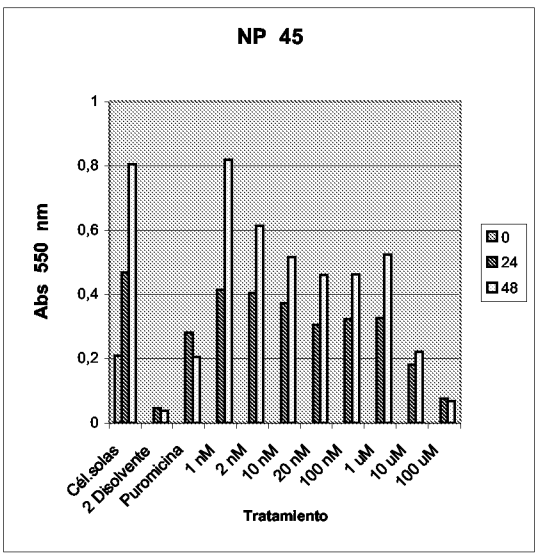


FIGURA 16



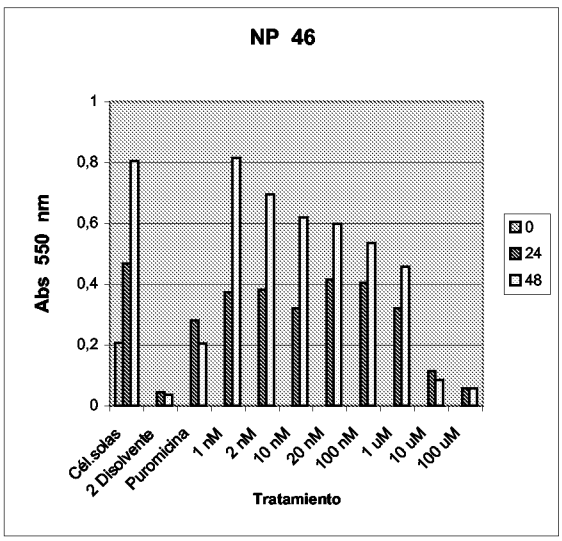


FIGURA 17

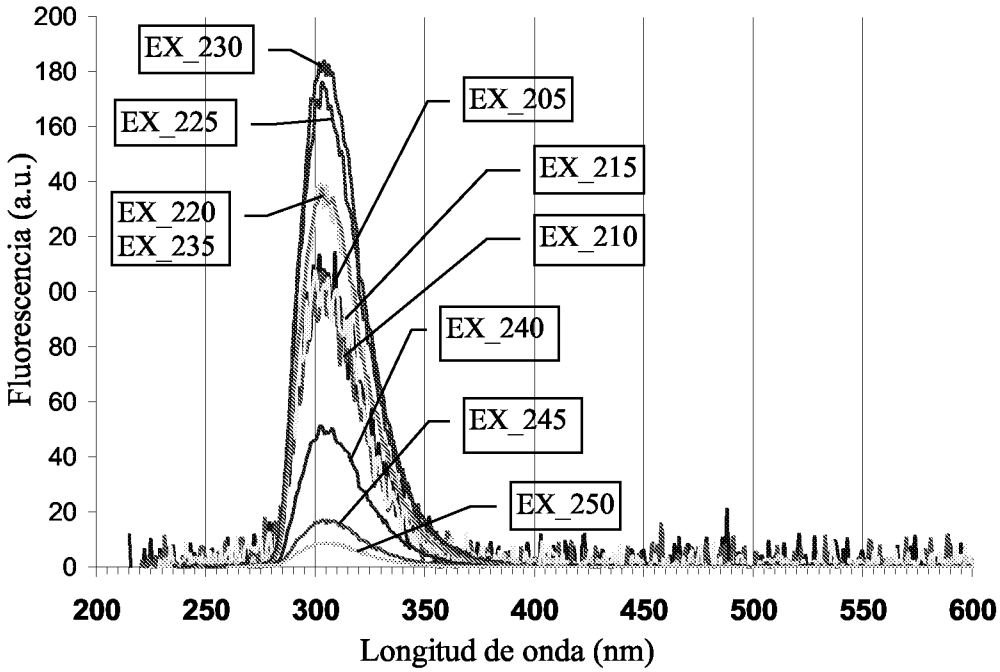
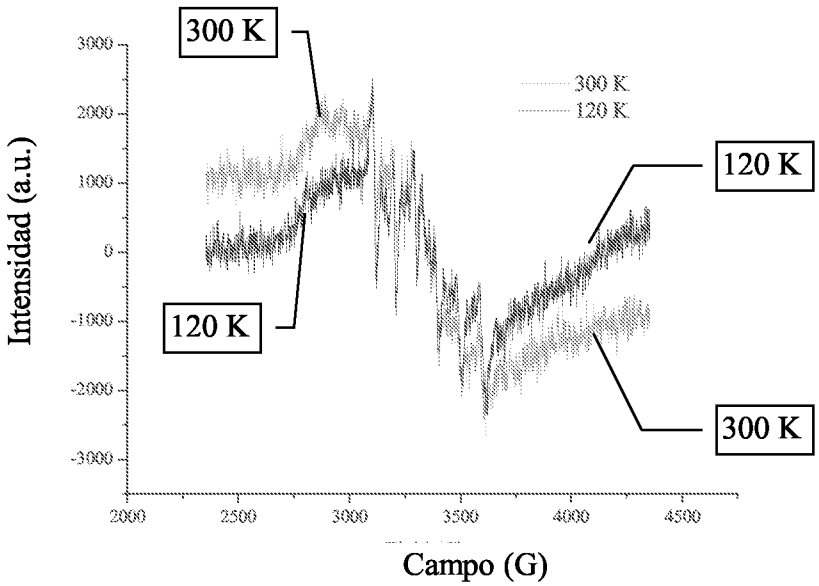


FIGURA 18



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ ES 2006/070121

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
B82B, B22F

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

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

CIBEPAT, EPODOC, WPI, XPESP,HCAPLUS, SCI-EXPANDED

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GARCIA-BASTIDA, A.J. ET AL. "Synthesis and structural characterization of Co immersed in Ag nanoparticles obtained by successive reactions in microemulsions" Science and Technology of Advanced Materials. 01-07-2005 Vol.6 Pages 411-419, the whole document.	1-17,23-32
X	RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, M.L. ET AL. "Kinetics and Mechanism of the formation of Ag Nanoparticles by Electrochemical Techniques: A Plasmon and Cluster Time-Resolved Spectroscopic Study" Journal of Physical Chemistry B 27-01-2005. Vol. 109, pages 1183-1191; the whole document.	1-10,18-19, 23

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
11.December.2006 (11.12.2006)	(20.12.2006)
Name and mailing address of the ISA/ O.E.P.M. Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España. Facsimile No. 34 91 3495304	Authorized officer V. Balmaseda Valencia Telephone No. +34 91 349 30 48

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TANG, Z. ET AL. "A simple solution-phase reduction method for the synthesis of shape-controlled platinum nanoparticles" Materials Letters. 04-05-2005 Vol. 59, pages 1567-1570; the whole document.	1-7,18-21, 26-30
X	US 20020146742 A1 (WYBOURNE ET AL.) 10.10.2002, paragraphs [[0014]-[0018]]; paragraphs [[0043]-[0047]]; example 1,	1-6,18-22
X	WO 2004014401 A1 (UNIVERSITÄT DUISBURG-ESSEN; SCHMID ET AL.) 19.02.2004, page 5, lines 1-35; page 9, lines 24-36; page 10, lines 1-23; example 1.	1-6,31,32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.
PCT/ ES 2006/070121

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2002146742 A	10.10.2002	WO 9853841 A	03.12.1998
		AU 7697998 A	30.12.1998
		US 2004203074 A	14.10.2004
		US 2006081835 A	20.04.2006
WO 2004014401 A	19.02.2004	DE 10235602 A	12.02.2004
		AU 2003258553 A	25.02.2004
		EP 1524986 A	27.04.2005
		US 2005287225 A	29.12.2005

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2006/070121

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

B82B 3/00 (2006.01)
B22F 1/00 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 2006/070121

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver hoja adicional

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

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

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

B82B, B22F

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

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

CIBEPAT, EPODOC, WPI, XPESP,HCAPLUS, SCI-EXPANDED

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	GARCIA-BASTIDA, A.J. ET AL. "Synthesis and structural characterization of Co immersed in Ag nanoparticles obtained by successive reactions in microemulsions" Science and Technology of Advanced Materials. 01-07-2005 Vol.6 Páginas 411-419, todo el documento.	1-17,23-32
X	RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, M.L. ET AL. "Kinetics and Mechanism of the formation of Ag Nanoparticles by Electrochemical Techniques: A Plasmon and Cluster Time-Resolved Spectroscopic Study" Journal of Physical Chemistry B 27-01-2005. Vol. 109, páginas 1183-1191; todo el documento.	1-10,18-19, 23

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

* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional
11.Diciembre.2006 (11.12.2006)	20 Diciembre 2006 (20.12.2006)
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M. Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España. Nº de fax 34 91 3495304	Funcionario autorizado V. Balmaseda Valencia Nº de teléfono +34 91 349 30 48

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES 2006/070121

C (continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	TANG, Z. ET AL. "A simple solution-phase reduction method for the synthesis of shape-controlled platinum nanoparticles" Materials Letters. 04-05-2005 Vol. 59, páginas 1567-1570; todo el documento.	1-7,18-21, 26-30
X	US 20020146742 A1 (WYBOURNE ET AL.) 10.10.2002, párrafos [[0014]-[0018]]; párrafos [[0043]-[0047]]; ejemplo 1,	1-6,18-22
X	WO 2004014401 A1 (UNIVERSITÄT DUISBURG-ESSEN; SCHMID ET AL.) 19.02.2004, página 5, líneas 1-35; página 9, líneas 24-36; página 10, líneas 1-23; ejemplo 1.	1-6,31,32

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 2006/070121

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
US 2002146742 A	10.10.2002	WO 9853841 A	03.12.1998
		AU 7697998 A	30.12.1998
		US 2004203074 A	14.10.2004
		US 2006081835 A	20.04.2006
WO 2004014401 A	19.02.2004	DE 10235602 A	12.02.2004
		AU 2003258553 A	25.02.2004
		EP 1524986 A	27.04.2005
		US 2005287225 A	29.12.2005

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 2006/070121

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

B82B 3/00 (2006.01)
B22F 1/00 (2006.01)